

Primeros datos sobre el desarrollo del ciclo de vida del díptero de importancia forense *Sarcophaga cultellata* Pandellé, 1896 (*Sarcophagidae*)

First data on the development of the life cycle of *Sarcophaga cultellata* Pandellé, 1896 (Diptera: *Sarcophagidae*)

MI. Arnaldos Sanabria^{1,2}

B. Torres Tomás¹

MD. García García^{1,2}

¹Laboratorio de Entomología Forense. Departamento de Zoología y Antropología Física, Universidad de Murcia.

²Unidad de servicio de Entomología Forense y Análisis microscópico de evidencias. Servicio Externo de Ciencias y Técnicas Forenses (SECyTeF) de la Universidad de Murcia.

Correspondencia:

M^a Isabel Arnaldos Sanabria
Departamento de Zoología y Antropología Física
Facultad de Biología,
Universidad de Murcia
Campus Universitario de Espinardo, 30120 Espinardo, Murcia.
E-mail: miarnald@um.es

Fecha de recepción:
11. DIC. 2012

Fecha de aceptación:
08. MAR. 2013

Resumen

Se aportan los primeros datos conocidos sobre el desarrollo del ciclo vital del díptero de importancia forense *Sarcophaga cultellata* Pandellé, 1896, en condiciones controladas. En condiciones de 25°C y 50% humedad relativa la duración media del desarrollo larvario fue de 148,8±10,73 h y la duración media del ciclo vital completo, hasta la aparición de los primeros adultos, de 330±12 h. A efectos forenses, la duración del desarrollo larvario, entendido hasta la completa pupación, es de 6,2 días (5,7-6,64 días), y la duración del ciclo completo, de 13,25-14,25 días. La máxima longitud larvaria (22,9 ± 2,38 mm) se alcanzó, por término medio, a las 91,2 h (72-96).

Palabras clave: Ciclo vital. Dípteros. Entomología forense. Evidencias entomológicas. *Sarcophaga cultellata*.

Abstract

The life cycle of the forensically important flesh fly *Sarcophaga cultellata* Pandellé, 1896, was studied at 25°C and 50% relative humidity. Larval development time to pupation was 148,8 ± 10,73 h and the total development time from larviposition to first adult emergence was 330±12 h. Complete adult emergence was, on average, at 354 h. For forensic purposes, the duration of larval developmental time until whole pupation was 6,2 days (5,7-6,64 days) and the length of complete life cycle was 13,25-14,25 days. The maximum larval length (22,9 ± 2,38 mm) was reached, on average, at 91.2 h (72-96).

Key words: Diptera. Entomological evidence. Forensic entomology. Life cycle. *Sarcophaga cultellata*.

Introducción

En la práctica forense, es conocida la importancia que tienen las evidencias entomológicas para esclarecer incógnitas en relación con casos reales. La Entomología Forense es la ciencia dedicada al estudio de los artrópodos provenientes de situaciones forenses. Una de las utilidades más importantes de esta ciencia es la estimación del intervalo post-mortem (IPM), entendido como el periodo de tiempo transcurrido entre el momento del fallecimiento y el del hallazgo

del cuerpo. La estimación de este lapso de tiempo sobre la base de las evidencias entomológicas puede hacerse, por un lado, estudiando la composición de la fauna existente en el cadáver y, por otro, considerando el grado de desarrollo de dicha fauna.

Con respecto a esta última técnica de estimación del IPM, hay que tener en cuenta que los artrópodos, como animales ectotérmicos que son, dependen de las características ambientales, muy en particular las térmicas, para poder cumplir sus funciones fisiológicas y, en consecuencia, sus tasas de desarrollo se

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos 00848/CV/01 de la Fundación Séneca de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia y CGL2005-04668/BOS del Ministerio de Educación y Ciencia del Gobierno de España.

ven influenciadas por las temperaturas ambientales. De este modo, conociendo los niveles de desarrollo de los insectos presentes en un determinado cadáver y las condiciones ambientales, se puede deducir cuánto tiempo ha debido mediar entre que los artrópodos accedieran al cuerpo para la ovoposición y el hallazgo de los restos, siempre que se conozcan previamente las características del desarrollo de las distintas especies¹.

Así, la duración del desarrollo de larvario en el cadáver depende de la especie de que se trate y de las condiciones ambientales de la zona donde se haya encontrado el cadáver. Generalmente, a mayores temperatura y humedad relativa, la mayoría de los dípteros se desarrollan más rápido y viceversa, hasta unos umbrales máximo y mínimo que dependen de la especie². El conocimiento de la duración del desarrollo de una especie determinada sometida a distintas condiciones ambientales resulta, pues, fundamental para la estimación del IPM en la práctica forense y, cuando se logra, puede materializarse en forma de curvas de crecimiento³ o de isomegadiagrama⁴⁻⁶.

Los dípteros son el grupo de fauna sarcosaprófaga asociada a cadáveres más comúnmente usado para estimar el IPM⁷. De entre ellos, las familias *Calliphoridae*, *Muscidae*, *Sarcophagidae*, *Piophilidae* y *Phoridae* son las que, en general, más se relacionan con la materia orgánica en descomposición^{3,8}. Los *Sarcophagidae* son los únicos larvíparos, con lo que el tiempo necesario para el desarrollo de la fase huevo queda eliminado a efectos prácticos forenses⁹. En relación con los cadáveres, aparecen durante las primeras etapas de la descomposición¹⁰⁻¹⁴ y se han recogido en casos forenses en Hawaii¹⁵, Italia¹⁶, Alemania¹⁷, Bélgica¹⁸, Argentina¹⁹ y Canadá²⁰, además de España (datos propios²¹). Por ello, cabe destacar que, a pesar de la importancia de este grupo en relación con la fauna cadavérica, los datos conocidos sobre la biología de este grupo sean muy escasos y estén reducidos a unas pocas especies²²⁻²⁶.

Como paradigma de lo anteriormente expuesto acerca de los *Sarcophagidae* de importancia forense y las dificultades para su estudio y conocimiento, se puede mencionar a *Sarcophaga (Liopygia) cultellata* Pandellé, 1896, especie de distribución Paleártica occidental, conocida de Francia y España, cuya biología, hasta el momento, es desconocida a pesar de que ha sido recogida en estudios sobre fauna sarcosaprófaga realizados en la Península Ibérica²⁴ y ha sido encontrada en casos forenses en relación con cadáveres humanos²¹, aunque esta especie está considerada como asinantrópica en ciertas partes del mundo²⁷. En la Península Ibérica ha sido referida de Alicante, Almería, Guadalajara, Madrid, Murcia

(Puerto de La Cadena²⁸ y Campus Universitario de Espinardo²⁴), Salamanca²⁹, Sevilla, Toledo, Valencia y Zaragoza²⁸. A pesar del interés forense práctico de esta especie, se desconoce todo dato en relación a las características de su ciclo de vida, aspecto que podría contribuir a la solución de casos forenses en los que esta especie estuviera implicada. Por ello, en este trabajo, se aporta un estudio preliminar acerca de las características del desarrollo de sus fases preimaginales que representan los primeros datos conocidos al respecto para esta especie.

Material y métodos

Las colonias de *Sarcophaga cultellata* se constituyeron a partir de ejemplares (larvas de tercer estadio) recogidos en la zona de El Abuznel, a unos 400 m de altitud, en el parque natural de Sierra Espuña (Murcia), utilizando como cebo lechones de cerdo (*Sus scrofa* L.).

Las larvas fueron trasladadas al laboratorio de Entomología Forense del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia, donde fueron mantenidas con hígado de cerdo como sustrato alimenticio y expuestas a una temperatura, humedad relativa y un fotoperiodo constantes, de 25°C, 50% y 12:12 respectivamente, en una incubadora Sanyo MLR-350H.

Una vez emergidos los adultos, se identificaron utilizando las claves y los caracteres morfológicos referidos por Richet *et al.*²⁶ y Peris *et al.*²⁸.

Para el estudio del ciclo vital de la especie, se emplearon jaulas de adultos de dimensiones 22x22x25 cm consistentes en un armazón de varillas de madera que da sujeción a un recinto prismático de tela de visillo color blanco. En cada una de las jaulas se dispusieron 200 adultos provenientes de las colonias estabilizadas en laboratorio. Como sustrato alimenticio de los adultos se utilizaron agua y azúcar que, en todo momento, permanecieron al alcance de los ejemplares. El sustrato de puesta, consistente en hígado de cerdo, se colocó a los 7 días de la emergencia de los adultos y se mantuvo durante 24 horas para provocar en las hembras la maduración de su aparato reproductor³⁰. A continuación, se retiró el sustrato de puesta de las jaulas durante 48 h, a fin de sincronizar la maduración gonadal de las hembras y, por consiguiente, la posterior larviposición. Este procedimiento es el habitual en este tipo de estudios^{5,6}. Tras este periodo, se volvió a introducir el sustrato de puesta en la jaula durante 2 h. Este intervalo de tiempo está considerado como un intervalo adecuado,

en este tipo de estudios, para obtener una puesta de la misma edad (tiempo 0). Las puestas obtenidas se trasladaron, en su sustrato de puesta, a jaulas de larvas para completar su desarrollo. Las jaulas de larvas consisten en recipientes de 20x20x20 cm provisto de una tapadera para permitir el acceso al interior. La tapadera tiene una abertura cubierta con tul blanco para permitir la circulación del aire en el interior de la jaula y evitar la posible salida de los ejemplares.

Cada 24 h se tomó una muestra de 10 larvas, seleccionadas de entre las de mayor tamaño, que fueron muertas introduciéndolas, durante aproximadamente un minuto, en agua próxima a la ebullición. De este modo, las larvas quedan completamente estiradas para realizar la medición de su longitud³¹. La medición se realizaba inmediatamente utilizando un estereoscopio binocular Leica® MZ8 provisto de un ocular micrométrico Leica® MOK-95 con graduación de 0,1 mm.

Fue considerada como longitud larvaria la distancia comprendida desde los lóbulos cefálicos (presentes en el extremo anterior del pseudocefalón o segmento I) hasta los espiráculos posteriores (presentes en el extremo posterior del segmento XII o División anal).

Las mediciones fueron tomadas tanto para larvas de I, II y III estadios como para las pupas. Posteriormente,

una vez medidas, las larvas y pupas se introducían en etanol al 70% para su conservación definitiva.

El tiempo mínimo de desarrollo para alcanzar los distintos estadios larvarios y los primeros adultos se determinó como el tiempo medio mínimo necesario para que el 50% de los ejemplares hubieran alcanzado la fase del desarrollo.

Este experimento se repitió en cinco ocasiones (5 réplicas).

Resultados y discusión

En las condiciones de la experiencia, las larvas de primer estadio (LI) ($1,53 \pm 0,03$ mm de longitud) mudaron a larvas de segundo estadio (LII) ($7,05 \pm 1,03$ mm de longitud) a lo largo de las primeras 24 h de desarrollo, aunque en algunos casos se precisaron horas adicionales para ello (Figura 1). Las LII mudaron a tercer estadio (LIII) ($18,43 \pm 2,34$ mm de longitud) a partir de las 48 horas aunque, como en el caso anterior, algunos ejemplares necesitaron más tiempo. Con 6 días (144 h) de desarrollo, el 80% de las LIII habían pupado; el 20% restante se retrasaron hasta el séptimo día (168 h).

Tabla 1.
Datos sobre la duración del ciclo vital de distintas especies de Sarcophagidae a 25°C.

Especie	Duración del desarrollo larvario (días)	Localización	Referencia bibliográfica
<i>S. (Liopygia) argyrostoma</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	8,3	Egipto	[33]
	6,5	Sudáfrica	[34]
	8,1	Austria	[6]
<i>S. (Liopygia) crassipalpis</i> Macquart, 1839	6	Japón	[35]
	6,3	Ohio, U.S.A.	[36]
<i>S. (Liopygia) cultellata</i> Pandellé, 1896	6,2	Murcia	Este trabajo
<i>S. (Liopygia) ruficornis</i> (Fabricius, 1794)	8,5	Arabia Saudi	[37]
<i>S. (Bercaea) africa</i> (Wiedemann, 1824)	7,0-9,0	Sudáfrica	[38]
	6,5	Florida, U.S.A.	[39]
<i>S. (Boettcherisca) peregrina</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	5	Japón	[40]
<i>S. (Liosarcophaga) nodosa</i> Engel, 1925	6,5-8,5	Sudáfrica	[38]
<i>S. (Liosarcophaga) dux</i> Thomson, 1869	8,2-10,2	Sudáfrica	[38]
<i>S. (Liosarcophaga) tibialis</i> Macquart, 1851	7,0-9,0	Sudáfrica	[38]
<i>S. (Sarcorohdendorfia) impatiens</i> Walker, 1849	8,0-10,0	Australia	[41]

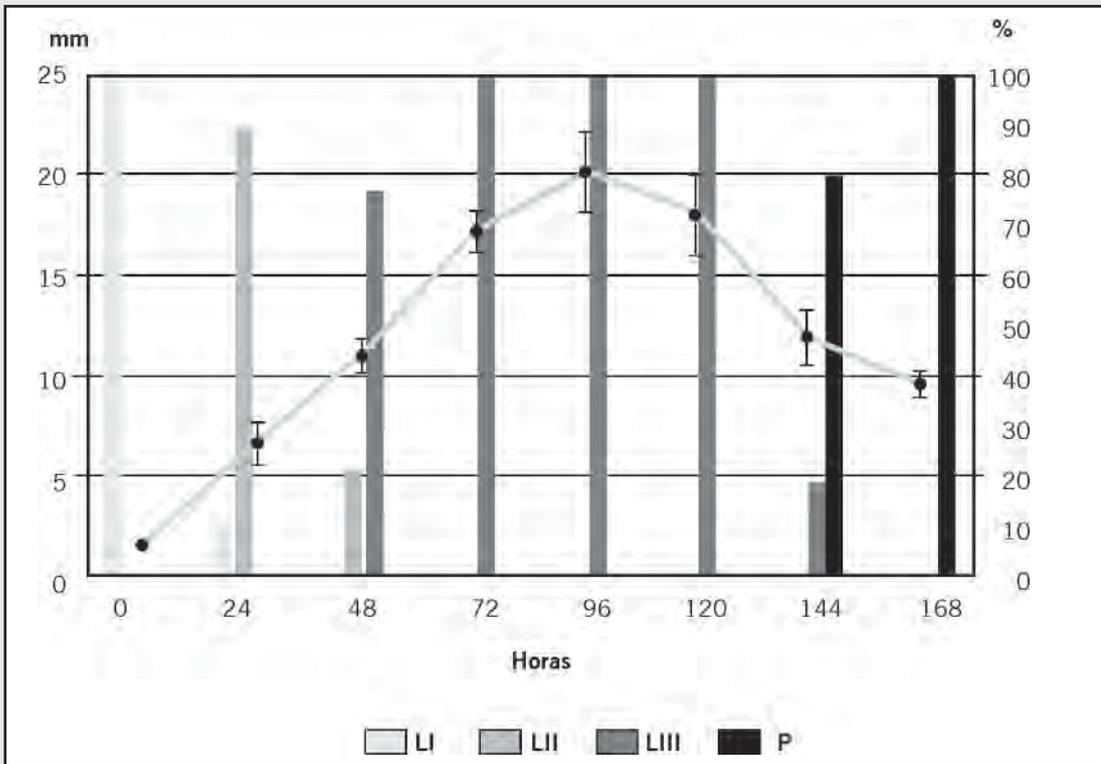


Figura 1. Desarrollo a 25° C de *Sarcophaga cultellata* desde la larviposición hasta la pupación. LI, larva de primer estadio, LII, larva de segundo estadio, LIII, larva de tercer estadio, P, pupa. Las barras representan el porcentaje de cada estado de desarrollo sobre el total de la muestra en cada franja horaria. Los valores del eje de abscisas representan en horas el momento de toma de la muestra.

Especie	Duración del desarrollo larvario (días)	Temperatura (°C)	Localización	Referencia bibliográfica
<i>S. (Liopygia) argyrostoma</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	5,8	30	Egipto	[33]
	6,3	30	Austria	[6]
<i>S. (Liopygia) crassipalpis</i> Macquart, 1839	6	27	Maryland, U.S.A.	[42]
	6	35	Japón	[35]
<i>S. (Liopygia) cultellata</i> Pandellé, 1896	6,2 (6-7)	25	Murcia	Este trabajo
<i>S. (Liopygia) ruficornis</i> (Fabricius, 1794)	6,8	28	Arabia Saudi	[37]
	6	31	Arabia Saudi	[37]
	6,3	37	Arabia Saudi	[37]
<i>S. (Boettcherisca) peregrina</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	6,3	22-24	Hawaii	[43]
	5,8	23	Hawaii	[44]
<i>S. (Liosarcophaga) dux</i> Thomson, 1869	4-8	23-34	India	[45]
<i>S. (Liosarcophaga) tibialis</i> Macquart, 1851	6	30	Sudáfrica	[34]
<i>S. (Sarcosolomonía) stricklandi</i> Hall & Bohart, 1948	6	29,5	Guan	[46]

Tabla 2. Datos relativos a ciclos vitales de distintas especies de *Sarcophagidae* con una duración similar a la obtenida en este estudio para *Sarcophaga cultellata*

Así, la duración media del desarrollo larvario, en las condiciones ambientales señaladas es de $148,8 \pm 10,73$ h, y la duración del ciclo vital completo (desde el inicio de la larviposición hasta la emergencia de los primeros adultos) de 330 ± 12 h. La emergencia completa de los adultos se produjo, por término medio, a las 354 h. A efectos forenses, la duración del desarrollo larvario, entendido hasta la completa pupación, es de 6,2 días (5,7-6,64 días), y la duración del ciclo completo, de 13,25-14,25 días (Tabla 1). La máxima longitud larvaria ($22,9 \pm 2,38$ mm) se alcanzó, por término medio, a las 91,2 h (72-96). Según lo anterior, el desarrollo larvario de *S. cultellata* mostró un patrón de crecimiento rápido seguido de una reducción brusca del tamaño justo antes de iniciarse la pupación, lo que se ajusta a los patrones de crecimiento de los dípteros de interés forense.

Comparando los resultados obtenidos del desarrollo larvario para *S. cultellata* con otros *Sarcophagidae*, a la misma temperatura (Tabla 1), se observa que, para especies del mismo subgénero (*Liopygia*), los resultados son equiparables en algunos casos pero, en general, existe una cierta amplitud en la duración del ciclo larvario, desde 6 hasta 8,5 días. De hecho, comparando ciclos de vida de especies del mismo subgénero con una duración larvaria similar (Tabla 2), se observa que el rango de las temperaturas en las que se ha desarrollado el ciclo oscila de 27 a 37°C.

De este modo, aunque puede intuirse alguna afinidad al nivel de subgénero, los datos anteriores muestran una cierta heterogeneidad en los resultados obtenidos, incluso con una misma especie (Tablas 1 y 2).

Dado que el factor biogeográfico puede afectar las características biológicas de las poblaciones de dípteros que habitan las distintas áreas consideradas³², las diferencias observadas en el desarrollo del ciclo vital no son necesariamente atribuibles a factores extrínsecos, como diferencias en la metodología experimental aplicada, sino que factores intrínsecos, como la adaptación geográfica de la especie, pueden explicar estas diferencias^{5,6}. Por ello, no pueden, ni deben, extrapolarse datos procedentes de otras experiencias pues las variables implicadas en cada caso (sustrato alimenticio, régimen de luz, humedad relativa, procedencia de los ejemplares...) son numerosas y difícilmente controlables a efectos de comparación. De ahí, la importancia de realizar estudios de una misma especie en diversas zonas biogeográficas a fin de obtener el necesario conocimiento preciso de las características reales de su patrón de desarrollo a la hora de utilizar esos datos en la práctica forense.

Los resultados aquí expuestos son los primeros conocidos acerca de la duración del desarrollo de *Sarcophaga cultellata*. Sin embargo, para su completa utilidad a efectos forenses prácticos, deberán completarse, en un futuro, con experiencias desarrolladas a distintas temperaturas, incluido un régimen térmico natural, utilizando distintos sustratos alimenticios e, incluso, empleando sustancias que pudieran afectar el desarrollo de la especie.

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- García García MD. *El rol de la entomología en el escenario de las ciencias forenses*. Memorias del XXXVII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Bogotá, Colombia 2010; 13-25.
- Williams KA, Villet MH. A history of southern African research relevant to forensic entomology. *S Afr J Sci*. 2006;102:59-65.
- Gennard DE. *Forensic Entomology. An introduction*. England: Wiley, 2007.
- Grassberger M, Reiter C. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to isomegalen- and isomorphen- diagram. *Forensic Sci Int*. 2001;120:32-6.
- Grassberger M, Reiter C. Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly *Protophormia terranova* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae.) *Forensic Sci Int*. 2002;128(1):177-82.
- Grassberger M, Reiter C. Effect of temperature on development of *Liopygia* (= *Sarcophaga*) *argyrosoma* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Sarcophagidae) and its Forensic Implication. *J Forensic Sci*. 2002;47(6):1332-6.
- Ordóñez A, García MD, Fagua G. Evaluation of the efficiency of the Schoenly trap for collecting adult sarcosaprophagous dipterous. *J Med Entomol*. 2008; 45(3):522-32.
- Mariani R, Varela G, Demaría M. Estudios entomológicos relacionados con las investigaciones forenses. En: Mariani R, Varela G, Demaría M. *Entomología forense: los insectos y sus aportes a la investiga-*

- ción [en línea]. 2006. Disponible en: http://intercambios.jursoc.unlp.edu.ar/intercambios14/pdfs/aportes_producciones/Mariani_Varela_Demaria.pdf (4/12/12).
9. Byrd JH, Castner JL. *Forensic Entomology: Utility of Arthropods in Legal Investigations*, 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.
 10. Reed HB. A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *Am Midl Nat.* 1958;59(1):213-45.
 11. Payne JA. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa*. *Ecology.* 1965;46(5):592-602.
 12. Tantawi TI, El-Kadi EDM, Greenberg B, El-Ghaffar HA. Arthropod Succession on Exposed Rabbit Carrion in Alexandria, Egypt *J Med Entomol.* 1996;33(4):566-80.
 13. Arnaldos Sanabria MI. *Estudio de la fauna sarcosaprófaga de la Región de Murcia. Su aplicación a la Medicina legal.* [Tesis Doctoral]. Departamento de Biología Animal. Facultad de Biología, Universidad de Murcia, 2000.
 14. Arnaldos MI, Romera E, García MD, Luna A. Initial Study on Sarcosaprophagus Diptera (Insecta) succession on carrion in southeastern Iberian Peninsula. *Int J Legal Med.* 2001;114:115-62.
 15. Goff ML. Feast of clues: Insect in the service of forensics. *The Sciences.* 1991;31:30-5.
 16. Introna F, Campobasso CP, Difazio A. Three case studies in forensic entomology from southern Italy. *J Forensic Sci.* 1998;43(1):210-4.
 17. Benecke M. Six forensic entomology cases: description and commentary. *J Forensic Sci.* 1998;43(4):797-805.
 18. Leclercq M. Entomologie et médecine légale: *Sarcophaga argyrostoma* Rob.-Desv. (Dipt. Sarcophagidae) et *Phaenicia sericata* Meig. Bulletin. *Bull Ann Soc R Belge Entomolog.* 197;112:119-24.
 19. Oliva A. Insectos de Interés Forense de Buenos Aires (Argentina). Primera lista ilustrada y datos bionómicos. *Rev. Mus. Argent. Cienc. Nat. Bernardino Rivadavia. Entomología.* 1997;VII(2):13-59.
 20. Anderson GS. The use of Insects in death investigations: An analysis of cases in British Columbia over a five year period. *Can Soc Forensic Sci J.* 1995;28(4):277-92.
 21. Velásquez Y, Magaña C, Martínez-Sánchez A, Rojo S. Diptera of forensic importance in the Iberian Peninsula: larval identification key. *Med Vet Entomol.* 2010;24:293-308.
 22. Pape T. *The Sarcophagidae (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. Fauna Entomologica Scandinavica*, Vol. 19. E.J. Brill. Copenhagen: Scandinavian Science Press Ltd, 1987.
 23. Povolny D, Verves Y. The Flesh-flies of Central Europe (Insecta, Diptera, Sarcophagidae). *Spixiana.* 1997; (Supp. 24):1-260.
 24. Romera E, Arnaldos MI, García MD, González-Mora D. Los Sarcophagidae (Insecta, Diptera) de un ecosistema cadavérico en el sureste de la Península Ibérica. *An Biol.* 2003;25:49-63.
 25. Arnaldos MI, Romera E, Presa JJ, Luna A, García MD. *First approach to the effects of cocaine on development of Sarcophaga tibialis (Diptera: Sarcophagidae).* Second meeting of the European Association of Forensic Entomologist. Londres, Gran Bretaña. 2004.
 26. Richet R, Blackith RM, Pape T. *Sarcophaga of France (Diptera: Sarcophagidae).* Pensoft Serie Faunistica N° 97. Bulgaria: Pensoft publishers, 2011.
 27. Povolny D. *Synanthropy.* En: Greenberg, B. (ed.): Flies and Disease Volume I. Ecology, Classification and Biotic Associations. New Jersey: Princeton University Press, Princeton, 1971;17-54.
 28. Peris SV, González-Mora D, Mingo E. Los Parasarcophagina (Diptera, Sarcophagidae) de la Península Ibérica. (Diptera, Sarcophagidae). *Bol R Soc Esp Hist Nat. (Sec. Biol.).* 1999;95(1-2):115-34.
 29. Martínez-Sánchez A, Rojo S, Marcos-García MA. Annual and spatial activity of dung flies and carrion in a Mediterranean holm-oak pasture ecosystem. *Med Vet Entomol.* 2000;14(1):56-63.
 30. Asworth JR, Wall R. Response of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. *Med Vet Entomol.* 1994;8:303-9.
 31. Amendt J, Campobasso CP, Gaudry E, Reiter C, LeBlanc HN, Hall MJR. Best practice in forensic entomology- standards and guidelines. *Int J Legal Med.* 2007;121:90-104.
 32. Anderson GS. Factors that influence insect succession on carrion. En: Byrd JS, Castner JL. *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods In Legal Investigations.* 2nd edition. Boca Raton FL: CRC Press, 2010;201-50.
 33. Hafez M. A study of the morphology and life history of *Sarcophaga falculata* Pand. *Bulletin de la Société Fouad Premier d'Entomologie.* 1940;24:183-212.
 34. Villet MH, MacKenzie B, Muller WJ. Larval development of the carrion-breeding flesh fly, *Sarcophaga (Liosarcophaga) tibialis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae), at constant temperatures. *Afr Entomol.* 2006;14(2):357-66.
 35. Nishida K, Shinonaga S, Kano R. Growth tables of fly larvae for the estimation of postmortem intervals. *Ochanomizu Igaku Zasshi.* 1986;34:9-24.

36. Chen C-P, Denlinger DL, Lee RE. Response of non-diapausing flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) to low rearing temperatures: developmental rate, cold tolerance, and glycerol concentrations. *Ann Entomol Soc Am.* 1987;80:790-6.
37. Amoudi MA, Diab FM, Abou-Fannah SSM. Developmental rate and mortality of immature *Parasarcophaga (Liopygia) ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) at constant laboratory temperatures. *J Med Entomol.* 1994;31:168-70.
38. Aspoas BR. Comparative micromorphology of third instar larvae and the breeding biology of some Afrotropical *Sarcophaga* (Diptera: Sarcophagidae). *Med Vet Entomol.* 1991;5:437-45.
39. Byrd JH, Butter JL. Effects of temperature on *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Diptera: Sarcophagidae) development. *J Med Entomol.* 1998;35:694-8.
40. Nishida K. Experimental studies on the estimation of postmortem intervals by means of fly larvae infesting human cadavers. *Japanese Journal of Forensic Medicine.* 1984;38:24-41.
41. Roberts B. Larval development in the Australia flesh fly *Tricholiproctia impatiens*. *Ann Entomol Soc Am.* 1976;69:158-64.
42. Smith CN. Notes on the life history and moulting process of *Sarcophaga securifera* Villeneuve. *Proc Entomol Soc. Wash.* 1933;35:159-64.
43. Goff M, Omori AI, Goodbrod JR. Effects of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *J Med Entomol.* 1989;26:91-93.
44. Goff ML, Brown WA, Hewadikaram KA, Omori AI. Effects of heroin in decomposing tissues on the developmental rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera, Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation of postmortem intervals using arthropod developmental patterns. *J For Sci.* 1991;36:537-42.
45. Alwar VS, Seshiah S. Studies on the life history and bionomics of *Sarcophaga dux* Thompson, 1868. *Indian Veterinary Journal* 1958;35:559-65.
46. Bohart GE, Gressitt JL. Filth-inhabiting flies of Guam. Bernice P. Bishop Museum Bulletin 1951;204:1-151.