

## CALIFÓRIDOS (DIPTERA, CALLIPHORIDAE) DE INTERÉS FORENSE RECOGIDOS EN EL ENTORNO UNIVERSITARIO DEL CAMPUS DE LEIOA (VIZCAYA, ESPAÑA)

Javier Moneo Pellitero & Marta I. Saloña-Bordas

Dpto. de Zoología y Biología Celular Animal, Universidad del País Vasco, UPV- EHU. Apdo. 644 Leioa, E-48940 Vizcaya, España. – m.salona@ehu.es

**Resumen:** Se presentan los primeros resultados de un estudio llevado a cabo en un área suburbana próxima a Bilbao (Vizcaya, España). Los especímenes estudiados han sido capturados mediante trampas de atracción selectiva, cebadas con víscera de cerdo. El estudio fenológico se llevó a cabo a lo largo de un año natural (Octubre 2005 a Octubre 2006), con muestreos realizados quincenalmente. Las trampas se colocaron en dos parcelas del campus de Leioa (=Lejona, Vizcaya) de la Universidad del País Vasco. Se han identificado un total de 3 géneros y 9 especies, destacando la abundancia de *Calliphora vicina* (28%) y de *Lucilia caesar* (33%), constituyendo entre ambas más de la mitad del total de ejemplares identificados y siendo *C. vicina* la especie más abundante en los meses invernales, mientras que *L. caesar* alcanza su máxima población en los meses pertenecientes al período estival.

**Palabras clave:** Diptera, Calliphoridae, Vizcaya, España.

### Calliphorids (Diptera, Calliphoridae) of forensic interest collected at Leioa University (Biscay, Spain)

#### Summary

**Abstract:** The first results of a research project carried out in a suburban area close to Bilbao (Biscay, Spain) are presented. The specimens were collected by selective attraction traps baited with pig's entrails. The phenological study was carried out during a natural year (October 2005 to October 2006), with samples being collected every two weeks. The traps were placed in two plots on the Leioa campus of the University of the Basque Country, in Biscay (Spain). A total of 3 genera and 9 species have been identified, with *Calliphora vicina* (28%) and *Lucilia caesar* (33%) as the most abundant species. These two species accumulate more than fifty per cent of all the specimens identified, *C. vicina* proving the most abundant species in winter and *L. caesar* reaching its highest abundance in summer.

**Key words:** Diptera, Calliphoridae, Biscay, Spain.

## Introducción

Los dípteros necrófagos son organismos fundamentales en los procesos de descomposición cadavérica, con un potencial aplicable a la investigación forense. Por su capacidad de detectar un cadáver a gran distancia tras el deceso, son pioneros en su colonización. Sus patrones de desarrollo son fundamentales en las estimaciones *postmortem*. A pesar del potencial que ha demostrado tener la entomología forense en el resto del mundo, su empleo a nivel estatal en general y de la comunidad autónoma del País Vasco en particular, donde las competencias se encuentran transferidas a un cuerpo policial propio, se encuentran aún muy poco desarrollados. Se desconocen con detalle, por ejemplo, las especies de potencial interés forense que habitan en nuestra región. Es por ello fundamental realizar estudios sistemáticos de diferentes entornos para estimar, con precisión, qué especies pueden colonizar un cadáver en nuestra región de cara a realizar posteriores estudios aplicados. Con este objetivo hemos realizado muestreos quincenales durante un año natural en el entorno universitario del campus de Leioa de la UPV-EHU. Sobre la base de estos primeros resultados faunísticos, planificaremos nuevas áreas de muestreo así como estudios específicos de desarrollo en condiciones ambientales controladas que nos permitan aplicar los conocimientos adquiridos a las futuras investigaciones forenses que se lleven a cabo en nuestra región.

A pesar de que los estudios de abundancia y de sucesión de dípteros en la zona norte de la Península Ibérica son escasos, en el centro y sur peninsular podemos encontrar trabajos sistemáticos de este tipo. Así, Peris y Gonzalez

Mora (1991) realizan los primeros estudios sistemáticos aportando las claves de identificación de imagos de las principales especies implicadas en descomposición cadavérica. Arnaldos *et al.* (2001) y Martínez Sanchez *et al.* (1998) contribuyen con los primeros estudios detallados de fauna sarcosaprófaga presente en la zona mediterránea, completando los iniciados por Tantawi *et al.* (1996) en Egipto para esta importante región biogeográfica. Castillo Miralbés (2002) aporta el primer estudio de sucesión realizado en el Alto Aragón y centrado en los artrópodos asociados a cerdos en descomposición. Por último, cabe destacar la labor realizada por Romera *et al.* (2003), cuyo trabajo también se centra en el estudio de los Sarcophagidae en el mediterráneo occidental, dando como resultado gráficas de abundancia y porcentaje en todas las épocas del año. En nuestro caso, el estudio se centrará en la familia Calliphoridae, por ser éstos los principales y, en ocasiones únicos, representantes presentes en los procesos de colonización y primeros estadios de descomposición cadavérica.

## Material y métodos

El estudio fenológico se llevó a cabo a lo largo de un año natural (Octubre 2005 a Octubre 2006), con muestreos realizados quincenalmente. Las trampas se colocaron en dos parcelas del campus de Leioa (Vizcaya) de la Universidad del País Vasco (Fig. 1). La primera de las zonas escogidas corresponde a un reducto del robledal original (*Quercus robur* L.) conservado en la parte suroeste del campus, con



Fig. 1. Localización de las zonas de trampeo, Robledal y Arce.

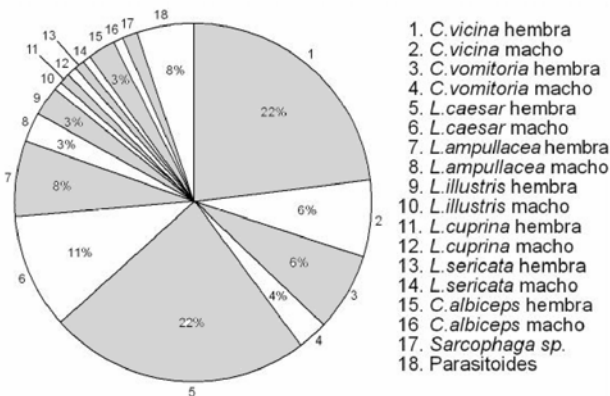


Fig. 2. Porcentaje de abundancia de cada especie separado por sexos.

coordenadas N 43° 19.802' / W 002° 58.311'. Dicho roble dal se encuentra en regresión debido a la intensa deforestación histórica que afecta a la región. Se trata de una zona umbría, gracias a la adecuada conservación de la cobertura arbórea original; además, podemos encontrar una gran variedad de especies herbáceas, entre las que destacan el helecho *Pteridium aquilinum* L. y la zarza *Rubus ulmifolius* (Schott) entre otras.

La segunda parcela de muestreo se encuentra mucho más alterada, ya que el eucaliptal que reemplazaba al bosque primario ha sido talado recientemente dentro del plan general de remodelación del campus, conservándose tan solo un arce (*Acer pseudoplatanus* L.) que sirvió de soporte para la trampa, sus coordenadas son N 43° 19.768' / W 002° 58.219'. Esta zona de estudio fue elegida debido a que, al contrario que la anterior, el sol incide durante todo el día ante la ausencia de cobertura arbórea en sus alrededores. Además podemos añadir que la cobertura herbácea es casi nula, habiendo empezado a brotar las especies antes mencionadas de helecho *P. aquilinum* y la zarza *R. ulmifolius*, pero en densidades ínfimas y con un crecimiento muy lento debido probablemente a la degradación que ha sufrido el suelo reforestado por esta especie alóctona tan agresiva con nuestro entorno.

El material de estudio fue capturado mediante trampas de atracción selectiva, siguiendo el modelo propuesto por Hwang y Turner (2005). Teniendo en cuenta las diferencias potenciales de atracción y descomposición de las principa-

les vísceras animales (cf. Kaneshrajah y Turner, 2004; Ireland y Turner, 2005) optamos por emplear siempre riñón de cerdo como sustrato, dada su textura y lenta descomposición. Las trampas se mantuvieron durante el día, en periodos mínimos de 4-5 horas de exposición en torno al momento de máxima insolación.

Tras la retirada de cada trampa se procedió al aislamiento de las hembras de las especies más representativas para forzar su oviposición y conseguir colonias de cría para futuros estudios, siendo posteriormente sacrificadas junto con el resto del material recogido para el estudio e identificación de los especímenes recolectados. El material recogido se conserva bien en seco bien en alcohol al 70% y pasa a formar parte de la colección de insectos del Servicio de Entomología Forense de la UPV-EHU.

Para la identificación de los ejemplares se han empleado las claves de identificación elaboradas por Zumpt (1956), Smith (1986), Peris y Gonzalez Mora (1991) y Boucek *et al.* (1991).

## Resultados

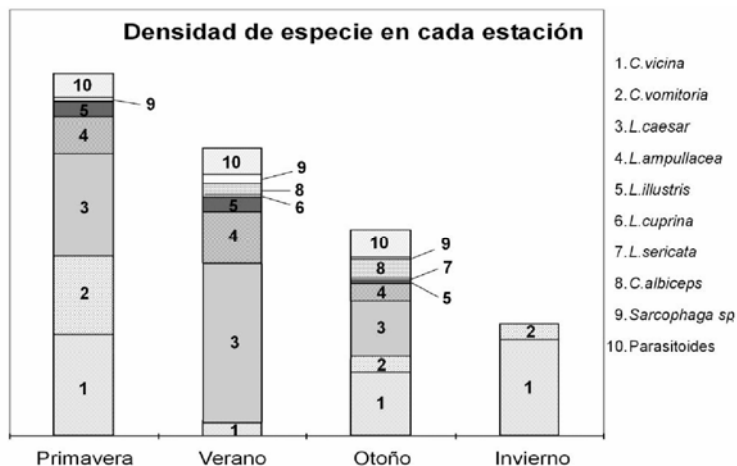
Un total de 1580 individuos fueron recolectados e identificados durante el periodo de trampeo. Cabe destacar que el 90% de los ejemplares pertenecen a la familia de los califóridos, mientras que el 8% pertenecía a diferentes familias de himenópteros parasitoides y el 2% restante lo constituían fundamentalmente dípteros sarcófágidos, fóridos y múscidos.

Centrándonos en la familia dominante, los califóridos, se han identificado un total de tres géneros y nueve especies (Fig. 4), las cuales son las más representativas y frecuentes en estudios previos realizados con necrófagos en la Península Ibérica (Castillo Miralbés, 2000; Arnaldos *et al.* 2001).

De todas las especies recogidas, cabe destacar la abundancia de las especies *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 (28%) y *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758) (33%), constituyendo entre ambas más de la mitad del total de ejemplares identificados. Sin embargo, aunque la captura de ambas especies tenga lugar dentro de la misma estación de muestreo, sus máximos poblacionales no coinciden, siendo *C. vicina* mucho más abundante en los meses invernales, mientras que *L. caesar*, alcanza su máxima población en los meses pertenecientes al período estival.

Tal y como se puede contemplar en la figura 2, existe un amplio predominio de las dos especies anteriormente

**Fig. 3.** Densidades máximas de especies según la estación muestreada



citadas, acompañadas de *Calliphora vomitoria* y *Lucilia ampullacea*, que con un 14% y un 11%, respectivamente, completan el conjunto de especies más representativas en el área de estudio. En un nivel inferior, pero no por ello de menor importancia, se encuentran otras especies como *Lucilia illustris*, *Lucilia sericata*, y *Chrysomya albiceps*. De todas ellas se mantienen colonia de cría y colección de referencia de sus fases preimaginales.

También podemos comprobar como el número total de hembras predomina sobre el de los machos en todos los casos estudiados. Dicho predominio también se ha visto reflejado en cada una de las quincenas muestreadas, manteniendo en menor o mayor medida los valores generales, con la excepción de uno de los trapeos, donde las densidades de ambos géneros eran muy similares. Esta abundancia de ejemplares hembras es debido al mayor desarrollo de su capacidad olfativa (Campobasso *et al.*, 2001). Apenas unos minutos después de la muerte del ejemplar, los califóridos son atraídos por el olor que desprende el cuerpo, y al cabo de una hora podemos encontrar ya las primeras puestas en el cuerpo (Anderson & VanLaerhoven, 1996).

Como comentábamos anteriormente, las dos especies más representativas no comparten sus máximos poblacionales dentro de la misma estación. *L. caesar* es muy abundante, pero sólo en las estaciones de primavera y verano (25 y 30%, respectivamente, del total de individuos capturados) (Fig. 3). Mientras que *C. vicina* lo es en las estaciones de primavera e invierno. También podemos apreciar que la mayoría de especies presentan sus máximas densidades en aquellos meses en los que los factores ambientales son menos rigurosos. Sin embargo, en el caso de *C. vicina* observamos que mantiene más o menos su densidad, siendo muy alta en primavera al igual que el resto de las especies, pero a diferencia de las demás, parece soportar mejor las condiciones ambientales más rigurosas presentes en otoño e invierno; lo que la convierte en una de las pocas especies cuya presencia puede ser verificada en cualquier época del año, al igual que *C. vomitoria*, aunque ésta última presenta densidades poblacionales mucho menores.

La figura 4 resume la sucesión temporal de especies. Al comienzo del estudio (Octubre 2005) la primera especie en ser recogida en mayores densidades fue *C. vicina*; ésta es sin duda una de las especies mejor adaptadas a las temperaturas más bajas de esta época. Además esta especie se encuentra presente a lo largo de todo el año, aunque sus densidades no sean tan amplias como en invierno y primavera. *C. vomitoria* presenta una gráfica de distribución temporal muy

**Tabla I.** Datos meteorológicos medios de los días de trapeo en cada estación (no se registró precipitación en los días de trapeo)

Estación	Tª media (C°)	Hr media (%)	Irradiacionw/m2
Otoño	20,5	58,9	349,3
Invierno	13,7	54,6	343,6
Primavera	18,5	58,6	637,4
Verano	25,7	59,3	652,8

similar a la de *C. vicina*, si bien sus densidades son bastante inferiores.

Por otra parte observamos que *L. caesar* presenta su pico máximo en los meses más cálidos y junto al resto de Luciliinae, no se encuentra presente en las estaciones invernales, donde dominan *C. vicina* y *C. vomitoria*.

El resto de especies identificadas presentan sus máximos picos poblacionales en los meses más cálidos, siendo la primera quincena de agosto la que presenta mayor proporción de especies, ya que en este periodo se han llegado a capturar adultos de todas las especies anteriormente citadas; incluida la especie parasitoide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromaliiidae).

Por último, presentamos una estimación de la riqueza de especies encontradas dependiendo del grado de insolación (Tabla I). Cabe destacar que en todos los días de muestreo no hubo ningún tipo de precipitación.

Entre ambas zonas no hay diferencias de altitud y orientación, tan sólo las hay en relación con la cobertura vegetal circundante, que a la postre se traduce en una mayor o menor incidencia solar sobre la trampa cebada.

En el arce la comunidad arbórea de su alrededor es nula, mientras que la herbácea es muy básica, contando tan solo con la presencia del helecho *Pteridium aquilinum* y de la zarza *Rubus ulmifolius*; la porción de sombra es mínima.

Por otro lado tenemos el robledal, donde la cobertura arbórea es superior, estando rodeado por un gran número de robles; a su vez, la cobertura herbácea también es superior contando con mayor diversidad y desarrollo vegetal.

Conociendo las diferencias de la comunidad vegetal entre ambas zonas de muestreo cabría esperar resultados dispares. Sin embargo, observamos como las especies presentes en ambas zonas son las mismas, por lo que la diversidad entre ambas zonas es similar (Fig. 5). La única diferencia apreciable se refiere a la densidad poblacional de cada especie, siendo ésta mucho mayor en la zona umbría del robledal que en la soleada del arce.

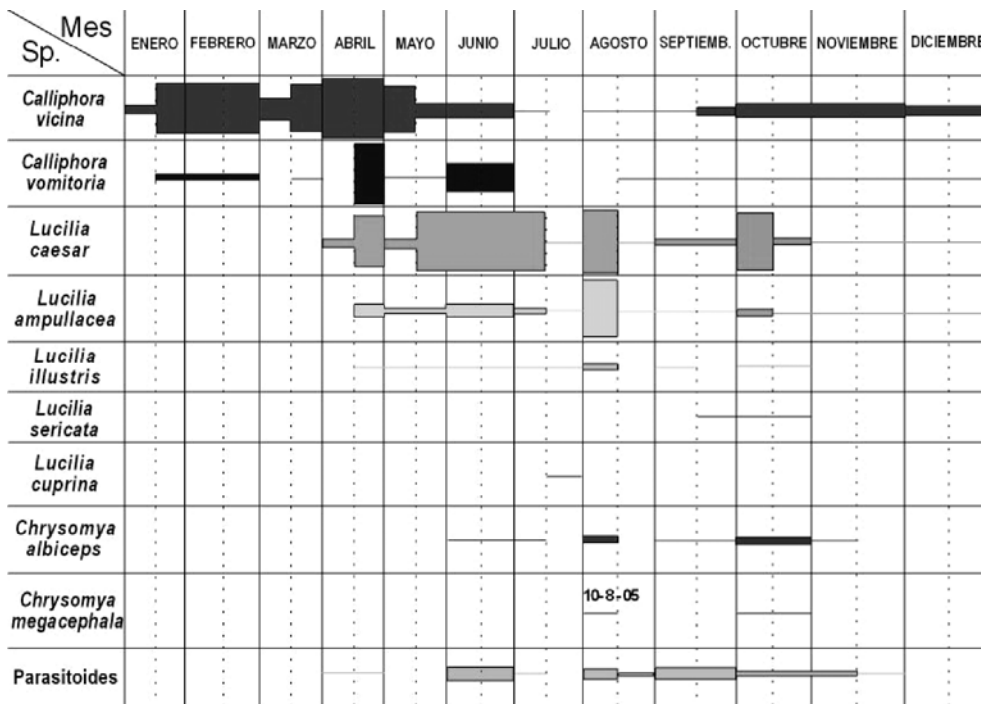


Fig. 4. Sucesión de especies recogidas quincenalmente a lo largo de un año.

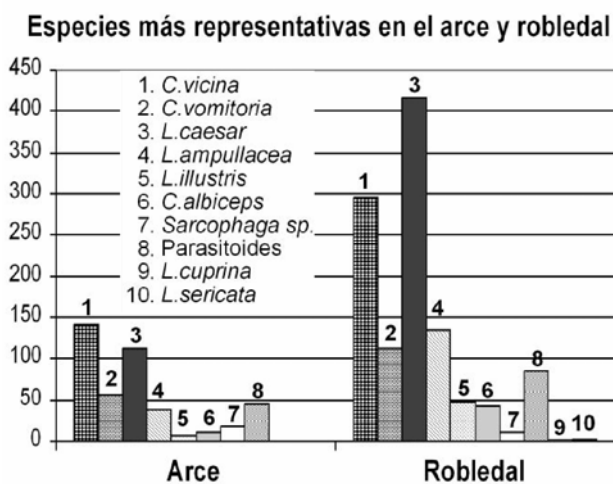


Fig. 5. Distribución de abundancias entre ambas zonas de muestreo.

## Discusión

La familia Calliphoridae es uno de los componentes más importantes en los procesos de descomposición de restos cadavéricos y carroña. En este sentido, han sido numerosos los estudios realizados en todo el mundo, especialmente en el continente americano. En el continente europeo, la entomología forense es una ciencia con potencial que está sufriendo un auge importante en estos últimos años. Este dato lo corroboran los artículos cada vez más frecuentes que se vienen publicando sobre fauna peninsular, quedando la zona norte peninsular pendiente de estos estudios, con datos aislados referidos a especies concretas (*cf.* Peris y González Mora, 1991). Por ello ha sido bastante complicado poder realizar una comparación válida con estudios previos, ya que las condiciones ambientales no fueron tipificadas y nos encontramos con una diversidad de especies dispar entre las diferentes zonas referidas.

Tomemos para ello los resultados obtenidos en este trabajo y comparémoslos con los obtenidos en estudios previos. Así, Arnaldos *et al.* (2001) en la región de Murcia, destacan a las especies *Lucilia* (= *Phaenicia*) *sericata* en primavera; *L. sericata* y *C. albiceps* en verano; *C. albiceps* en otoño y *C. vicina* en invierno. Sin embargo nuestros resultados son muy diferentes ya que en primavera y verano es *L. caesar* la más abundante y en otoño e invierno pasa a serlo *C. vicina*. Estas diferencias en la densidad y diversidad de especies son debidas al diferente ámbito geográfico en el que se han llevado a cabo ambos estudios, siendo el clima sub-desértico de la región murciana mucho más caluroso y menos húmedo que la región norte de España.

Tanto Castillo Miralbés (2002) en el Alto Aragón como Martínez Sánchez (2003) en Alicante, destacan como especies dominantes a *L. sericata* y *C. albiceps*, a excepción del invierno en Aragón donde es *C. vicina* la especie dominante, al igual que en nuestro estudio.

Nuestros resultados coinciden igualmente en la desaparición de *C. albiceps* en primavera y en la aparición accidental de *C. vicina* en verano, si bien apenas se recogen adultos y sólo se consiguen puestas en condiciones de laboratorio. Este hecho puede ser debido a que esta última especie muestra una mayor preferencia por condiciones ambientales más frescas (Arnaldos *et al.*, 2001).

Respecto a los numerosos estudios de sucesión realizados fuera de la Península Ibérica, como son los casos de Centeno *et al.* (2002), Kamani & Goff (1991) y Marchiori *et al.* (2000) entre otros muchos, encontramos resultados aún más dispares en todas las épocas del año. Por ello, ante la marcada estacionalidad y localización de los artrópodos participantes en la descomposición cadavérica, debemos ser muy prudentes con las extrapolaciones y ceñir los resultados al ámbito geográfico particular de aplicación. Es de vital importancia desarrollar una base de datos amplia y accesible, con el fin de poder aplicarla en las futuras investigaciones judiciales donde la entomología forense se precise. En

este sentido, el presente estudio da a conocer una información vital en cuanto a la diversidad y densidad del norte de la Península Ibérica, una zona carente hasta el momento de este tipo de estudios.

Cabe destacar que en todas las estaciones del año, exceptuando el invierno, la riqueza de especies de dípteros ha sido idéntica, así como el reparto de abundancias. En todas ellas recogemos un total de ocho especies diferentes, mientras que en invierno tan solo aparecen activas dos especies próximas (*C. vicina* y *C. vomitoria*). Esto puede ser debido a que en el año en el que se ha realizado este estudio se ha gozado de temperaturas y condiciones ambientales muy estables, obteniendo en los meses de primavera y otoño temperaturas medias similares. Según Castillo Miralbés (2002), la destacada abundancia de *C. vicina* en los meses más fríos es debido a que esta especie pasa el invierno en estado adulto y permanece activo, mientras que por el contrario, el resto de dípteros necrófagos están inactivos por las bajas temperaturas.

Otra conclusión que podemos destacar tras este estudio es que *L. caesar* es dominante en los meses cálidos, siendo de las primeras en llegar hasta los restos animales y realizar su puesta en las estaciones de primavera y verano. En otoño son *L. caesar* y *C. vicina* las primeras en ovopositar; mientras que en invierno es *C. vicina* la primera especie en colonizar dichos restos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Castillo Miralbés (2000) en modelos de sucesión realizados con cerdos.

Por último cabe destacar los resultados obtenidos según el grado de exposición al sol de la trampa. Aunque se observa idéntica distribución de especies, se aprecia más abundancia de ejemplares en el muestreo realizado a la sombra. Estos datos no concuerdan con los obtenidos por Castillo Miralbés (2000), donde obtuvo una menor biodiversidad de ejemplares en el ambiente de sombra. Dado que la metodología de muestreo es claramente distinta, no podemos obviar las limitaciones del método de trapeo en la recogida de determinadas especies que hayan podido no verse atraídas por el diseño o el tipo de cebo.

En cuanto a la preferencia de zonas soleadas o umbrías por parte de las especies dominantes no es tan clara como se preveía. Cierto es que *C. vicina* prefiere ambientes más umbríos (Anderson & Vanlaerhoven, 1996) y así se aprecia en los resultados obtenidos; pero en el caso de *L. caesar*, que en teoría debería tener sus máximas densidades en la zona soleada, lo hace sin embargo en la zona umbría. La mayor cobertura arbórea y herbácea presente en la zona umbría puede ser la explicación de este resultado, ya que las moscas dispondrían de mayor protección y superficies de apoyo para su descanso, y por lo tanto su abundancia puede ser mayor en esa zona. Otra hipótesis a tener en cuenta es que en la zona soleada el cebo se seca con mayor rapidez, formándose una capa seca. De esta forma el cebo podría emitir un olor menos intenso y atractivo para estas especies o presentar unas condiciones menos adecuadas para el desarrollo de los estados larvarios.

Otros trabajos como el de Putman (1978), tan solo han recogido la especie *C. vicina* en el muestreo de sombra. En nuestro caso la riqueza es mayor, y similar a la expuesta al sol, con un total de ocho especies diferentes recogidas en ambos ambientes.

## Bibliografía

- ANDERSON, G.S. & S.L. VANLAERHOVEN 1996. Initial studies on insect succession on carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science*, **41**(4): 617-625.
- ARNALDOS, I., ROMERA, E., DOLORES GARCÍA, M. & A. LUNA 2001. An inicial study on the sucesión of sarcosaprophagous Diptera (Insecta) on carrion in the southeastern Iberian peninsula. *Int. J. Legal Med.*, **114**: 156-162.
- BOUCEK, Z. & J.Y. RASPLUS 1991. *Illustrated key to West-Palaearctic genera of Pteromalidae (Hymenoptera : Chalcidoidea)*. Natural History Museum, Cromwell Road, London. 139 pp.
- CAMPOBASSO, C.P., DI VELLA, G. & F. INTRONA 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science Internacional*, **120**: 18-27.
- CASTILLO MIRALBÉS, M. 2000. Estudio de la entomofauna asociada a los cadáveres en la comarca de la Litera (Huesca). I. Artrópodos identificados en el hábitat carroñero, en Esplús (Huesca). *IX Congreso Ibérico de Entomología*. 149-159.
- CASTILLO MIRALBÉS, M. 2002 *Estudio de la entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón (España)*. Monografías S.E.A. Sociedad Entomológica Aragonesa, **6**, 94 pp.
- CENTENO, N., MALDONADO, M. & A. OLIVA 2002. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Science Internacional*, **126**: 63-70.
- HWANG, C. & B.D. TURNER, 2005. Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. *Medical and Veterinary Entomology*, **19**: 379-391.
- IRELAND, S. & B.D. TURNER 2005. The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. *Forensic Science Internacional*, **159**: 175-181.
- KAMANI, A.H. & M.L. GOFF 1991. Effect of carcass size on rate of decomposition and arthropod succession patterns. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, **12**(3): 235-240.
- KANESHRAJAH, G. & B.D. TURNER 2004. *Calliphora vicina* larvae grow at different rates on different body tissues. *Int. J. Legal Med.*, **118**: 242-244.
- MARTÍNEZ SANCHEZ, A. I. 2003. *Biología de la comunidad de dípteros necrófilos en ecosistemas del sureste de la Península Ibérica* Tesis Doctoral, Universidad de Alicante.
- MARTÍNEZ SANCHEZ, A.I., S. ROJO, K. ROGNES & M.A. MARCOS GARCÍA 1998. Califóridos con interés faunístico en agroecosistemas de dehesa y catálogo de las especies ibéricas de Polleiniinae (Diptera: Calliphoridae). *Bol. Asoc. Esp. Ent.*, **22**(1-2): 171-183.
- MARCHIORI, C.H., C.G. SILVA, E.R. CALDAS, C.I.S. VIEIRA, K.G.S. ALMEIDA, F.F. TEIXEIRA & A.X. LINHARES 2000. Artrópodos asociados com carcaça de suíno em Itumbiara, Sul de Goiás. *Arq. Inst. Biol.*, **67**(2): 167-170.
- PERIS, S.V. & D. GONZALEZ MORA 1991. Los Calliphoridae de España, III Luciliini (Diptera). *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat.* **87**(1-4): 187-207.
- PUTMAN, R.J. 1978. The role of carrion-frequenting arthropods in the decay process. *Ecol. Entomol.*, **3**: 133-139.
- ROMERA, E., M.I. ARNALDOS, M. DOLORES GARCÍA & D. CONZÁLEZ MORA 2003. Los Sarcophagidae (Insecta, Diptera) de un ecosistema cadavérico en el sureste de la Península Ibérica. *Anales de Biología*, **25**: 49-63.
- SMITH, K. 1986. *A manual of forensic entomology*. British Museum (Natural History), Cromwell Road, London. 205 pp.
- TANTAWI, T.I., E.M. EL-KADY, B. GREENBERG & H.A. EL-GHAFFAR 1996. Arthropod succession on exposed rabbit carrion in Alexandria, Egypt. *J. Med. Entomol.*, **33**: 566-580.
- ZUMPT, F. 1956. Calliphorinae. En LINDNER, E. 1956. *Die Fliegen der Palaearktischen Region*. Schweizerbart., **1**: 140.