

Desarrollo larval de *Entomofauna* de importancia forense en un bosque seco de la costa ecuatoriana

Entomofauna larval development of forensic importance in a dry forest of the Ecuadorian coast

Andrea Lilibeth Merino Mosquera

*Egresada de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil.
Telf. 0969814581.*

Recibido de abril 2020; recibido en forma revisada 26 de mayo 2020, aceptado 1 de junio 2020
Disponibile en línea 26 de junio 2020

Resumen

La provincia del Guayas tiene una deficiencia en claves de desarrollo larval para la identificación de Dípteros con fines forenses. Para la identificación de los insectos en estadios preimaginales se requiere esperar que el espécimen sea adulto, lo que limita su uso en entomología forense. El presente trabajo describe la ontogenia de entomofauna de importancia forense asociadas a vísceras en descomposición. Las familias registradas fueron Sarcophagidae, Calliphoridae y Muscidae. Las primeras moscas en colonizar el cebo pertenecen Caliphoridae seguidos de Sarcophagidae y Muscidae. Se detectó tres características morfológicas relevantes para identificación y diferenciación entre estadios y entre familias: cápsula cefálica, espiráculo anterior, branquias del espiráculo anterior y tubérculos dorsales internos. Los tiempos de desarrollo larval varía entre familias, siendo Sarcophagidae quien exhibe mayor tiempo. La información presentada en este trabajo facilitará la identificación taxonómica de muestras de insectos obtenidas de cuerpos en descomposición, con posibilidad de estimación de intervalos post-mortem (IPM).

Palabras clave: Sarcosaprófagos, Bosque seco decíduo, Guayaquil, Holometábolos, Estadios preimaginales.

Abstracts

The province of Guayas has very few available keys for Diptera larvae development identification with forensic purposes. To identify insects in preimaginal stages, it is required to wait for the specimen to become adult to determine its identification, which limits its use in forensic science. The present work focuses on describing the ontogeny of entomofauna of forensic relevance associated with decomposing viscera. The families registered during the sampling were Sarcophagidae, Calliphoridae and Muscidae. The first flies to colonize the bait belong to the. Three morphometric characteristics relevant for identification and differentiation between stages and families were detected: cephalic capsule, anterior spiracle, gills of the anterior spiracle and internal dorsal tubers. On the other hand, larval development period vary between families, with Sarcophagidae being the group with the longest period. The information presented in this work will facilitate the taxonomic identification of insect samples obtained from decomposing bodies, with the possibility of estimating post-mortem intervals (PMI).

Keywords: Sarcosaprófagos, Dry Deciduous Forest, Guayaquil, Holometábolos, Preimaginal Stages.

Introducción

La criminalística es una disciplina que utiliza los conocimientos científicos para reconstruir un hecho delictivo (López, 2017) no solo en el establecimiento del intervalo postmortem (IPM). Tradicionalmente, la importancia de las ciencias forenses reside en su capacidad de aportar información acerca de quién y cómo se ha cometido un delito (Houck, 2006). Por otra parte, la entomología es una rama de la Biología

que tiene por objetivo el estudio de los insectos y la relación de éstos con el medio; y se encarga del estudio de la morfología, biología, fisiología, bioquímica y todo lo relacionado con insectos. Específicamente, la entomología forense trabaja con las muestras de larvas, pupas y adultos de insectos presentes en cadáveres (Hau, 2015).

El cadáver es un recurso trófico para varios organismos, el cual induce una sucesión de colonizaciones con diferente composición faunística. La fauna

* Correspondencia del autor:
E-mail: andreamerinosmosquera@yahoo.com



cadavérica está compuesta de aproximadamente unas veinte especies de insectos que forman ocho grupos en asociación a materia en descomposición post mortem. Este proceso de llegada es dependiente casi en su totalidad de variables ambientales como la temperatura, la humedad relativa, el tipo de vegetación, el pH del suelo, la temporada estacional, así como también de las circunstancias de la muerte (Mavárez-Cardozo et al., 2005).

En este contexto, la entomología es una de las especialidades más relevantes dentro de las ciencias forenses, debido a que es posible estimar el tiempo de muerte en función de la biología de los insectos encontrados en un cadáver. El intervalo postmortem (IPM) equivale al tiempo transcurrido entre la muerte y el descubrimiento de un cadáver; por lo tanto, su estudio permite la estimación de estos procesos. Por otro lado, la entomología forense puede proporcionar detalles como el lugar de la muerte, la identificación de los posibles eventos de traslados de cuerpos, así como las características de las zonas de origen del cadáver y toxicología (envenenamiento y uso de drogas) (Mavárez-Cardozo et al., 2005). Esta rama ha sido clasificada en tres divisiones: urbana, médico-legal y de productos almacenados. El presente trabajo se enfoca en la división médico-legal, la cual se centra en el estudio de los insectos como evidencia para la resolución de casos de muertes.

El primer documento escrito de un caso resuelto por la entomología forense se remonta al siglo XIII, en un manual de Medicina Legal chino, referente a un caso de homicidio en el que apareció un labrador degollado por una hoz. A partir del presente, un sin número de estudios han evaluado la asociación entre insectos de distintos grupos, con los periodos de descomposición. Por ejemplo, Peceros (2011) realizó un estudio en carcasas de cerdos donde analizó los aspectos ecológicos y sucesión entomológica de diferentes poblaciones de insectos utilizando dos modelos diferentes de cerdo doméstico, uno con prendas de vestir y otro sin ellas, expuestos a un ambiente natural. Por otro lado, Camacho (2005) realizó el primer estudio de fauna cadavérica en Bogotá; el autor utilizó un cerdo blanco y determinó la sucesión de entomofauna y la aproximación al cálculo del IPM en un ambiente natural como la sabana colombiana.

Los países del Neotrópico tienen una composición entomofaunística y ambiental diversa y extensa, respecto a otras regiones (Mavárez-Cardozo et al., 2005) Ecuador, en particular por su diversidad climática, se convierte en una zona ideal para llevar a cabo investigaciones sobre entomofauna cadavérica. Además, la variación ambiental que lo caracteriza permite evaluar, por ejemplo, la influencia de cambios térmicos sobre el desarrollo larval de la entomofauna, y también la duración de los estadios de putrefacción de los cadáveres, y por tanto, del tiempo transcurrido desde el fallecimiento hasta el hallazgo de cadáveres (Guamangallo y Ibijes, 2012).

Una de las investigaciones más completas en el Neotrópico sobre los diferentes estadios inmaduros de insectos necrófagos es el trabajo publicado por Florez & Wolff (2009); el cual describe los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. El mencionado trabajo presenta una clave dicotómica con ilustraciones para separar 13 especies de larvas de Calliphoridae en todos sus estadios inmaduros.

Una investigación realizada por Salazar y Donoso (2015) reúne los grupos relevantes de insectos de importancia forense de 21 provincias del Ecuador: Coleóptera (siete familias relevantes: Cleridae, Dermestidae, Histeridae, Scarabaeidae, Silphidae, Staphylinidae, y Trogidae); Díptera (ocho familias relevantes: Calliphoridae, Fanniidae, Muscidae, Phoridae, Piophilidae, Sarcophagidae, Sepsidae, y Stratiomyidae); e Himenóptera principalmente miembros de la familia Formicidae. Dada la alta diversidad de fauna en el país, los esfuerzos de la región en el área de entomología forense están dirigidos aún a caracterizar la diversidad de entomofauna. Por ejemplo, en trabajos recientes realizados en la provincia del Guayas, Arbeláez y Narváez (2019) y Palomeque (2019) evaluaron la entomofauna relacionada a cadáveres de cobayos y su asociación con los estados de descomposición de la muestra en dípteros y coleópteros, respectivamente. Sin embargo, poco es conocido sobre la morfología y desarrollo de las larvas de estos grupos de especies en Ecuador. Estos organismos, en estadios tempranos del desarrollo tienen un papel relevante en la descomposición de organismos vivos, en especial de las partes blandas de cadáveres como músculos, piel y vísceras (Núñez y Liria, 2014).

En la actualidad, no existe una clave para la identificación de los estadios preimaginales de los dípteros que generalmente son hallados en los cadáveres en Ecuador, a pesar de que estos son en el grupo más influyente dentro de la entomofauna de sarcosaprófagos y son principalmente quienes colonizan un cuerpo en descomposición durante todas sus etapas (Lannacone, 2003).

La provincia del Guayas tiene una deficiencia en claves de desarrollo larval para la identificación de Dípteros relacionados a fauna cadavérica local. Es importante recalcar que las claves del Neotrópico, Europa y Norteamérica, son de utilidad, pero es necesario realizar una clave para cada zona geográfica debido a la diferencia de especies características de cada región. Además, en algunos casos para la identificación de los insectos en estadios preimaginales se requiere esperar a que el espécimen sea adulto para determinar su identificación. Por esto surge la necesidad de estudiar los estadios inmaduros de los dípteros, el orden de insecto más relevante en estudios forenses asociados a carroña. El conocer la ontogenia de los insectos presentes en cadáveres facilita identificar y describir cada uno de los cambios de estructuras y tiempo de desarrollo en función de cambios de

coloración y medidas morfométricas que caracterizan a las diferentes especies de entomofauna, y se facilita estimar con rapidez el tiempo de muerte.

Antecedentes

La evidencia de conocimiento ancestral sobre la biología de los dípteros y su relación con el hombre data desde el siglo XIII. En civilizaciones antiguas, las moscas aparecen como amuletos (Babilonia, Egipto), como deidades (Baalzebub, El Señor de las Moscas), y fueron consideradas plagas en la historia bíblica del Éxodo (Hau, 2015). Además, indicios sobre el conocimiento de la metamorfosis de las moscas ya era conocida en el antiguo Egipto. Por ejemplo, un papel encontrado en el interior de la boca de una momia contiene la siguiente inscripción: “Los gusanos no se volverán moscas dentro de ti” (Papiro Gized nº 18026: 4: 14) (Castner, 2008). En realidad, la mayoría de los insectos entomados en los embalsamamientos por antiguas civilizaciones son los que ahora nos ayudan en la resolución de los casos de muerte, y son el objeto de estudio de la entomología forense (Greenberg, 2005).

La entomología forense, se remonta al año 1235 D.C. cuando el investigador chino Sung Tz'ú escribió un libro titulado “The Washing Away of Wrongs”, este fue traducido en 1981 por McKnight, de la Universidad de Michigan (USA). Se presume que ese texto muestra el primer caso de Entomología Médico-criminal reportado. En el mismo, el autor describe que, tras un asesinato por acuchillamiento, el líder político de una comunidad mandó llamar a los habitantes de su pueblo y les pidió colocar sus hoces en el suelo, notando que una de ellas se rodeó de moscas, debido posiblemente a que conservaba trazas de sangre ya descompuesta. Así, se determinó que su propietario había sido el responsable del crimen (Castner, 2008; Catts, 1992).

Durante muchos años se pensaba que al morir una persona las larvas aparecían en el cadáver por generación espontánea, o bien salían del propio cadáver. Estas creencias perduraron hasta que Francisco Redi, un naturalista del Renacimiento se propuso demostrar de una forma científica que estas larvas procedían de insectos, que depositaban sus huevos para que se desarrollasen sobre el cadáver (Hau, 2015). Para ello Redi, realizó el siguiente experimento: expuso al aire libre un gran número de cajas descubiertas y en cada una de ellas depositó un trozo de carne, unas veces cruda y otras cocida, para que las moscas atraídas por el olor vinieran a desovar sobre ellas. A las diversas carnes acudieron las moscas y desovaron ante la presencia de Redi, que observó cómo estos huevos depositados por los insectos se transformaban primero en larvas, después en pupas y por último vio cómo salían los individuos adultos (Hau, 2015). Pero como es lógico todo experimento tiene su contraprueba. Para ello, las mismas carnes se colocaron en cajas, pero esta vez cubiertas con una gasa, a fin de que también se produjese en ellas

la putrefacción, pero las moscas no tuviesen acceso a ellas. Redi vio que evidentemente las carnes se corrompían, pero que no aparecía sobre ellas ninguna larva. También observó que las hembras de las moscas intentaban introducir la extremidad del abdomen por las mallas tratando de hacer pasar a través de ésta sus huevos y que algunas moscas no depositaban huevos, sino larvas vivas, dos de las cuales pudieron introducirse a través del tejido (Hau, 2015).

En 1668, mediante el experimento que permitió refutar la hipótesis de la “Generación Espontánea de la vida”, Redi evidenció procesos de ovoposición (deposición de huevos y de larvas vivas) de cuatro tipos de moscas: Moscas azules (*Calliphora vomitoria*), moscas negras con franjas grises (*Sarcophaga carnaria*), moscas análogas a las de las casas (*Musca domestica*) o (*Curtonevra stabulans*), y moscas de color verde dorado (*Lucilia caesar*) (Hau, 2015). Estas especies corresponden a aquellas actualmente utilizadas en entomología forense.

Más tarde en 1855, Bergeret en París fue el primer occidental en utilizar los insectos como indicadores forenses. Reportó el caso del cuerpo de un bebé encontrado oculto en una casa, detrás de un manto de yeso. Se determinó que la asociación de insectos y el cuerpo puntualizaba el estado de descomposición (Jason & Castner, 2001). Casi treinta años más tarde, el Dr Brouardel, de la Facultad de Medicina de París, se puso en contacto con Pierre Mégnin (veterinario, experto entomólogo y parasitólogo) para estudiar en forma metódica la fauna cadavérica.

Mégnin es considerado el verdadero fundador de la entomología forense moderna. En 1887 publicó La Faune des Tombeaux (La Fauna de las Tumbas) y en 1894, La Faune des cadavres (La fauna de los cadáveres). Sus conclusiones siguieron aplicándose hasta inicios del siglo XX. En 1957, el australiano Bornemisza hizo por primera vez experimentos metódicos exponiendo cobayos muertos para estudiar la sucesión de insectos necrófagos. Sin embargo, los cuerpos pequeños obligan a extrapolar las inferencias respecto a humanos, ya que se secan más rápido que un cuerpo humano y representan menos recurso alimenticio para los insectos (Torres et al., 2006). El Dr Marcel Leclercq, de la Universidad de Lieja (Bélgica), publicó en 1978 el primer tratado sobre el tema para el siglo XX, “Entomologie et Médecine Légale: Datation de la Mort” (Entomología y Medicina legal: datación de la muerte). A raíz de estos avances, en las últimas décadas este campo específico de la entomología ha tenido un desarrollo muy importante (Torres et al., 2006).

Como resultado de estos esfuerzos, la Entomología Forense ha adquirido una gran importancia dentro del campo de la Medicina Legal en países como Estados Unidos, Canadá, Tailandia, Italia, España y Alemania, los cuales tienen en común su localización por encima de los 23° N de latitud. Estos trabajos han estado sujetos a las condiciones ambientales características

de zonas templadas, donde hay cuatro estaciones marcadas, estaciones anuales bien definidas, con especies y actividad artrópoda propias (Arnaldos et al., 2011).

Para mencionar otras regiones, los bosques tropicales de América Latina y el Caribe son considerados de alta importancia, tanto por su extensión geográfica como por su riqueza biológica y complejidad ecológica. De los diez países con los bosques tropicales más extensos, seis se encuentran en el Neotrópico, estos son: Brasil, Perú, Colombia, Bolivia, México y Venezuela, y abarcando casi la mitad de los bosques de esta categoría. Sin embargo, los trabajos referentes a la diversidad de dípteros asociados a entomología forense son limitados. El clima neotropical se caracteriza por presentar temperaturas predecibles y relativamente constantes entre una estación y otra. Por otro lado, los regímenes lluviosos son más variables y por consiguiente la diferencia entre las estaciones puede estar regida por la presencia de lluvias. A estas condiciones climáticas se agrega un paisaje caracterizado por altas montañas, páramos de altura, zonas húmedas, bosques, extensas planicies, desiertos, estepas y manglares. Es así como la combinación de climas y accidentes geográficos proporciona diferentes hábitats, por lo que el rasgo predominante de la región neotropical es su impresionante diversidad, tal vez la mayor de todos los continentes (Barreto et al., 2002).

Las claves completas realizadas sobre dípteros durante todo su ciclo de vida son de las zonas templadas, de Europa y Norte América (Yusseff, 2006). En las zonas tropicales existen claves completas de Colombia, Perú y Brasil (Yusseff, 2006), por lo que Ecuador en sus investigaciones utiliza las claves desarrolladas en estos países.

Es así que, desde los años cincuenta se realizan en todo el mundo trabajos con el fin de conocer la entomofauna cadavérica, mediante cebos y exponiendo los cadáveres a diferentes ambientes (Guamangallo & Ibijes, 2012). En América Latina, por ejemplo: Buenaventura et al. (2009) trabajó en la identificación de larvas en 16 géneros de Sarcophagidae. Además, Cano (2017) estudió el ciclo de vida de *Phaenicia eximia* en medios controlados. También, Florez & Wolff (2009) elaboró una clave dicotómica de 13 especies de Calliphoridae y describió sus estadios inmaduros.

Al referirnos al Ecuador, es conocido que alberga a una gran diversidad de insectos, pero es muy poco lo que se sabe de ellos (Barragán et al., 2009). Existe aún la necesidad de crear catálogos de la mayoría de los grupos de insectos y de otros invertebrados. Por otro lado, es muy poco lo que se conoce sobre la distribución, ecología y conducta de los pocos insectos conocidos (descritos formalmente y/o registrados formalmente en catálogos regionales) (Barragán et al., 2009).

También podemos citar a Guamangallo & Ibijes (2012) que evaluaron los factores relacionados con la sucesión de entomofauna cadavérica y los estado de descomposición en un biomodelo de cerdo blanco. Así también Aguirre (2014) presentó una lista de especies de interés forense las cuales podían servir como indicadores de intervalos post mortem, traslados, negligencias y uso de estupefacientes.

Los mencionados trabajos están enfocados en el estadio adultos, mas no larvales por lo que se tiene que seguir realizando estudios, para así obtener una clave completa con la identificación de larvas en función de su morfología.

Metodología

Área de estudio

Este trabajo se realizó en la Reserva Forestal Senderos Parque Samanes, ubicado en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas, Ecuador (Fig. 1). Esta es un área que abarca una extensión de 137 hectáreas, posee una formación vegetal de arbustal seco deciduo frecuentemente espinoso, con una vegetación de 4 a 6 m de alto y pocos árboles dispersos que pueden alcanzar entre 8 a 10 m (Josse et al., 2013). Al menos el 75% de las especies de árboles pierde sus hojas durante la estación seca. Esta formación anteriormente dominaba la planicie cálida de la costa, desde el nivel del mar hasta unos 700 m de altitud (Aguirre et al., 1986).

Trabajo de campo

Para realizar los muestreos se escogieron cuatro sitios dentro de la Reserva, durante el mes de septiembre de 2019 (Tabla 1). Se establecieron dos trampas pitfall por zona, los cuales fueron monitoreadas diariamente durante una semana. Se colocó un total de ocho trampas pitfall, utilizando como cebo 250 gr. de vísceras de pollo (Fig. 2).

Las trampas pitfall se ubicaron a 30 cm de profundidad en el suelo. Durante la primera semana se colocó cebo diariamente, debido a que el mismo fue removido por vertebrados carroñeros. A partir de la segunda semana, cada trampa fue cubierta con una malla de hierro para protección del cebo y se realizaron los huecos 15 cm más profundos, como se indica en la descripción grafica de uno de los sitios de muestreo (Fig. 2a). Las colectas de larvas se realizaron diariamente durante todo el proceso de descomposición de las vísceras, se recolectó los individuos que se encontraban dentro de las trampas sobre las vísceras de pollo. Las larvas fueron colectadas para su posterior mantenimiento en cautiverio.

Cada tarrina fue colocada dentro de una caja térmica (hielera) para su traslado, y fueron asignadas un código: S - Localidad Samanes, E_# - Número de Ensayo, S_# - Número de Sitio, T_# - Número de trampa, Día y Mes (Fig. 2b).

Posteriormente, las larvas fueron colocadas en una canasta con malla expuesta al ambiente durante 30 minutos (Fig. 3f). Pasado este tiempo, se contaron

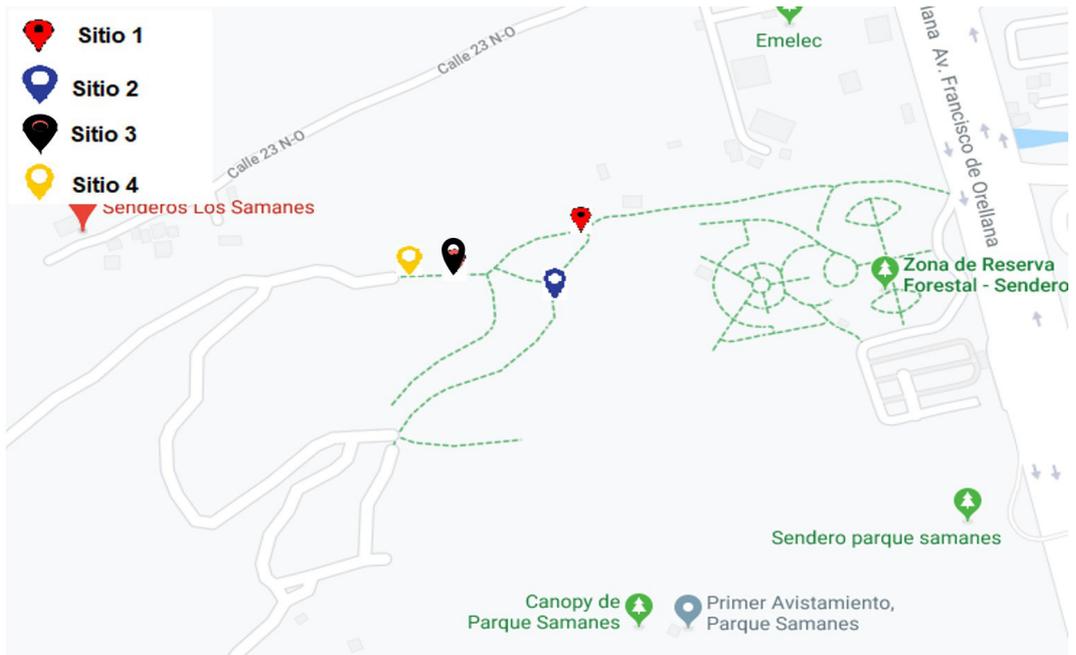


Figura 1. Área de muestreo. Se indican cuatro sitios de muestreo en la Reserva Forestal Senderos Parque Samanes.

Tabla 1. Descripción de los sitios de muestreo.

Lugar	Coordenadas	Distancia del sendero	Descripción del Lugar
Sitio 1	2° 6' 9.45"S - 79° 54' 48.26"O	8.69 m	Zona de tierra firme con vegetación herbácea, cerca del sendero peatonal
Sitio 2	2° 6' 11.254"S - 79° 54' 48.15"O	15.82 m	Zona de tierra firme con vegetación herbácea, cerca de un canal de agua y de la ciclovia
Sitio 3	2° 6' 10.721"S - 79° 54' 50.86"O	8.75 m	Zona de tierra firme con vegetación herbácea, cerca de la ciclovia
Sitio 4	2° 6' 10.73"S - 79° 54' 51.25"O	10.50 m	Zona de tierra firme con vegetación herbácea, cerca de la ciclovia

las larvas de cada una de las tarrinas (Fig. 3d) y se clasificaron en las posibles fases de desarrollo; se separaron dos a tres individuos de diferentes tamaños, los cuales fueron fijados y preservados. Para la preservación, las larvas fueron colocadas en agua caliente a 70 °C para que conserve su forma y fueron colocadas en etanol al 70% en tubos Eppendorf, siguiendo las recomendaciones de Núñez y Liria (2014). La preservación de larvas fue realizada cada cuatro horas tomando como base el grupo de larvas inicialmente colectado. Las larvas fueron mantenidas a una temperatura promedio de 25 ° y preservadas a una temperatura promedio de 28 °C.

Las larvas restantes fueron mantenidas y se permitió su desarrollo en las tarrinas. Para esto, el hígado fue cambiado cada cuatro horas y rociado con agua para mantener la humedad (Fig. 3d). Se realizó conteos diarios registrando la temperatura ambiental y observaciones generales. A partir del cuarto o quinto día las larvas fueron separadas de acuerdo con diferencias físicas, visiblemente significativas como la coloración y el tamaño. Al alcanzar el estadio de pupa, estas fueron trasladadas a tarrinas con un sustrato de aserrín (Álvarez 2016). De igual manera, se tomaron registros diarios para detectar cambios de coloración; adicionalmente se tomó la temperatura

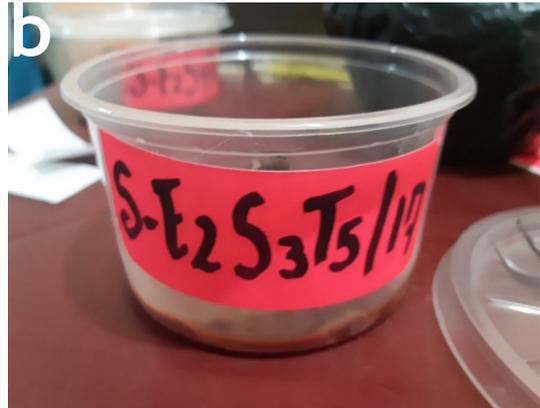


Figura 2. Descripción gráfica de uno de los sitios de muestreo: 2a) Trampa pitfall con su respectiva malla de protección; 2b) tarrina codificada de larvas recién llegada del campo.

del medio de mantenimiento y se contabilizó las horas que tardaron las larvas en alcanzar el estado adulto. Los adultos fueron sacrificados y montados para su posterior identificación.

Medición de larvas

Las larvas sacrificadas fueron fotografiadas en un microscopio estereoscópico Nikon, este instrumento cuenta con un zoom de 7.5x que incorpora el sistema óptico Greenough. El rango de zoom de 0.67x a 5x proporciona un amplio rango de observación (Nikon, 2018). Se midió el largo y ancho de cada larva con un calibrador 1 mm de uso comercial, tomando como referencia el punto más largo y más ancho de la larva. Posteriormente, se registró 19 medidas listadas en la Tabla 2.

Descripción general de referencia de estadios larvales

Los insectos holometábolos comprenden aquellos organismos que sufren una metamorfosis completa, indirecta; los cuales en el transcurso de su vida pasan por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto (Schuster, 1989). El desarrollo larval corresponde al periodo comprendido entre el huevo y la pupa. Esta fase se caracteriza porque las formas larvales son similares entre sí a lo largo de los distintos estadios. Difieren considerablemente de los adultos en su forma y en su estructura, pues el aparato bucal y algunos apéndices cambian de forma y función. La pupa es un estadio de quietud, su movilidad es casi nula por el cual pasan las larvas para convertirse más tarde en adulto. La pupa no come, y durante este periodo se produce una serie de fenómenos de histólisis o histogénesis que dan lugar a un animal completamente diferente. El insecto adulto una vez completa su metamorfosis, emerge a través del extremo anterior de la envoltura o cápsula pupal. A este grupo pertenecen la mayoría de insectos del orden Coleóptera, Himenóptera, Díptera y Siphonaptera (Schuster, 1989). A continuación, se describe una clave para identificar los diferentes estadios de Dípteros, siguiendo las recomendaciones de Arnaldos et al. (2011).

Etapas larval de primer instar o “L1”; “larva de primer estadio”

Dura aproximadamente 25 horas desde de la eclosión del huevo, aún no cuenta con los espiráculos anteriores, los espiráculos posteriores solo tienen dos aberturas, las glándulas salivales son muy pequeñas y los ganchos bucales pueden tener un solo diente.

Etapas larval de segundo instar o “L2”; “larva de segundo estadio”

Dura aproximadamente 23 horas después del primer instar larval, los espiráculos aún no se abren al exterior, pero si están presentes los espiráculos posteriores poseen las tres aberturas, las glándulas salivales están extendidas hasta el primer segmento abdominal y los ganchos bucales poseen dos o tres dientes.

Etapas larval del tercer instar o “L3”

Dura aproximadamente 48 horas después del segundo instar larval, las larvas dejan de alimentarse y algunas pierden su movilidad. Los espiráculos anteriores ya están abiertos al exterior, los espiráculos posteriores poseen tres aberturas cada uno, las glándulas salivales están extendidas hasta el segundo segmento abdominal y los ganchos bucales poseen entre 9 y 12 dientes. Termina en la formación de la pupa. Se identificó dos etapas.



Figura 3. Diagrama del procedimiento seguido para el mantenimiento de larvas.

Tabla 2. Estructuras de las larvas y pupas medidas con fines comparativos. Se lista la fuente bibliográfica que sugiere la utilización de las mencionadas estructuras para diferenciación taxonómica.

ESTRUCTURA LARVAL		DESCRIPCION	FUENTE
Tórax	Espiráculo anterior	Longitud y número de abertura respiratoria ubicada en el tórax (mm)	(López, 2017)
Tórax	Branquias del Espiráculo anterior	Longitud y número de estructura membranosa ubicada en el espiráculo anterior (mm)	(Florez & Wolff, 2009)
Zonal anal	Tubérculo dorsal medio	Longitud de la pequeña elevación ubicada en la zona anal (mm)	(Trigo, 2006)
Zonal anal	Tubérculo dorsal externo	Longitud de la pequeña elevación ubicada en la zona anal (mm)	(Trigo, 2006)
Zonal anal	Tubérculo ventral interno	Longitud de la pequeña elevación ubicada en la zona anal (mm)	(Trigo, 2006)
Zonal anal	Tubérculo ventral medio	Longitud de la pequeña elevación ubicada en la zona anal (mm)	(Trigo, 2006)
Zonal anal	Tubérculo ventral externo	Longitud de la pequeña elevación ubicada en la zona anal (mm)	(Trigo, 2006)
Zona espiracular	Espiráculo posterior	Longitud y número de abertura respiratoria ubicada en la zona espiracular (mm)	(Florez & Wolff, 2009)
Zona espiracular	Banda de espinas	Longitud de la banda ubicada dentro de la zona anal (mm)	(López, 2017)
ESTRUCTURA LARVAL		DESCRIPCIÓN	FUENTE
Zona espiracular	Peritrema	Longitud del esclerito ubicado en la zona espiracular (mm)	(López, 2017)
Zona espiracular	Hendidura respiratoria	Longitud del segmento ubicado dentro del peritrema (mm)	(López, 2017)
Zona espiracular	Hendidura no funcional	Longitud del segmento ubicado junto a la hendidura respiratoria (mm)	(López, 2017)
Zona espiracular	Penacho pelos peristigmáticos	Número de pelos ubicado en los espiráculos (mm)	(López, 2017)
Zona espiracular	Botón o cicatriz eodisial	Longitud del segmento ubicado dentro del peritrema (mm)	(López, 2017)
ESTRUCTURA DEL PUPARIO		DESCRIPCIÓN	FUENTE
Espiráculo anterior		Longitud y número de abertura respiratoria ubicada en el tórax (mm)	(López, 2017)
Pseudocefalón colapsado		Longitud de la cápsula cefálica atrofiada (mm)	(López, 2017)
Bandas espinosas		Longitud y número de cada segmento del pupario (mm)	(López, 2017)
Segmentos del pupario		Longitud y número de cada segmento del pupario (mm)	(López, 2017)
Cuerno respiratorio		Número y ubicación del cuerno respiratorio (mm)	(López, 2017)

Etapa larval temprana del tercer instar

Dura aproximadamente 24 horas desde el inicio del tercer instar larval, las larvas ya no se alimentan y pierden su movilidad. La larva empieza a cambiar su coloración, tiende a ser más oscura.

Etapa larval tardía del tercer instar

Larva del tercer estadio temprano en esta etapa es visible la formación de la cápsula pupal desde la zona anal.

Etapa Pupa

Esta etapa comienza en la formación de la pupa y finaliza cuando se rompe la armadura oral de la pupa y emerge el saco imaginal de la cabeza. Este proceso dura entre 120 a 170 horas.

Análisis estadísticos

Con los datos obtenidos durante el muestreo se utilizó estadística descriptiva para calcular el promedio y la desviación estándar del tiempo de duración de estados de descomposición y de estadios larvales y pupas.

Se realizó la Prueba de Levene para observar si los datos son homogéneos y se exploró normalidad de los datos. Dado que los datos no están normalmente distribuidos, se realizó una transformación a Logaritmo en base 10 previo a la ejecución de análisis estadísticos.

Se llevó a cabo un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos niveles para ver la diferencia en tiempo de duración de estadios entre las familias identificadas; se realizó la Prueba de Tuckey para comparar los valores de la media.

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA), con 14 medidas morfométricas para visualizar la similitud morfológica entre estadios y familias. Se llevó a cabo un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos niveles para comparar la morfometría entre las larvas de las familias identificadas entre estadios y se utilizó tres variables que más contribuyen en la solución del PCA (cápsula cefálica, espiráculo anterior y branquias del espiráculo anterior).

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con la ayuda del Programa IBM SPSS Statistics 25 (2017).

Resultados

Descripción de las familias encontradas

Se encontraron individuos que pertenecen a tres familias: Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae. A continuación se presenta una descripción morfológica de estas familias, esta coincide con las descripciones propuestas por: Vockeroth (1972), Greenberg y Szyska (1984), Shewell (1987), Carvalho (1997) y Zumbado (2006).

Calliphoridae

Las larvas son vermiformes, con 0.3-1.9 mm de longitud y 0.05-0.5 mm de ancho, sin cápsula cefálica

visible, con el extremo anterior subcónico; el extremo posterior es contraído y tiene forma semi-circular, alrededor tiene seis pares de tubérculos posteriores. Durante el tercer estadio larval en cada segmento hay una banda de espinas cuticulares, la cual se prolonga desde el tórax hasta la zona espiracular, formando una banda completa o incompleta. Los adultos son de tamaño mediano, 8-10 mm de longitud. La coloración varía entre verde o azul metálico (Zumbado, 2006).

Sarcophagidae

Las larvas son grandes, tienen 0.4 a 2.4 mm de longitud y 0.1 a 1 mm de ancho, son vermiformes con una coloración crema amarillento. En el primer instar larval la cápsula cefálica es semi-visible, el extremo posterior es contraído y tiene forma semi-circular, alrededor tiene seis pares de tubérculos posteriores. Durante el tercer estadio larval en cada segmento hay una banda de espinas cuticulares, la cual se prolonga desde el tórax hasta la zona espiracular, formando una banda completa o incompleta. Los adultos son de tamaño grande, 11-16 mm de longitud. La coloración es gris pardo con tres bandas negras con fondo gris en el tórax.

Muscidae

Las larvas son pequeñas tienen 0.2 a 1 mm de longitud y 0.02 a 1 mm de ancho, son vermiformes con una coloración rosada. En el primer instar larval la cápsula cefálica no es visible, el extremo posterior es contraído y tiene forma semi-circular, alrededor tiene seis pares de tubérculos posteriores. Durante el tercer estadio larval en cada segmento hay una banda de espinas cuticulares, la cual se prolonga desde el tórax hasta la zona espiracular, formando una banda completa. Los adultos pueden ser pequeñas o medianas, 5-7 mm de longitud. La coloración es gris o negra con tres bandas negras con fondo gris en el tórax.

Descripción de número de muestras y familias

Se encontró un total de 240 individuos. Se preservaron individuos en diferentes estados de descomposición de las vísceras: Estado fresco, período cromático y período enfisematoso (Tabla 3, Fig. 4). La categoría de cebo nuevo fue cambiada diariamente y se lo consideró de esa manera debido a que en las primeras semanas la fauna del lugar removió el cebo.

El cebo en estado fresco duró las primeras 26 horas colocadas en la trampa, no se percibía mal olor y la temperatura fue menor a la ambiental ($T^{\circ}_{\text{ambiental}} = 24^{\circ}\text{C}$, $T^{\circ}_{\text{muestra}} = 22^{\circ}\text{C}$) (Fig. 4a). Se pudo observar que la mayor cantidad de individuos pertenecientes a la familia Calliphoridae y Sarcophagidae llegaron en este estado fresco (Tabla 3).

El período cromático inició entre 24 - 48 horas desde la puesta del cebo, se comienza a percibir mal olor, la temperatura es menor a la ambiental ($T^{\circ}_{\text{ambiental}} = 26^{\circ}\text{C}$, $T^{\circ}_{\text{muestra}} = 21^{\circ}\text{C}$), tiene una apariencia acartonada, se visualiza la coloración rosado-grisáceo con flictenas, que son ampollas que se forman en la

Tabla 3. Número de individuos colectados de las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae, en los diferentes estados de descomposición.

Estados de descomposición	Calliphoridae	Muscidae	Sarcophagidae	Total general
Nuevo Cebo	13			13
Estado fresco	56	2	63	128
Periodo cromático	17		15	34
Periodo enfisematoso	35	7	22	65
Total general	121	9	100	240



Figura 4. Aspecto físico del estado de descomposición de las vísceras de pollo a) Estado fresco, b) período cromático, c) período enfisematoso.

superficie y se empieza a percibir un mal olor (Fig. 4b). Dentro de este período las familias Calliphoridae y Sarcophagidae fueron encontradas en mayor cantidad (Tabla 3).

El período enfisematoso inició entre 48 - 96 horas desde la puesta del cebo, se empezó a apreciar el hinchamiento de las vísceras, el mal olor a putrefacción es muy fuerte originado por la emanación de gases, la temperatura es menor a la ambiental ($T^{\circ}_{\text{ambiental}} = 26^{\circ}\text{C}$, $T^{\circ}_{\text{muestra}} = 21^{\circ}\text{C}$), tiene una apariencia acartonada y su coloración es grisáceo-morada (Fig. 4c). Durante este período la familia Muscidae fue la menos frecuente (Tabla 3). La familia Calliphoridae fue el grupo más abundante en comparación a Sarcophagidae y Muscidae con un total de 121 individuos (Tabla 3).

Descripción morfológica de estadios larvales

El PCA (Fig. 5) permite visualizar la separación de los grupos Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae. La separación morfológica entre las familias Calliphoridae y Sarcophagidae se debe a que las larvas de Muscidae son más pequeñas que las de Calliphoridae y Sarcophagidae que son las más grandes. En el estadio L2 Sarcophagidae tiene mayor tamaño que Calliphoridae. Todos los estadios de Muscidae están agrupados porque esta familia solo tiene tres estadios, con medidas similares, a diferencia de las otras dos familias que tienen cinco estadios antes de llegar a pupa, y en comparación a las otras estas larvas son las más pequeñas.

Tabla 4. Tamaño de las pupas de Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae. Se reporta la media y la desviación estándar de cada medida.

Familias	N°	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Volumen de pupa (mm ³)
Calliphoridae	43	0.76±0.11	0.27±0.082	0.034±0.054
Muscidae	59	0.54±0.061	0.22±0.12	0.016±0.028
Sarcophagidae	39	1.130±0.15	0.42±0.090	0.027±0.050
Total general	141	0.77±0.26	0.29±0.13	0.024±0.044

Tabla 5. Se indica la media y la desviación estándar de todas las medidas.

	CC (mm)	T_EA (mm)	T_BEa (mm)	ZA_TDI (mm)	ZA_TDM (mm)	ZA_TDE (mm)	ZA_TVI (mm)
L1							
Calliphoridae	0.27±0.068						
Muscidae	0.055±0.063						
Sarcophagidae	0.19±0.087						
L2							
Calliphoridae	0.37±0.063	0.12±0.025	0.024±0.0051				
Muscidae	0.075±0.0070						
Sarcophagidae	0.64±0.35	0.92±0.20	0.36±0.20	1.18±0.26	1.18±0.26	1.18±0.26	1.18±0.26
L3							
Calliphoridae	2.18±0.24	1.26±0.25	0.045±0.0050	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
Muscidae	0.054±0.0054						
Sarcophagidae	3.38±0.49	1.38±0.49	0.51±0.031	0.58±0.56	0.58±0.56	0.58±0.56	0.58±0.56
L3ta							
Calliphoridae	2±0	1.5±0	0.05±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
Sarcophagidae	4±0	2±0	0.6±0	1.5±0	1.5±0	1.5±0	1.5±0
L3te							
Calliphoridae	2±0	1.5±0	0.05±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
Sarcophagidae	4±0	2±0	0.6±0	1.5±0	1.5±0	1.5±0	1.5±0
Total general	1.63±1.35	1.23±0.54	0.25±0.23	0.53 ± 0.61	0.53±0.61	0.53±0.61	0.53±0.61

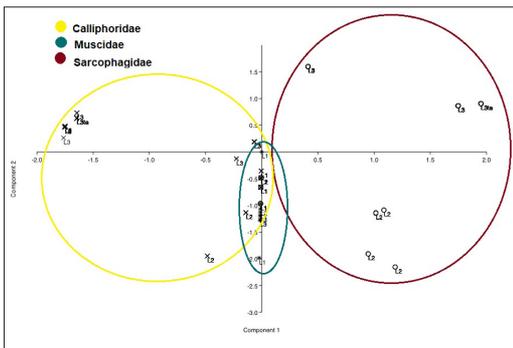


Figura 5. PCA de las variables morfométricas de las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae.

Las variables que más contribuyen a la diferenciación fueron CC: Cápsula cefálica (50.07%), T_EA: Espiráculo anterior (41.32%) y T_BEa: Branquias del espiráculo anterior (8.38%), estas variables se usaron para comparar estadios y familias. Existe una fuerte correlación entre las variables morfométricas CC, T_EA, T_BEa y ZA_TDI.

Se encontró una diferencia altamente significativa del tamaño de las larvas entre las familias y entre estadios ($F_{(2,4)} = 37.022$, $p < 0,001$, $N = 225$). Eso se

debe a que Calliphoridae es más grande que Muscidae en el primer estadio larval (Fig. 5). Durante el segundo instar larval las familias Calliphoridae y Sarcophagidae tienen un tamaño poco parecido, a diferencia de la familia Muscidae que difiere en tamaño debido a que es más pequeña (Tabla 5). En el tercer instar larval se observa que Sarcophagidae es de mayor tamaño a comparación de Calliphoridae y Muscidae, pero durante el tercer instar larval temprano y el tercer instar larval tardío Sarcophagidae tienen diferencia en tamaño con Calliphoridae, a diferencia con Muscidae que no cuenta con estos estadios (Tabla 5). Durante el estadio pupa podemos observar que Sarcophagidae cuenta con el mayor tamaño a diferencia de Muscidae que son las más pequeñas después de Calliphoridae (Tabla 4).

Tiempos de desarrollo

Se encontraron diferencias significativas en los tiempos de desarrollo larval entre estadios y entre las familias ($F_{(2,5)} = 4.14$, $p < 0,001$, $N = 340$). Esto se debe a que en el primer estadio larval Muscidae tiene menor tiempo de desarrollo en comparación a individuos de Calliphoridae y Sarcophagidae (Tabla 6, Fig. 6). En el segundo estadio larval Sarcophagidae muestra mayor tiempo de desarrollo que Calliphoridae

Tabla 6. Tiempo promedio y desviación estándar entre los estadios larvales de las familias registradas: Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae.

Familias	Estadios larvales				
	L1	L2	L3	L3ta	L3te
Calliphoridae	20.54±15.46	42.24±54.77	51.33±50.07	18.25±18.45	44.41±26.51
Muscidae	9.07±5.55	8.65±11.69	21.54±11.69		
Sarcophagidae	22.81±16.93	45.86±32.18	60.73±39.04	53.2±0	57.24±20.55
Total general	20.64±15.90	41.88±45.03	53.90±45.26	35.72±22.81	51.53±22.81

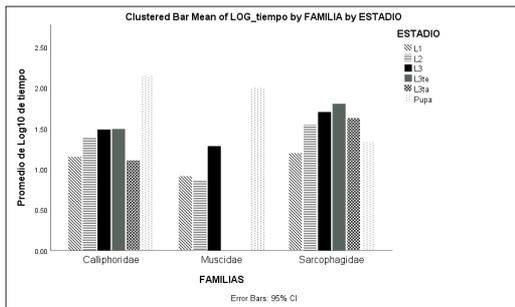


Figura 6. Diagrama de comparación del tiempo de desarrollo de los diferentes estadios larvales de las tres familias registradas: Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae.

y Muscidae tiene el menor tiempo de desarrollo (Tabla 6, Fig. 6).

Durante el tercer estadio larval Calliphoridae y Muscidae no son similares en el tiempo de desarrollo larval en comparación con Sarcophagidae que tiene un mayor tiempo de desarrollo larval (Tabla 6, Fig. 6). Este estadio, es el último para Muscidae antes de llegar a pupa.

En el tercer estadio larval temprano de Calliphoridae tiene el menor tiempo de desarrollo en comparación con Sarcophagidae (Tabla 6, Fig. 6). En el tercer estadio larval tardío Sarcophagidae exhibe el mayor tiempo de desarrollo a diferencia de Calliphoridae (Tabla 6, Fig. 6). En el estadio final de pupas, Calliphoridae tiene un mayor tiempo de desarrollo, seguido por Muscidae, y por Sarcophagidae que tiene un menor tiempo de desarrollo (Tabla 6, Fig. 6).

Discusión

Este es el primer estudio que brinda información sobre la morfometría, tiempo de desarrollo y la sucesión de entomofauna cadavérica en vísceras de pollo, el cual permite inventario rápido de insectos de relevancia forense. Además, es uno de los primeros estudios en la provincia del Guayas que ofrece información sobre el ciclo de vida de estas tres familias de dípteros: Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae.

Según Yusseff (2003) las moscas son consideradas como relojes biológicos bastante precisos, debido a que son las primeras en llegar a un cadáver. Además, su ciclo de vida permite determinar el IPM, si se considera el tiempo que tardan en pasar de un estado a otro, lo que las hace objeto de estudio en entomología forense. Durante el período de muestreo, la colonización de las vísceras de pollo por parte de la fauna sarcosaprófaga fue inmediata, inició desde el primer momento en el que cebo fue colocado en las trampas. Hall (1948) considera que las especies de dípteros más importantes en la comunidad sarcosaprófaga son los Calliphoridae. En ese estudio los primeros en colonizar fueron los Califóridos, seguido de Múscidos y Sarcófágidos. Esto se confirma también en el trabajo que realizado por Torres et al. (2006), donde concluyó que los Califóridos son los primeros en colonizar, debido a que perciben las sustancias químicas que emane el cadáver antes o después que haya iniciado su proceso de descomposición.

Además, es importante recalcar que durante este estudio la familia más frecuente fue Calliphoridae, este resultado concuerda con el obtenido por Amat et al. (2013); pero el resultado de esta investigación y la de Amat difieren con lo presentado por Camacho (2005), donde Muscidae resultó ser la familia más abundante. En relación con los estados de descomposición de las vísceras y la sucesión cadavérica, en esta investigación las larvas de Muscidae llegaron en el período enfisematoso que es el estado de descomposición más elevado obtenido en este trabajo. Estos resultados son similares a los obtenidos en el trabajo realizado por Ramírez (2012), donde esta familia llegó en el estado de putrefacción activa. Cabe recalcar que fue la familia menos frecuente, lo que es un resultado diferente al obtenido por Amat et al. (2013); en su investigación esta familia fue la segunda más frecuente.

La familia Sarcophagidae, en este trabajo, fue la segunda familia más abundante, estos resultados son diferentes a los obtenidos por Núñez y Liria (2014), quienes sugieren que esta familia es la más abundante. Por otro lado, Begoña (2015) concluyó que Sarcophagidae estaba presente en todos sus estados

de descomposición, resultado que concuerda con el presente trabajo.

López (2017) no solo en el establecimiento del intervalo postmortem (IPM) realizó una investigación en Micromorfología en larvas de Calliphoridae; durante su estudio concluyó que las medidas más características en su desarrollo son las medidas de la cápsula cefálica, los espiráculos anteriores, espiráculos posteriores y del esqueleto cefalofaríngeo. En este trabajo, las cuatro variables explican mayormente la diferencia entre familia y estadios y fueron: cápsula cefálica, espiráculos anteriores, espiráculos posteriores y los tubérculos dorsales interno. Tres de ellas reportadas en los estadios mencionados. Los tubérculos dorsales internos son importantes y se pueden considerar estructuras de identificación, ya que en algunas especies varía la cantidad y la longitud del mismo.

Trigo (2006) describió el segundo y tercer instar larval de una especie de Calliphoridae, donde sus medidas promedio fueron L2: 7.5-8.0 mm; y en L3: 8.0-12.0 mm, teniendo este estadio un mayor tamaño; estos datos son similares a los obtenidos en el presente trabajo, donde se observó que las medidas promedio de L3 son mayores (9.0-19.0 mm).

Para Muscidae, Pujol y Pujol (2001) realizó una descripción del último instar larval donde las medidas tenían un promedio de L3: 10.0-13.0 mm, estas medidas son diferentes a los obtenidos en la presente investigación, donde la medida máxima registrada fue de L3: 8.0 mm, esta diferencia puede deberse a la disímil composición de especies en los distintos ecosistemas en Brasil.

Respecto a tiempos de descomposición, Defilippo et al. (2016) realizó su trabajo en el Norte Italia y lo realizó en cinco cebos diferentes (perro, emú, cabra, oveja, y cerdo doméstico). El objetivo del trabajo fue determinar el tiempo de muerte partiendo de las larvas de Calliphoridae encontradas en el segundo instar larva; explica que el desarrollo larval está influenciado por variables ambientales como las temperaturas bajas, y alta humedad relativa, los cuales estimulan el crecimiento y acelera el tiempo de desarrollo para la salida del adulto (27 días). El autor comparó su trabajo con el de Lord y Pujol (2016), quien obtuvo larvas de similar tamaño en tiempos similares (31 días), con una temperatura promedio de 27.8°C. Estos trabajos difieren a los resultados aquí obtenidos, debido a que las larvas de Calliphoridae tuvieron tiempos menores de desarrollo. Desde el segundo instar larval hasta llegar a adulto, estas larvas tenían un tamaño más pequeño a los registrados por los autores con una temperatura promedio de 28°C, y con un menor tiempo de desarrollo de 14 días.

De la totalidad de los especímenes estudiados el 10% presentó un arrugado en la cutícula, posiblemente producido por la combinación de las técnicas empleadas para la preservación; sin embargo, fue posible el estudio correcto de la morfología de las larvas. Los especímenes fueron fijados siguiendo la metodología de Núñez y Liria (2014) y se visualizó

en su mayoría un buen estado de conservación que permitió realizar las medidas morfológicas, aunque algunos autores indicaron que la metodología de conservación elaborado por Szpila et al. (2015) The Author(s) es la más adecuada para la preservación de larvas, debido a que usa etanol y desecación al aire con tratamiento previo de HDMS; con el método aquí empleado todos los especímenes estaban en buen estado.

En resumen, los resultados de este trabajo proveen información relevante sobre la descripción morfología, tiempo de desarrollo de los estadios larvales y pupa de tres familias de dípteros de importancia forense de la provincia del Guayas. Esta información facilita el poder estimar el intervalo post-mortem en muestras obtenidas de cuerpos en descomposición. Lo importante de este trabajo es que, al ser pionero, deja las puertas abiertas para posteriores investigaciones, por lo tanto, es posible realizar una clave completa de todos los cambios morfológicos de los instar larvales de los insectos asociados a descomposición en la provincia del Guayas.

Conclusiones

Este trabajo es el primer estudio sobre el desarrollo larval de tres familias de Dípteros en la Provincia del Guayas.

El proceso de descomposición de vísceras de pollo presentó tres estados: fresco, cromático, y enfisematoso, dentro de las cuales las familias Calliphoridae, Sarcophagidae, y Muscidae estuvieron presentes, considerándose como indicadores de la sucesión cadavérica en los diferentes periodos de descomposición.

Se registró un total de 240 individuos de dípteros. La familia que presentó mayor dominio en el proceso de descomposición fue Calliphoridae con 121 larvas, seguido de Muscidae con 9 larvas y Sarcophagidae con 100 larvas.

Calliphoridae es la familia más abundante, fue la primera en colonizar el ceco; se registró su desarrollo larval completo hasta pupa siendo este el tiempo más largo de las tres familias registradas.

Sarcophagidae fue la segunda familia en colonizar el ceco; se registraron seis estadios larvales, siendo esta la que presentó el mayor tiempo de desarrollo larval. Sin embargo, las pupas tuvieron menor tiempo de desarrollo en comparación a Calliphoridae.

La morfometría de las larvas es relevante en estudios de entomología forense. Morfométricamente, Sarcophagidae es la larva de mayor tamaño, seguido por Calliphoridae y Muscidae.

Las moscas de Muscidae fueron las terceras larvas en colonizar el ceco; en medidas morfométricas estas son las más pequeñas de las tres familias y presentan

sólo cuatro estadios larvales que además son los más cortos.

Calliphoridae tiene casi el mismo tiempo de desarrollo larval que Sarcophagidae que tiene el mayor tiempo. Durante la etapa de pupa Calliphoridae necesita más tiempo para su desarrollo.

Recomendaciones

- Realizar la identificación a nivel de especie de los adultos obtenidos en el desarrollo larval, debido que en este trabajo solo se identificó hasta familia.
- Se puede realizar el mismo estudio en diferentes zonas del país en época seca y época lluviosa, para identificar y ver la variación de la composición de especies.
- Se debe estudiar a profundidad a la familia Sarcophagidae, debido a que no se cuenta con una clave completa de sus estadios larvales.
- Es necesario que para todas las especies de dípteros se estudie el esqueleto cefalofaríngeo, para la identificación de las mismas, porque su tamaño y estructuras varían entre los estadios larvales de los diferentes grupos taxonómicos.
- Se recomienda determinar el IPM de distintos biomodelos que no han sido utilizados, en esta investigación, teniendo en consideración las condiciones climáticas, tipo de vegetación, temperatura, humedad relativa dado que estos factores alteran el tiempo de desarrollo larval
- Se sugiere usar biomodelos que contengan algún tóxico en su cuerpo debido a que se considera importante el análisis toxicológico de las larvas obtenidas para determinar si el desarrollo larval tiene alguna alteración.

Bibliografía

Aguirre, Z., Kvist, L.P., y Sánchez T., O. 2006. Bosques secos en Ecuador y su diversidad. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 2006: 162-187.

Alvarez García, D. 2016. *Diversidad de Calliphoridae (Diptera: Calyptratae) y tabla de vida de Cochliomyia macellaria (Fabricius, 1755) en el área urbana del Municipio de Sincelejo* (Tesis de maestría). Universidad de Sucre, Sucre, Colombia.

Amat, E., Ramírez-Mora, M., Buenaventura, E. y Gómez-Piñerez, L. 2013. Variación temporal de la abundancia en familias de moscas carroñeras (Diptera, Calyptratae) en un valle andino antropizado de Colombia. *Acta Zoológica Mexicana*, 29: 463-472.

Arbeláez, J., y Narváez, A.E. 2019. Lista preliminar de dípteros de importancia forense en Guayaquil. *Ciencia*

Digital, 3(1.1): 108-117.

Arnaldos, M.I., García, M.D., y Pesa, J.J. 2011. *Sucesión faunística sarcosaprófaga* (Tesis de maestría). Universidad de Murcia, Murcia, España.

Begoña Gaminde, I. 2015. *Sucesión de la entomofauna cadavérica en un medio montañoso del Sureste de la Península Ibérica* (Tesis de doctorado). Universidad de Murcia, Murcia, España.

Camacho, G. 2005. Sucesión de la entomofauna cadavérica y ciclo vital de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) como primera especie colonizadora, utilizando cerdo blanco (*Sus scrofa*) en Bogotá. *Revista Colombiana de Entomología*, 31: 189-197.

Carvalho, C. 1997. *Las Familias de insectos de Costa Rica*. INBio, 36.

Defilippo, F., Rubini, S., Dottori, M., y Bonilauri, P. 2016. The use of forensic entomology in legal veterinary medicine: A case study in the north of Italy. *Journal of Forensic Science & Criminology*, 4: 4-8.

Florez, E., y Wolff, M. 2009. Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. *Neotropical Entomology*, 38: 418-429.

Greenberg, B., y Szyska, M.L. 1984. Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 77: 458-517.

Guamangallo, M., y Ibijes, W. 2012. *Tanatotronodiagnóstico en Quito y el Valle de Tumbaco de acuerdo a la fase evolutiva de la entomofauna en cerdos Sus scrofa en el periodo julio-agosto del 2011* (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

Hall, D. 1948. The blowflies of North America. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 477: 689-725.

Hau Camoretti, J. 2015. *Biología Forense* (Tesis de pregrado). Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.

Houck, M.M. 2006. Forensic Science: An Introduction to Scientific and Investigative Techniques. *Journal of Forensic Sciences*, 51: 205-205.

Lannacone, J. 2003. Artrópoda de importancia forense en un cerdo cadáver en el Callao, Perú. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20: 85-90.

Josse, C., Miguel, C., Iglesias, J., y Santiana, J. 2013. Sistema de clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental. *Ministerio de Ambiente del Ecuador 2012*.

López Esclapez, R. 2017. *Micromorfología comparada de estadios inmaduros de Calliphoridae (Insecta: Diptera) de interés forense* (Tesis de doctorado). Universidad de Murcia, Murcia, España.

Lord, W. y Pujol Luz, J. 2016. The black soldier fly Calliphoridae as a potential measure of human postmortem interval: observations and case histories. *Journal of Forensic Sciences*, 39: 215-222.

Mavárez-Cardozo, M., Espina de Ferreira, A., Barrios-Ferrer, F., y Ferreira-Paz, J. 2005. La Entomología Forense y el Neotrópico. *Entomology*, 11: 23-33.

Nikon. 2018. Microscopio estéreo tipo Greenough SMZ745/745T. *Nikon Instruments*, 12.

Núñez Rodríguez, J., y Liria Salazar, J. 2014. Sucesión de la entomofauna cadavérica a partir de un biomodelo con vísceras de res. *Salus*, 18: 35-39.

Peceros Peláez, F. 2011. *Sucesión entomológica asociada a procesos de descomposición de carcasas de cerdo (Sus scrofa L., 1758) en la provincia de Huarochirí* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Pujol Luz, J., y Pujol Luz, C. 2001. Descrição do Último Instar Larval e do Pupário de Calliphoridae. *Neotropical Entomology*, 30: 587-591.

Salazar, F., y Donoso, D. 2015. Catálogo de insectos con valor forense en el Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 36: 49-59.

- Schuster, J. 1989. Claves para identificar insectos inmaduros Holometabolos. *Manejo Integrado de Plagas*, 11: 61-74.
- Shewell, G. 1987. Manual of Nearctic Díptera. *Research Branch, Agriculture Canada*, 28, 1332.
- Szpila, K., Richet, R., y Pape, T. 2015. Third instar larvae of flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) of forensic importance—critical review of characters and key for European species. *Parasitology Research*, 114: 2279-2289.
- Torres, J., Zimman, S., Rinaldi, C., y Cohen, R. 2006. Entomología Forense. *Revista Del Hospital J. M. Ramos Mejía*, 11: 22.
- Trigo, V. 2006. Descripción de las larvas II, III y el pupario de *Compsomyiops fulvicrura* (Diptera: Calliphoridae). *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina*, 65: 87-99.
- Vockeroth, J. 1972. Un nuevo género Neártico de Mycetophilidae (Diptera) con una hembra estenoptera, *Entomology*, 104: 12-15.
- Yusseff Vanegas, S., y Daza Montoya, M. 2003. *Caracterización de la entomofauna asociada a la descomposición cadavérica empleando como biomodelo cerdo (Sus scrofa) en el municipio de tunja* (Tesis de pregrado). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Boyacá, Colombia.
- Zumbado, M.A. 2006. *Dípteros de Costa Rica y América Tropical*. Instituto Nacional de Biodiversidad. Santo Domingo, Costa Rica, 267 p.