



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

Comparación de la riqueza de dípteros necrófilos en dos localidades: Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”, Veracruz y El Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”, Puebla, por medio de códigos de barras genéticos.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA:

Jessica Misuritzi Sánchez Benítez



Director de Tesis:
Dr. Carlos Salvador Pedraza Lara

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi Catita y a mis Padres.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater, mi segunda casa, la Universidad Nacional Autónoma de México, quien me cobijo desde el bachillerato y abrió mi mundo e intensificó mis sueños, ayudándome a crecer profesional y personalmente.

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, a la Licenciatura en Ciencia Forense y a la Red Temática de Ciencias Forenses (CONACyT). Así como a los proyectos IA205020 (PAPIIT) y 257263 (CONACyT) por contribuir en mi formación profesional.

Al Dr. Carlos Pedraza Lara por acceder a ser mi asesor, por la supervisión en el trabajo, por sus enseñanzas y reflexiones que indudablemente ayudaron a que este proyecto saliera de la mejor manera.

Al comité sinodal: Dr. Alejandro Saldívar, Dr. Ricardo Munguía, Soto, Dr. Carlos Pedraza, M. en Geo. Mónica Chico y a la Dra. Fabiola, por su mentoría y asesoramiento durante el desarrollo del proyecto.

Al personal de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” y del “Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis” por coadyubar en el muestreo y facilitar el acceso a cada localidad.

A la Biol. Rosamond I. Coates, Jefa de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”, por facilitar el muestreo en la Estación, así como por proporcionar los datos climatológicos. A la Bio. Martha Madora Astudillo, a el Dr. Fernando Álvarez Padilla, a el Dr. Carlos Pedraza, a Gómez S., Espinosa M. y García L. por realizar el trampeo y muestreo. Así como a Laura Márquez del Instituto de Biología por su apoyo en la secuenciación de muestras.

A mis compañeros de laboratorio: Dr. Leonardo García por su apoyo e interés continuo en mi aprendizaje, también por sus consejos y recomendaciones personales que fueron de mucha ayuda; Mtro. en C. Eduardo Nuple, Mtra. en C. Esthephanya y Bio. Alonso Lira por su apoyo a nivel académico y personal, por las pláticas y experiencias que hacían más divertido el trabajo; Mtro. en C. Sharif, por enseñarme tanto con tan poco.

A todos y cada uno de los profesores que contribuyeron en mi formación con buenas clases, consejos asertivos y reflexiones excelentes. De lo malo y de lo bueno se aprende, gracias.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

En todo y por todo hay que estar agradecidos. Creo que sin el apoyo incondicional que me brindaron infinidad de personas, esta meta no hubiera podido cumplirse, por eso quisiera reconocerles. Primeramente, a Yahvéh-Sabaot que me permitió llegar hasta este momento, escribiendo una historia extraordinaria para mí. Sin el cual no hubiera logrado nada de lo que hasta ahora he concretado y cuyo amor trasciende lo natural pues siempre llegó en el momento preciso. No habría como agradecer tanta gracia hacia mí, אני רק תלוי בך.

A mis padres Laura Janet y Juan Carlos que me mostraron amor y apoyo incondicional. Por quienes estoy aquí y siempre di un poco más, porque son un ejemplo de superación y de que cuando se quiere, se puede. Sus enseñanzas las llevo en la mente y en el corazón ¡Los amo!

A mi mamá Cata, Catarina † por tanto cariño, paciencia, consejos, regalos y, sobre todo, por entenderme siempre. ¿Sin tu apoyo y reconocimiento continuo qué hubiera hecho? Tu ejemplo marco mi vida y estoy segura de que seguirá ayudándome por el resto de mis días, hasta que nos volvamos a ver ¡Gracias hasta el cielo! ¡Te amo!

A mi hermano Carlos, por enseñarme que las cosas no siempre vienen en la misma presentación y que los milagros suceden. A mi abuelito Chavo por sus enseñanzas.

A mi familia que estuvo al pendiente de mi progreso, que de una u otra forma contribuyeron en mi formación.

A mis amigos y colegas: Nancy, Javier, Arturo y Tomás por sus consejos y apoyo a lo largo de la carrera, por ser cómplices de muchas experiencias divertidas.

A mis amigos de toda la vida: Karen, Abigail, Laura, Atzin y todos quienes han sido testigos de mi progreso, que me han alentado a seguir adelante y me han mostrado su amistad incondicional. LTKM.

A la vida, al presente, porque no es por suerte que las cosas sucedan, hay que trabajar duro por ellas, dándolo todo hasta conseguirlas, siempre haciendo las cosas bien en todos los aspectos.

CONTENIDO

1. Introducción.....	6
1.1.1. Biodiversidad y su estudio.....	6
1.1.2. Estudio de la biodiversidad y riqueza específica.....	7
1.1.3. Factores que determinan la riqueza de insectos.....	8
1.1.4. Requerimientos ecológicos de los insectos.....	13
1.1.5. Riqueza específica de insectos a nivel mundial y en México.....	15
1.2. Función de los dípteros necrófilos en el ecosistema.....	15
1.2.1 Definición.....	15
1.2.2. Hábitos alimenticios de los dípteros necrófilos.....	16
1.3. Morfología, taxonomía y clasificación de los dípteros necrófilos.....	17
1.3.1. Familias de dípteros con representantes necrófilos que intervienen en el proceso de la descomposición.....	17
1.3.2. Familias y especies de dípteros necrófilos reportadas en México.....	18
1.3.3. Importancia de los dípteros necrófilos en ciencias forenses y médicas.....	21
1.4. Identificación de especies de dípteros necrófilos.....	22
1.4.1. Uso de código de barras genético en la identificación de especies.....	23
1.4.2. Importancia de los dípteros necrófilos en ciencias forenses y médicas.....	23
1.4.3. Métodos de delimitación de especies.....	24
2. Antecedentes.....	27
3. Planteamiento del problema.....	31
4. Justificación.....	31
5. Hipótesis.....	33
6. Objetivos.....	33
7. Material y métodos.....	34
8. Resultados.....	44
9. Discusión.....	78
10. Conclusiones.....	101
11. Comentarios finales.....	102
12. Literatura citada.....	103
13. Anexos.....	113

1. INTRODUCCIÓN

1.1.1. BIODIVERSIDAD Y SU ESTUDIO.

La biodiversidad se encuentra comprendida en tres principales niveles de complejidad: taxonómica, genética y ecológica (Morrone *et al.*, 1999; ONU, 2020). La biodiversidad se basa en la variabilidad de genes, especies y ecosistemas, así como en los servicios que proveen a los ecosistemas (Halffter *et al.*, 2005); los cuales hacen que represente papeles esenciales en diferentes sectores productivos, por lo que es de vital importancia comprender y conocerla, pues altos niveles de diversidad indican un buen desarrollo en los ecosistemas (Magurran, 1988; Bovarnik *et al.*, 2010).

La biodiversidad puede ser comprendida según la siguiente clasificación: diversidad alfa, beta y gamma (Halffter *et al.*, 2005). Según Whittaker (1972, 1977), la diversidad alfa se refiere al número de especies a escala local (diversidad dentro del hábitat). La diversidad beta es la diversidad entre hábitats, o bien, es el grado de cambio biótico a través de gradientes ambientales o entre diferentes comunidades en un paisaje. La diversidad gamma es el número de especies del conjunto de comunidades que integran un paisaje (Halffter *et al.*, 2005).

Para fines de la presente investigación es importante explicar más la diversidad alfa y beta. La diversidad alfa se basa en el número de especies presentes en un lugar, evitando asociarla con una extensión territorial fija y puede expresarse, según Halffter *et al.*, (2005) como:

- a. **Diversidad alfa puntual:** el número de especies que tiene una comunidad en un punto determinado.
- b. **Diversidad alfa promedio:** un promedio de valores puntuales correspondientes a diferentes lugares dentro de un paisaje ocupado por una misma comunidad.
- c. **Diversidad alfa acumulada:** el número de especies que se colecta en un punto determinado en un cierto lapso.

El estudio de la diversidad alfa se asocia con factores ambientales locales y en particular con la competencia interespecífica; mientras que la diversidad beta está ligada con factores tales como la distancia entre los muestreos y la heterogeneidad ambiental (Koleff *et al.*, 2003; Halffter, 2005) La diversidad beta mide el recambio entre las especies de dos paisajes, éste recambio ocurre en el espacio cuando las mediciones se hacen en sitios distintos, o en el tiempo, cuando las mediciones se realizan en el mismo lugar, pero en tiempos distintos (Koleff *et al.*, 2003). Para análisis comparados, la diversidad beta es una medida de la heterogeneidad del paisaje para los grupos indicadores considerados (Halffter, 2005). Esta heterogeneidad, además de los factores históricos, contribuyen en gran medida a aumentar el recambio de especies, incrementando la diversidad del paisaje. En México se puede observar esta situación, ya que, gracias a su heterogeneidad orográfica, clima y el hecho histórico de que en el territorio mexicano se sobreponen dos regiones biogeográficas da un altísimo recambio y una altísima diversidad beta (Rodríguez *et al.*, 2003). Según Halffter (2005), la diversidad beta tiene una vertiente:

- **Diversidad beta temporal:** mide el recambio de especies en un lugar en un lapso, comparando los valores de alfa puntual separados justamente por ese lapso.

1.1.2. Estudio de la biodiversidad y riqueza específica.

Los tipos de medición de la biodiversidad son de gran relevancia debido a que definen la escala de análisis. La cual es importante definir en la estimación de la biodiversidad, pues con ella varían los procesos que la modifican, ya que a escala local o de comunidad la mayor influencia la ejercen los procesos ecológicos, tales como la estructura del nicho, las interacciones biológicas y las variables ambientales. En cambio, a escala regional los aspectos evolutivos y biogeográficos como la dispersión, la extinción y la especiación son los más importantes (Halffter *et al.*, 2001).

La riqueza específica es un indicador biológico que sirve para medir la biodiversidad. Se define como el número de especies presentes en una comunidad y toma en cuenta el tamaño de la muestra (Walter & Moran, 1998; Halffter *et al.*, 2005). La riqueza específica está conformada por la estructura y composición de organismos (Pujol, 2007) esta última se refiere a la identidad y variedad de genes, especies, poblaciones y comunidades. Por otro lado, la estructura es la manera en que están organizados los componentes genéticos y demográficos de las poblaciones (Halffter *et al.*, 2001). Este indicador está determinado por diferentes factores bióticos y abióticos, como los factores climáticos, biogeográficos y antropogénicos; los cuales limitan la presencia o ausencia de los individuos dentro de un ecosistema (De Jesús-Bonilla *et. al*, 2018).

1.1.3. Factores que determinan la riqueza de insectos.

Asociado a la riqueza específica, los factores determinantes son aquellos componentes naturales o antrópicos que causan directa o indirectamente un cambio en la biodiversidad (Uribe, 2015). Estos factores son utilizados en estudios ecológicos para estimar la biodiversidad de un número de especies en un área determinada, que puede o no ser representativa del ecosistema al cual pertenece (Pujol, 2007). Los factores determinantes se pueden clasificar en dos tipos:

- a. Factores determinantes directos:** Son aquellos que influyen de forma explícita y hacen referencia a los factores demográficos como la tasa de crecimiento y la densidad poblacional, así como a los aspectos económicos como la subvaloración económica y social de los ecosistemas (Challenger *et al.*, 2009).
- b. Factores determinantes indirectos:** También conocidos como factores próximos, son aquellos que influyen por medio de otros procesos (Uribe, 2015) y hacen referencia al cambio de cobertura, extracción y consumo de organismos, el movimiento de especies, así como el cambio climático generado antropogénicamente. Este tipo de factores operaran de manera

difusa, afectando a uno o varios determinantes (Challenger *et al.*, 2009; Uribe, 2015).

En el caso de la diversidad alfa a nivel local se pueden considerar los siguientes factores:

- Topográficos:

La topografía de un terreno modifica algunos atributos de los microclimas, generados por los gradientes de luz y de temperatura (Méndez, 2015). Posiblemente la diferencia térmica generada por este gradiente sea un factor determinante directo para los insectos, sin que haya diferencias significativas en la geometría del paisaje.

La heterogeneidad del medio físico del territorio mexicano permite el desarrollo de una alta riqueza específica. Se sabe que la riqueza específica tiende a incrementar hacia el sur del territorio, teniendo valores máximos de riqueza en donde convergen la Sierra Madre del Sur, el Eje Neovolcánico, la Sierra Madre Oriental, la Sierra del Norte de Oaxaca y el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Espinosa *et al.*, 2008).

- Altitudinales:

La altitud puede ser un factor clave que influye sobre la abundancia y diversidad de la fauna de artrópodos, en particular de los insectos. Según la regla de Rapoport (1975): la diversidad de organismos decrece con el aumento de la latitud desde el ecuador hacia los polos, pero esta regla general tiene muchas excepciones, en relación con extensos sectores del área intertropical que tienen condiciones desérticas (Ruggiero, 1999). En términos generales, la riqueza específica es mayor en la selva tropical lluviosa que en los desiertos, sin embargo, en el desierto de Sonora, puede encontrarse mayor cantidad de especies que la que puede registrarse en muchos bosques templados (Colinvaux, 1980). Las diferencias altitudinales permiten una gran diversidad de climas que favorecen la diversificación de grupos de especies adaptables a los diferentes ambientes. Los climas y las modificaciones orográficas determinadas por rasgos geomorfológicos, edáficos y de

cobertura vegetal dan origen a una gama de microclimas que se convierten en hábitats colonizados por especies que se adaptan a ellos y conforman sus nichos específicos (Chaverri-Polini, 1997).

- Edáficos:

Los factores edáficos toman en cuenta la productividad del suelo y del tipo de sustrato, con presencia de sustancias capaces de influir en la vegetación. Uno de los factores más importantes es la deforestación y pérdida de pastizales (con su biodiversidad asociada) en las regiones áridas y semiáridas de América Latina producidas por el sobrepastoreo de ganado doméstico (Global, 2005). En el caso de las selvas medianas hay un porcentaje de 34.6- 54.6% y en matorrales de 3.8- 0.2% de sobrepastoreo (Semarnat, 2012). Una de las consecuencias del cambio de uso de suelo es la pérdida de riqueza específica (Guzmán-Mendoza *et al.*, 2016); esto se debe principalmente al aumento de la población humana que genera un incremento en la demanda de recursos y que para satisfacerla es necesario que las superficies ocupadas por las comunidades naturales sean sustituidas por terrenos dedicados al cultivo, a la ganadería o a cualquier otra actividad productiva (Semarnat, 2012).

- Hidrológicos:

La presencia habitual de agua en una región en la que ésta escasea (por ejemplo, en un humedal o en un corredor fluvial) es un factor limitante para determinar la biodiversidad, pues puede alterar el ciclo biológico de los organismos (Global, 2005), caso contrario a los sistemas desérticos, así como en zonas semiáridas y áridas en donde es más notorio. Una consecuencia en la variación de los factores hidrológicos, es la alteración en la dinámica de las poblaciones cuyos ciclos de vida dependen del buen funcionamiento de los cuerpos de agua (Uribe, 2015). Así mismo, la cercanía de un cuerpo de agua a una localidad tiene influencia en la disponibilidad de los recursos y en la riqueza específica que estén presentes

pues en sitios con déficit hídrico, como lo es el Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”, la orientación de ladera tiene un gran efecto en las condiciones ambientales, por tanto, este factor es determinante en el desarrollo y la estructura de las comunidades vegetales (López-Gómez *et al.*, 2012).

- Climáticos:

Las condiciones climáticas afectan en cierto grado a las poblaciones de insectos, en específico, la temperatura puede ser considerada un factor modulador de sus poblaciones ya que podría afectar su desarrollo, fisiología y comportamiento durante las fases de crecimiento, reproducción y migración (Uribe, 2015). Sin embargo, individuos de la misma especie pueden ser encontrados en ambientes con temperaturas muy diferentes, debido a que los insectos, por sus particulares características fisiológicas y fenológicas, están adaptados a nichos ecológicos estrechos, por ejemplo, en aquellos que son endémicos (IPCC, 2002). Algunas consecuencias del cambio en este factor afectarían principalmente las interacciones entre las especies, los ciclos de nutrientes y el funcionamiento, estructura y distribución de los ecosistemas. Como uno de los principales impactos derivado del cambio climático sería la afectación de la ecología de los bosques tropicales y en la distribución, tamaño, estructura y abundancia de las poblaciones de algunas especies (IPCC, 2007).

Es importante tomar en cuenta que el clima de una región determina la estructura y composición de la vegetación presente (Martín Vega, 2011). Además, el patrón de distribución que adquiere la vegetación se ve determinada por el clima sobre un relieve geológico determinado (Espinosa *et al.*, 2008).

- Vegetación:

En el caso de los insectos, sin duda alguna la diversidad de vegetación ejerce una marcada influencia sobre la dinámica y estructura de sus poblaciones, pues las modificaciones en el hábitat y las prácticas de manejo que alteren la comunidad de

plantas pueden tener un gran impacto en los procesos ecológicos que en ellos ocurren (Matienzo *et al.*, 2011). Rzedowski (1991) llevó a cabo una estimación de especies, encontrando que la vegetación del medio árido (matorrales xerófilos y pastizales) y subhúmedo (bosques tropicales caducifolios, subcaducifolios y espinosos) contribuyen mayoritariamente a la riqueza específica total del país (Espinosa *et al.*, 2008). Se sabe que la relación existente entre los insectos y la vegetación promueve infinidad de procesos en los que destaca la diversidad de insectos ya que la riqueza de especies de plantas y la composición de las comunidades de la vegetación afecta a dicha diversidad (Zou Yi *et al.*, 2011).

- Biogeográficos:

Los patrones geográficos de las especies están definidos por su distribución, la cual se ve influenciada por barreras geográficas y fisiológicas (Morrone, 2000) y está determinada por la adaptación al medio y la historia evolutiva de cada especie (Espinosa *et al.*, 2008). Tanto los patrones de distribución de los taxones como los factores que influyen en esta son analizados por la biogeografía (Llorente-Bousquets *et al.*, 2004). Para entender estos patrones de distribución se deben conocer las diferentes regiones biogeográficas las cuales fueron determinadas según la flora y fauna característica que no sufrió deriva y son: Paleártica (Europa y Asia), Neártica (Norteamérica), Neotropical (México, Centro y Sudamérica), Etiópica (África), India (Sureste de Asia, Filipinas, Indonesia) y Australiana (Australia y Nueva Guinea); Recientemente se reconoció Oceanía (Polinesia, Fiji y Micronesia) y Antártica. México se encuentra en el límite entre dos regiones biogeográficas, la neártica y la neotropical, lo que contribuye a su gran riqueza natural pues constituye una zona de transición generando áreas de interacción biótica intensa. Un ejemplo de ello es la riqueza que alberga de insectos pues se sabe que el patrón geográfico de heterogeneidad ambiental determina parcialmente los patrones geográficos de riqueza específica (Espinosa *et al.*, 2008).

- Antropogénicos:

La presencia antropogénica en un ecosistema influye de manera directa e indirecta en la biodiversidad, la estructura y composición del hábitat (García, 2016). Ya que, al alterar la fisonomía del ecosistema, los organismos responden modificando su comportamiento, abandonando el lugar alterado para buscar sitios que sean más estables, como sitios aledaños que presenten poca o nula alteración (Jiménez, 2005). Este componente se subdivide en factores de raíz y factores indirectos, anteriormente descritos. Entre los factores indirectos que inciden sobre la biodiversidad están los cambios en las poblaciones humanas como los cambios en la actividad económica, demográficos, socio-políticos, culturales y religiosos; el cambio científico y tecnológico (Challenger *et al.*, 2009; Uribe, 2015), así como las variables socio-ambientales son determinantes en la distribución potencial de algunos insectos que están asociados a poblaciones humanas (Chico-Avelino, 2019). Cabe mencionar que las poblaciones humanas coexisten y establecen una gran variedad de interacciones bióticas, como la competencia, el parasitismo, la salud, la alimentación, la religión, el folklore, entre otras (Guzmán-Mendoza *et al.*, 2016). El desarrollo urbano tiene efectos irreversibles implicando la alteración y la desaparición del hábitat, cambios geográficos y biológicos en la región, tales como el crecimiento poblacional y actividades industriales. Por estos motivos, los estudios ecológicos sobre dípteros se han enfocado tradicionalmente en grupos de especies relacionados con establecimientos urbanos y agrícola-ganaderos (Remedios *et al.*, 2012).

1.1.4. Requerimientos ecológicos de los insectos.

Los requerimientos ecológicos son comprendidos según la distribución potencial de los insectos y para determinarlos es necesario conocer el nicho ecológico en el que se desarrollan. Según Hutchinson (1957), el nicho ecológico es “el hipervolumen, n dimensional de variables ambientales y valores límite dentro de los cuales puede existir indefinidamente” (Castillo, 2018). Esta definición ayuda a comprender los patrones de la biodiversidad en respuesta a los cambios

ambientales que la biota puede enfrentar en el futuro, además de ser útil para estudiar a los insectos a nivel local, ya que son especialistas en ocupar diferentes nichos, esto pasa en particular por su hábito trófico y comportamiento (Eliosa *et al.*, 2010). En el caso de los dípteros, algunas de sus especies presentan una fuerte asociación de nicho con la comunidad humana, lo que comúnmente se conoce como sinantropía, esto ha generado que muchas especies acompañen a la población humana en su trayectoria evolutiva, migraciones y dispersiones, obteniendo una distribución cosmopolita como resultado (Martín Vega, 2011). Cabe mencionar que las localidades urbanas aledañas a Los Tuxtlas, Veracruz y al Jardín Botánico, Puebla influyen en la presencia de especies sinantrópicas como lo son los dípteros. En las selvas el comportamiento de las especies de insectos está determinado por diferentes factores ambientales que se mantienen como criterios básicos para agrupar a las especies y entender los requerimientos ecológicos y desarrollo de este tipo de ecosistemas. Mientras que, en el matorral xerófilo, la estacionalidad es uno de los factores condicionantes, cuyas diferencias determinan la coexistencia de las especies, pues la presencia, duración e intensidad de las precipitaciones se vuelve un recurso limitante. Así mismo, la competencia por recursos como el alimento, entre dos o más especies se modifica con la variación estacional, pues cambia la disponibilidad de éstos, creando una separación temporal para las especies y con ello evitar la competencia por interferencia (Santibáñez *et al.*, 2009).

El conocimiento de cómo tales variables ambientales y valores límite determinan la distribución y riqueza específica de todos los organismos es fundamental para el conocimiento de la biodiversidad (De Jesús-Bonilla *et al.*, 2018), así como tener una aproximación en la explicación de los patrones de biodiversidad de la región en su totalidad (Whittaker *et al.*, 2001). En el país se conoce muy poco la diversidad de muchos grupos biológicos, en el caso particular de los insectos necrófilos y coprófilos no existen estudios sobre la composición de comunidades de estos organismos en diferentes ecosistemas (Loera-Padilla *et al.*, 2015).

1.1.5. Riqueza específica de insectos a nivel mundial y en el Neotrópico.

En la actualidad se conocen aproximadamente 1,700,000 especies diferentes, de las cuales los insectos constituyen la fauna de mayor riqueza, con aproximadamente el 80% de representantes conocidos (De Jesús-Bonilla *et al.*, 2018; Téllez, 2018). La clase Insecta es uno de los grupos taxonómicos más diversos y menos estudiados a nivel mundial. Dentro de esta clase, los dípteros ocupan el cuarto lugar en diversidad con 1, 302, 809 especies descritas, que equivalen al 3.3% de la riqueza total de especies en el mundo (Jiménez, 2005; Rodríguez-Olivares *et al.*, 2015; Ávalos-Hernández *et al.*, 2016). Para las diferentes regiones biogeográficas se estima que están descritas más de 150,000 especies de moscas, clasificadas en 140 familias; de manera que, para la región Neotropical se calcula que existen cerca de 31,000 especies distribuidas en 112 familias, cifras sólo superadas por la región Paleártica (Ibáñez-Bernal *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009).

1.2. FUNCIÓN DE LOS DÍPTEROS NECRÓFILOS EN EL ECOSISTEMA

1.2.1. Definición.

Los insectos necrófilos son aquellos que se alimentan de los insectos necrófagos y se sienten atraídos por materia orgánica en descomposición. Dentro de la clasificación de los artrópodos que hacen un aprovechamiento directo o indirecto de **la materia en descomposición cadavérica** existen cinco categorías ecológicas según Rodríguez-Olivares *et al.*, 2015; Pedraza-Lara y Vergara, 2017:

- I) Necrófagos: especies que se alimentan del tejido muerto.
- II) Depredadores y parásitos: organismos que se alimentan de otros insectos o artrópodos necrófagos.
- III) Omnívoros: como las avispas, hormigas y algunos escarabajos que se alimentan tanto del cadáver como de sus colonizadores.
- IV) Saprófagos: se alimentan directamente del cadáver, pero cuando éste ha sido procesado por bacterias y hongos.

- V) Ocasionales: son específicas del hábitat de la escena del crimen y utilizan el cuerpo como una extensión de este.

1.2.2. Hábitos alimenticios de los dípteros necrófilos.

Los dípteros forman parte de los grupos predominantes dentro de las comunidades de insectos carroñeros y cumplen un rol importante en el proceso de descomposición, dicho proceso es fundamental en el funcionamiento de un ecosistema (Martín Vega, 2011; Remedios *et al.*, 2012). Además, los dípteros necrófilos han desarrollado varios hábitos alimenticios: hematófagos, fitófagos, endoparásitos o ectoparásitos de vertebrados, depredadores de otros insectos y parasitoides. Sin embargo, también se pueden alimentar de polen y néctar, de materia orgánica en descomposición (cadáveres, excremento de animales o de madera) (Martín Vega, 2011; Ávalos-Hernández *et al.*, 2016). Se sabe que los dípteros explotan rápidamente los recursos pues se han encontrado especies coprófagas, necrófagas, predadoras y también omnívoras. Los excrementos y cadáveres son utilizados por las especies coprófagas y necrófagas como fuente de proteínas para la maduración de sus huevos, como sustrato para oviponer y/o como alimento para el desarrollo de las larvas (Martínez Sánchez *et al.*, 2000).

La acción de los dípteros detritívoros es de vital importancia en el reciclado de los nutrientes y la energía contenidos los recursos, preparando el sustrato para la intervención de los verdaderos descomponedores finales que son los hongos y bacterias (Remedios *et al.*, 2012). En el caso de las especies depredadoras y parásitas regulan las poblaciones de insectos fitófagos potencialmente dañinos de cultivos (Altieri *et al.*, 2009).

1.3. MORFOLOGÍA, TAXONOMÍA Y CLASIFICACIÓN DE LOS DíPTEROS NECRÓFILOS

Los dípteros presentan metamorfosis completa y durante su ciclo de vida atraviesan por los estados de huevo, larva, pupa y adulto (Ávalos-Hernández *et al.*, 2016). Los organismos pertenecientes al orden Diptera se caracterizan por tener el primer par de alas bien desarrollado y el segundo par de alas se encuentra muy reducido en forma de palanca. Este tipo de alas son denominadas halterios (también conocidos como balancines) y les permiten mantener el equilibrio durante el vuelo (Johnson & Triplehorn, 2005; Téllez, 2018). Las moscas con antenas cortas, generalmente con tres segmentos, pertenecen al suborden Brachycera que se divide en cuatro infraordenes, Xylophagomorpha, Stratiomyomorpha, Tabanomorpha y Muscomorpha, ésta última incluye a las moscas comunes pertenecientes a la familia Muscidae y a las moscas “panteoneras” de las familias Calliphoridae, Sarcophagidae entre otras (Johnson & Triplehorn, 2005; Carles-Tolrá, 2015).

Las piezas bucales en los dípteros varían según la dieta, ya que están adaptadas en la formación de relieves, perforación y succión de la materia orgánica (Johnson & Triplehorn, 2005). En términos de morfología y fisiología estos insectos poseen adaptaciones específicas que les permiten detectar los compuestos químicos producidos por un cadáver a kilómetros de distancia. Por último, tienen alta capacidad de movilidad y un tamaño pequeño lo que facilita el acceso a casi cualquier lugar, logrando ser los primeros grupos de artrópodos en arribar a un cadáver (Téllez, 2018).

1.3.1. Familias de dípteros con representantes necrófilos que intervienen en el proceso de la descomposición.

Las especies pertenecientes a las familias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae y Stratiomyidae son importantes ya que intervienen en la degradación de desechos orgánicos y son de las familias más comunes de encontrar en estudios de fauna necrófila (Remedios, 2010; Ávalos-Hernández *et al.*, 2016). Además,

especies de otras familias como Phoridae, Piophilidae, Fanniidae y Sphaeroceridae también intervienen en procesos de descomposición. Las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae se han adaptado a vivir en zonas urbanas, es decir, presentan especies con marcada sinantropía y amplia distribución (Martín-Vega, 2011; Carles-Torlá *et al.*, 2015).

El conocimiento taxonómico de las familias de dípteros es escaso, debido a que la mayoría de los estudios de fauna necrófila se enfoca en su efecto sanitario y no en la correcta identificación y descripción de las especies. Sin embargo, como resultado de los estudios taxonómicos, su clasificación formal es bastante controversial, por ejemplo dentro del suborden Brachycera se han identificado claramente algunos taxones monofiléticos, pero quedan muchas dudas acerca de sus relaciones filogenéticas y su clasificación (Johnson & Triplehorn, 2005).

1.3.2. Familias y especies de dípteros necrófilos reportadas en México.

En México se han reportado 94 familias de dípteros (tabla 1), 54 de ellas pertenecen al suborden Brachycera (Ibáñez-Bernal *et al.*, 2017) dentro de las cuales destacan como dípteros necrófilos: Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae como pioneros, seguidos de Syrphidae (Arcos, 2014). Dentro de las familias registradas para la CDMX más importantes en cuanto a su riqueza, son: Tachinidae, Tephritidae, Bombyliidae, Limoniidae, Simuliidae, Asilidae y Sarcophagidae, que en conjunto son aproximadamente 75% de las especies reportadas (Ávalos-Hernández *et al.*, 2016). Sin embargo, se sabe que no todas las especies van a presentar hábitos necrófilos.

Tabla 1. Número de géneros y especies válidos, sinónimos y totales por familia de Diptera en México, según la clasificación de McAlpine *et al.* (1981) y Woodley *et al.*, (2009). Tomado y modificado de Ibáñez-Bernal, (2017).

superfamilia	familia	Stat Fam	Gen Tot	Gen Val	Gen Sin	Spp Tot	Spp Val	Spp Sin
Asiloidea	Apioceratidae	sinón						
Asiloidea	Apioceridae	válido	8	1	7	22	22	
Asiloidea	Apomeridae	sinón						
Asiloidea	Asilidae	válido	140	96	44	580	481	99
Asiloidea	Mydidae	válido	13	10	3	72	61	11
Asiloidea	Mythicomyiidae	válido	8	3	5	48	39	9
Asiloidea	Pomacreritae	sinón						
Asiloidea	Scenopinidae	válido	18	6	12	24	24	
Asiloidea	Therevidae	válido	34	22	12	63	58	5
Asiloidea	Vermileonidae	válido	3	1	2	2	2	
Bombylioidea	Acroceridae	válido	18	11	7	28	19	9
Bombylioidea	Bombyliidae	válido	111	49	62	521	399	122
Bombylioidea	Cyrtidae	sinón						
Bombylioidea	Nemestrinidae	válido	3	2	1	12	6	6
Empidoidea	Dolichopodidae	válido	77	47	30	237	228	9
Empidoidea	Empididae	válido	18	7	11	23	23	
Empidoidea	Hybotidae	válido	18	10	8	37	37	
Carnoidea	Braulidae	válido	5	1	4	4	1	3
Carnoidea	Canacidae	válido	4	2	2	8	8	
Carnoidea	Carnidae	válido	8	3	5	6	4	2
Carnoidea	Chloropidae	válido	44	31	13	104	80	24
Carnoidea	Entomibiti	sinón						
Carnoidea	Milichiidae	válido	16	9	7	22	21	1
Carnoidea	Tethinidae	válido	4	3	1	5	4	1
Conopoidea	Conopidae	válido	13	8	5	135	65	70
Diopsoidea	Psilidae	válido	3	3		8	6	2
Diopsoidea	Syringogastridae	válido	1	1		2	2	
Diopsoidea	Tanypezidae	válido	1	1		4	2	2
Ephydroidea	Camillidae	válido	5	1	4	1	1	
Ephydroidea	Drosophilidae	válido	20	18	2	205	183	22
Ephydroidea	Ephydriidae	válido	51	40	11	148	123	25
Hippoboscoidea	Hippoboscidae	válido	19	11	8	81	25	56
Hippoboscoidea	Nycteribiidae	válido	3	1	2	10	8	2
Hippoboscoidea	Streblidae	válido	18	12	6	51	40	11
Lauxanioidea	Chamaemyiidae	válido	6	4	2	6	6	
Lauxanioidea	Lauxaniidae	válido	18	18		28	28	
Lauxanioidea	Paraleucopidae	válido	1	1		1	1	

Muscoidea	Anthomyiidae	válido	80	16	64	139	85	54
Muscoidea	Fanniidae	válido	5	1	4	27	18	9
Muscoidea	Muscidae	válido	84	42	42	243	141	102
Muscoidea	Scathophagidae	válido	14	2	12	28	5	23
Nerioidea	Micropezidae	válido	18	10	8	54	39	15
Nerioidea	Neriidae	válido	5	3	2	14	7	7
Nerioidea	Pseudopomyzidae	válido	1	1		1	1	
Oestroidea	Calliphoridae	válido	23	11	12	173	36	137
Oestroidea	Oestridae	válido	20	6	14	36	21	15
Oestroidea	Rhinophoridae	válido	3	1	2	4	4	
Oestroidea	Sarcophagidae	válido	190	38	152	369	210	159
Oestroidea	Tachinidae	válido	488	263	225	912	886	26
Opomyzoidea	Agromyzidae	válido	13	10	3	48	39	9
Opomyzoidea	Anthomysidae	sinón						
Opomyzoidea	Anthomyzidae	válido	2	2		2	2	
Opomyzoidea	Aulacigastridae	válido	4	1	3	2	2	
Opomyzoidea	Clusiidae	válido	25	6	19	18	18	
Opomyzoidea	Odiniidae	válido	2	2		2	2	
Opomyzoidea	Periscelididae	válido	7	4	3	5	5	
Platypezoidea	Lonchopteridae	válido	1	1				
Platypezoidea	Phoridae	válido	26	21	5	49	49	
Platypezoidea	Platypezidae	válido	5	5		7	7	
Sciomyzoidea	Coelopidae	válido	2	2		2	2	
Sciomyzoidea	Dryomyzidae	válido	1	1		1	1	
Sciomyzoidea	Huttoninidae	sinón						
Sciomyzoidea	Phaeomyiidae	sinón						
Sciomyzoidea	Ropalomeridae	válido	7	5	2	10	7	3
Sciomyzoidea	Sciomyzidae	válido	19	14	5	34	33	1
Sciomyzoidea	Sepsidae	válido	22	6	16	76	19	57
Sciomyzoidea	Tetanoceridae	sinón						
Sphaeroceroidea	Chyromyidae	válido	1	1		1	1	
Sphaeroceroidea	Heleomyzidae	válido	5	5		10	10	
Sphaeroceroidea	Sphaeroceridae	válido	23	22	1	60	59	1
Syrphoidea	Dorylaidae	sinón						
Syrphoidea	Pipunculidae	válido	8	6	2	35	33	2
Syrphoidea	Syrphidae	válido	124	58	66	496	325	171
Tephritoidea	Lonchaeidae	válido	17	3	14	22	21	1
Tephritoidea	Piophilidae	válido	2	2		8	3	5
Tephritoidea	Platystomatidae	válido	6	3	3	20	17	3
Tephritoidea	Pyrgotidae	válido	5	5		5	5	
Tephritoidea	Richardiidae	válido	22	5	17	18	11	7
Tephritoidea	Tephritidae	válido	74	52	22	265	230	35

	Coenomyidae	sinón						
	Coenomyiidae	sinón						
	Exeretoneuridae	sinón						
	Heterostomidae	sinón						
	Pachystomydae	sinón						
	Rachiceridae	sinón						
	Sicaridae	sinón						
	Sicoidae	sinón						
	Xylophagidae	válido	14	2	12	3	3	

Stat Fam: estado de la familia, **Gen Tot:** géneros totales, **Gen Val:** géneros válidos, **Gen Sin:** géneros sinónimos, **Spp Tot:** especies totales, **Spp Val:** especies válidas, **Spp Sin:** especies sinónimas.

1.3.3. Importancia de los dípteros necrófilos en ciencias forenses y médicas.

Las especies de dípteros con importancia médica son de particular interés en México, ya que presentan varias especies que son plagas de ganado o llegan a causar miasis (infestación por larvas de moscas) y además se encuentran en varias localidades urbanas. Se debe considerar la posibilidad de que estas especies amplíen su distribución, lo que lleve a que arriben a la ciudad y sean transmisoras de enfermedades (Ávalos-Hernández *et al.*, 2016). Varias especies pueden ser vectores de diversas enfermedades humanas y animales y algunas son causantes de miasis tanto en el hombre como en animales domésticos. Además, hay numerosos grupos de dípteros que provocan daños en cultivos y productos almacenados (Remedios *et al.*, 2012).

Otro papel importante que tienen los dípteros necrófilos es en el ámbito médico-legal para estimar las causas y lugar de muerte principalmente para conocer el Intervalo Post Mortem (IPM), ya que ayuda a conocer el momento de la muerte y centrar la investigación policial sobre el marco de tiempo correcto (Anderson, 2010; Arcos, 2014; Pedraza-Lara y Vergara, 2017). Para establecer el IPM, se utiliza la edad de las larvas de insectos y su tasa de desarrollo, así como la sucesión de especies según los distintos estados de descomposición del cuerpo (Rodríguez-

Olivares et al., 2015). La colonización que se da durante la descomposición de un cadáver puede estar influida por diferentes factores bióticos o abióticos que igualmente influye en la estimación del IPM (Brundage *et al.*, 2016) y en su riqueza específica. Algunos de los factores más importantes son: la región geográfica, zona biogeoclimática, estación del año la cual define el hábitat, la vegetación y condiciones meteorológicas del área donde se encontró el cuerpo (Flores-Pérez *et al.*, 2008).

La entomología forense es una ciencia que estudia y aplica el conocimiento de la biología de los artrópodos relacionados con aspectos legales (Pedraza-Lara y Vergara, 2017). Además, esta disciplina proporciona información útil en las investigaciones policiales o judiciales (Anderson, 2010). En cuanto a su aplicación, es relativamente reciente ya que cuenta con escasa información de la biodiversidad en distintas regiones, lo cual ha limitado el desarrollo de esta disciplina (Molina, 2009).

1.4. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE DÍPTEROS NECROFILOS.

El conocimiento de la riqueza específica de dípteros necrófilos en distintos ecosistemas y cómo ésta se transforma entre ellos es fundamental para identificar especies de manera robusta en las aplicaciones en los ámbitos forenses en nuestro país (Pedraza-Lara y Vergara, 2017).

La sistemática tradicional se ha basado en morfología comparada, lo cual presenta varias limitantes que en ocasiones son difíciles de resolver (Téllez, 2018). La discriminación morfológica de distintas especies presenta limitaciones, como la plasticidad fenotípica que se presenta debido a los estímulos ambientales que trae consigo cambios morfológicos en las especies (Pigliucci *et al.*, 2006). Además, la disponibilidad de claves taxonómicas, en especial para grupos de dípteros de interés forense, es escasa, además de que están incompletas (Whitworth, 2006). De igual forma, el estado de conservación de los individuos se considera una limitante ya que para las identificaciones es necesario contar con el espécimen completo y en buen estado, lo cual es complicado de encontrar ya que los

organismos son muy susceptibles a los daños causados por las condiciones ambientales (Téllez, 2018). Derivado de esto, el código de barras del ADN se ha convertido en un valioso enfoque para la identificación de especímenes y el reconocimiento de especies crípticas en varias familias del orden Diptera (Ting Ma y Jia Huang, 2018), las cuales son muy comunes hallar en grupos tan diversos como los dípteros necrófilos (Knowlton, 1993).

1.4.1. Uso de código de barras genético en la identificación de especies.

Los códigos de barras emplean una diversidad de regiones cortas estandarizadas de ADN para ayudar a identificar y discernir especies que presentan alta diversidad (Hebert *et al.*, 2003). El Código de Barras de la Vida, generalmente conocido como “DNA barcoding”, utiliza secuencias de ADN estandarizadas para evaluar la divergencia genética intra e interespecífica, basándose en el supuesto de que la divergencia genética intraespecífica siempre será menor que la interespecífica (De Jesús-Bonilla *et al.*, 2018). En animales, incluyendo insectos, el locus del barcoding es un fragmento de 658 pb perteneciente al gen mitocondrial citocromo oxidasa c subunidad I (COXI; Hebert *et al.*, 2003). El código de barras genético se ha confirmado como una estrategia útil para la discriminación de especies en grupos que presentan alta riqueza y que han sido escasamente estudiados (Téllez, 2018). En grupos de organismos donde es casi imposible emplear caracteres morfológicos para construir clasificaciones taxonómicas, por ejemplo: hongos o bacterias; el DNA barcoding representa un enfoque ampliamente utilizado (Waikagul & Thaenkham, 2014) que ayuda a discernir entre especies crípticas (Ting Ma y Jia Huang, 2018).

1.4.2. Uso del ADN mitocondrial en la identificación de especies.

Dentro de las ventajas de utilizar ADN mitocondrial (ADNmt) en ciencias forenses se encuentra que el proceso de replicación del ADNmt no está sujeto a recombinación, por lo que los cambios que se dan en el ADNmt se deben exclusivamente a mutaciones a lo largo de las generaciones (Galtier *et al.*, 2009).

Por otro lado, la tasa de mutación del ADNmt es elevada comparada con la tasa de mutación del ADN nuclear (Papadopolou *et al.*, 2010). Según varios estudios, la tasa de mutación del ADNmt suele coincidir con la separación entre especies de insectos y depende de la velocidad con la que surgen y se fijan las mutaciones en los linajes. Sin embargo, la tasa evolutiva del genoma mitocondrial tiene más probabilidades de mutar a una tasa más o menos constante (Galtier *et al.*, 2009). Además, el ADNmt tiene menos probabilidades de estar sujeto a selección, por lo que es factible que los genes que lo componen reflejan la historia evolutiva de las especies de una manera más conservada (Téllez, 2018).

1.4.3. Métodos de delimitación de especies.

La controversia existente con respecto a la conceptualización de especie y los métodos para delimitarlas ha persistido a través de los años (De Queiroz, 2007). Sin embargo, la delimitación de especies se basa en identificar cómo la biodiversidad forma grupos naturales a nivel de especie, su importancia radica en que la especie es considerada la unidad fundamental para el estudio de la historia evolutiva, ecología, distribución espacial y biología de la conservación (Téllez, 2018). Gran parte de los conceptos que se han propuesto definen a las especies a partir del aislamiento reproductivo, diferenciación morfológica o genética u ocurrencia de un nicho exclusivo (De Queiroz, 2007). Sin embargo, estos atributos se pueden dar en diferentes momentos durante la especiación, por lo que en el presente estudio se considera el concepto unificado de especie propuesto por De Queiroz (2007):

“Segmentos de linajes metapoblacionales que evolucionan de manera independiente”

De acuerdo con Hennig (1999), Ridley (1989) y Meier & Willmann (2000) quienes propusieron el concepto **filogenético** de especie, mencionan que es: “el más pequeño grupo diagnosticable de organismos individuales dentro del cual existe una pauta de ascendencia y descendencia” (*parental pattern of ancestry and descent*); este concepto sirve para discernir entre poblaciones morfológicamente iguales pero que pueden o no, estar aisladas reproductivamente. Cuvier (1812) plantea el

concepto morfológico de especie como “la colección de todos los organismos nacidos unos de otros o de progenitores comunes, y de todos aquellos que se les asemejan tanto como ellos se asemejan entre sí” (Torretti, 2010) mientras que el concepto biológico de especie pone como criterio central el intercambio reproductivo, lo que ayuda a diferenciar especies que no han divergido morfológicamente. Otro concepto útil, es uno de los más famosos propuesto por Dobshansk y Mayr (2000): “Defino las especies biológicas como grupos de poblaciones naturales que procrean entre ellas y están reproductivamente aisladas de otros grupos similares”.

También existen otros conceptos que hay que tener presentes en la evolución de los organismos. En su concepto de cohesión, Templeton (1989) define a una especie como “la población más inclusiva de individuos que tienen el potencial para la cohesión fenotípica mediante mecanismos cohesivos intrínsecos”. Este concepto toma en cuenta los mecanismos de intercambio demográfico como fuerzas microevolutivas (la deriva génica y la selección natural).

Estos conceptos resultan útiles En el presente estudio ya que al momento de hacer estudios taxonómicos donde se busca complementar las delimitaciones haciendo uso de enfoques moleculares y morfológicos, en otras palabras, de forma integrativa (figura 1) cuando se hace uso de información morfológica, los individuos son llamados morfoespecies, según el concepto correspondiente, ya que las morfoespecies pueden ser usadas para representar la diversidad de insectos sin comprometer su precisión (Samways *et al.*, 2010). En el caso de utilizar información molecular se le conoce como unidad taxonómica operacional (OTU, por sus siglas en inglés). Existen 2 enfoques (figura 1) para realizar estudios de taxonomía integradora según Padial *et al.*, (2010):

- **Integración por acumulación.** Identifica los límites de especies con divergencia en uno o más caracteres taxonómicos no necesariamente superpuestos, por ejemplo: ADNmt o morfología. Sin embargo, éste enfoque puede sobreestimar el número de especies mediante la identificación de especies distintas donde solo hay variación de carácter intraespecífico.

- **Integración por congruencia.** Identifica los límites de especies con la intersección de la evidencia de dos o más caracteres taxonómicos independientes, por ejemplo, ADNmt complementado con morfología. Éste enfoque es altamente estricto, lo que causa baja eficiencia en su uso, ya que podría subestimar el número de especies al no poder detectar especies crípticas o jóvenes.

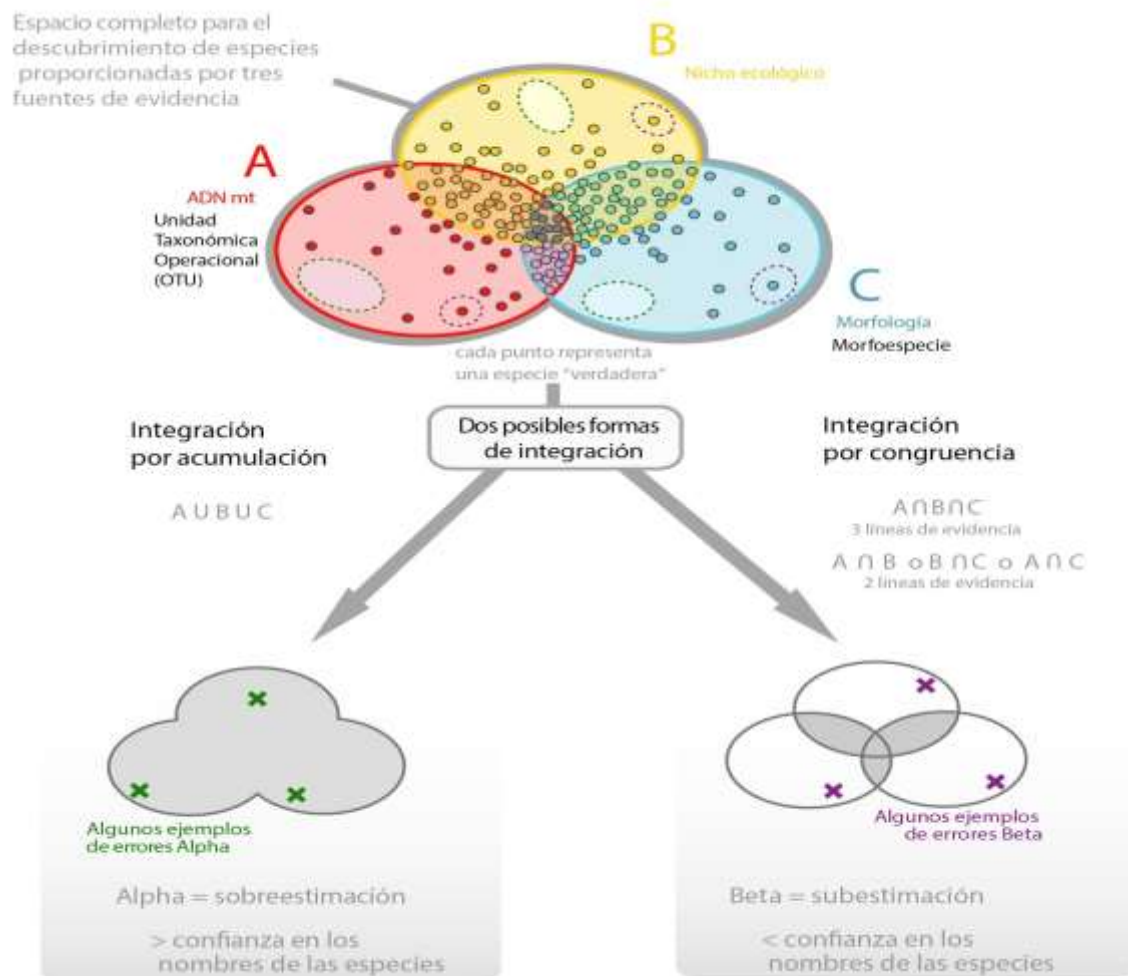


Figura 1. Representación esquemática sobre dos enfoques de taxonomía integradora. Criterios para considerar durante el desarrollo de investigación de delimitación de especies. Tomado y modificado de Padiá *et al.*, (2010).

Los principales métodos de limitación de especies se han basado en datos morfológicos y genéticos. Los datos morfológicos se emplean para identificar y describir formalmente a las especies; mientras que los datos genéticos ayudan en la delimitación de especies. De acuerdo con De Jesús-Bonilla *et al.*, (2018), existen algunos métodos genéticos para delimitar especies. En el primero se analizan las

divergencias genéticas mediante secuencias de ADN, como el Código de Barras de la Vida. Este método se implementa considerando algún umbral de porcentaje de divergencia para identificar especies y se puede realizar de forma automática en el sistema BOLD. El segundo método genético, Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) se basa en la teoría de la coalescencia, la cual plantea que los alelos muestreados en una población pueden ser rastreados hasta provenir de un ancestro común. GMYC tiene el propósito de identificar linajes evolutivos independientes y considerar estos linajes como especies y así como discernir especies crípticas (Zinger *et al.*, 2016). El tercer método conocido es aquel que toma en cuenta la coalescencia y la inferencia bayesiana, se usa para comparar modelos de delimitación de especies y decidir el que tiene mayor soporte estadístico según el número de linajes e individuos (De Jesús-Bonilla *et al.*, 2018).

2. ANTECEDENTES

Se han realizado estudios a nivel mundial acerca de la diversidad de insectos necrófilos, algunos de ellos tomando en cuenta condiciones ambientales. Uno de ellos es el realizado por Tomberlin y Adler (1998) realizado en Carolina del Sur, durante el verano e invierno. Compararon la colonización de insectos necrófilos entre ambientes terrestres y acuáticos, utilizando como cebo carne de rata *Rattus rattus L.* Reportan como especies más comunes durante el invierno en ambiente terrestre a: *Cynomyopsis cadaverina*, *Calliphora vicina* Robineau y *Lucilia illustris*. En ambiente acuático no hubo colonización de insectos, mientras que *Cochliomyia macellaria*, *Phaenicia sericata* y *Sarcophaga bullata* Parker, colonizaron la carroña en suelo y en agua durante el verano, concluyendo que existe una variación estacional en los patrones de descomposición y colonización de carroña en hábitats contrastantes, además de que el hábitat y la estación influyen en la descomposición y la colonización de insectos carroñeros.

En el estudio realizado por Zou Yi y colaboradores (2011) llegaron a la conclusión que la composición de la vegetación y el clima influyen en la diversidad de insectos. El objetivo sugiere generar patrones geográficos de diversidad de las

especies con importancia para la conservación, basados en dos tipos de bosques en el norte de China: la montaña Changbai, y la montaña Dongling.

Azmi y colaboradores (2013) llevaron a cabo un estudio de comparación de diversidad de dípteros en dos diferentes áreas de Malasia: Kuala Terengganu y Masai, encontrando en mayor abundancia a las especies *Chrysomya megacephala*, *C. rufifacies* e *Hydrotaea sp.* Además, concluyó que Masái presentó mayor abundancia de especies en comparación de Kuala Terengganu, presentando mayor diversidad, riqueza y equitatividad, reportando que el desarrollo de los dípteros depende de la meteorología; las bajas temperaturas y las altas precipitaciones inhiben su colonización.

A continuación, se presenta una tabla (tabla 2) de los trabajos que han documentado a escala global la diversidad de insectos necrófilos analizando los patrones de distribución con variables ambientales como factores explicativos.

Tabla 2. Estudios realizados a nivel mundial acerca de la diversidad de insectos necrófilos tomando en cuenta variables ambientales.

Estudio	Vegetación	Variables ambientales	Resultado
(Tomberlin y Adler, 1998)	Matorral con bosque cercano	Ambiente terrestre vs acuático.	El hábitat y la estación influyen en la descomposición y la colonización de insectos carroñeros. Este estudio demostró la variación estacional en los patrones de descomposición y colonización de carroña en hábitats contrastantes, con importantes implicaciones para la entomología forense.
Carolina del Sur		Estación del año	
(Zo yiu et al., 2011)	Bosque de pino	Temperatura Cambio climático	La composición de la vegetación y el clima influyen en la diversidad de insectos.
Beijing			
(Azmi et al., 2013)	Manglar	Temperatura Precipitación Humedad	El desarrollo de los dípteros fue documentado meteorológicamente dependiente, por lo cual; baja temperatura y alta precipitación inhiben su colonización. Los datos recopilados en este estudio pueden servir como base para estimaciones futuras del intervalo post mortem (IPM),
Malasia			

Existen varios trabajos que han documentado la diversidad de dípteros necrófilos en México (tabla 3). Uno de ellos fue el llevado a cabo por Stephano-Vera y colaboradores (2009), quienes evaluaron la distribución, descripción y registro de especies de dípteros necrófilos en localidades específicas del estado de Nuevo León. Reportan como familias representativas a: Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae. De igual forma, el estudio llevado a cabo por Amador *et al.*, (2011) determinó la riqueza de familias de insectos necrófilos de los órdenes Diptera y Coleóptera de las localidades Agua Amarilla y Las Anonas en Jungapeo, Michoacán, encontrando en mayor abundancia a la familia Phoridae seguido por Drosophilidae y Chloropidae.

Zepeda-Cavazos y colaboradores (2015) evaluaron la diversidad de insectos en necrotrampas expuestas y enterradas en localidades del estado de Nuevo León, reportando especies de familias como: Calliphoridae, Sarcophagidae, Fanniidae, Muscidae y Piophilidae.

González-Hernández y colaboradores (2015) realizaron un estudio en un bosque de Guadalajara durante un año, en donde evaluaron la diversidad de fauna necrófila en tres sitios con diferente vegetación, tomando en cuenta la actividad antropogénica como efecto de la perturbación. Asimismo, trabajos previos se han enfocado en conocer la riqueza de dípteros necrófilos en ciertas regiones de México usando información genética. Tal es el caso del trabajo de Téllez en (2018), llevado a cabo en el Valle de México. Aplicó la metodología de código de barras para la discriminación de especies mediante criterios de congruencia entre la información morfológica y molecular, logrando la identificación y delimitación de 23 especies incluidas en 9 familias de dípteros necrófilos.

Tabla 3. Estudios realizados acerca de la diversidad de dípteros necrófilos en México.

Estudio	Vegetación	Variabes ambientales	Conclusión
(Stephano-Vera <i>et al.</i> , 2009)	Abundancia de matorral	-Temperatura controlada	Las familias identificadas fueron: Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae y Stratiomyidae, las tres primeras de importancia forense en su fase larvaria y de la última sus larvas se alimentan de algas, materia orgánica en descomposición y de pequeños animales.
(Amador <i>et al.</i> , 2011)	Bosque tropical caducifolio	-Estación del año -Tipo de hábitat -Suelo	Las familias más abundantes del orden Diptera fueron: Phoridae, Drosophilidae y Sciomyzidae. La localidad de Las Anonas presentó una mayor riqueza biológica con 19 familias de insectos necrófilos al igual que la mayor abundancia con 646 organismos.
(González-Hernández <i>et al.</i> , 2015)	Bosque de pino, casuarina y eucalipto	-Temperatura -Precipitación -Actividad antrópica	Reporta fauna necrófila con baja riqueza y abundancia, la cual podría ser efecto de los cambios del paisaje y del incremento de actividades antrópicas en la zona. La abundancia estacional tiene una estrecha relación con la temperatura y la precipitación.
(Zepeda-Cavazos <i>et al.</i> , 2015)	Matorral submontano	-Estación del año -Condiciones de la trampa -Temperatura	La mayor diversidad se alcanzó en la condición expuesta durante la época de verano, de los insectos encontrados 14 de ellos se presentaron en ambas condiciones
(Téllez, 2018)	Matorral xerófilo	---	La discriminación de especies mediante criterios de congruencia entre la información morfológica y molecular logra la identificación y delimitación de especies de dípteros necrófilos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los insectos representan cerca del 80% del total de las especies del Phylum Artropoda y se estima que podría haber de cinco a nueve millones de especies de insectos por descubrir (Chapman *et al.*, 2013). En México, la diversidad de dípteros necrófilos ha sido abordada por algunos grupos de taxónomos como complemento a sus tareas científicas y no como un programa de investigación específico, pues no han existido históricamente especialistas taxónomos en estos grupos (Llorente-Bousquets, *et al.* 2004). Sin embargo, la verdadera diversidad de insectos aún no está estimada debido a las limitantes en el conocimiento e identificación que existen en la actualidad (Jiménez, 2005). Esta situación de escaso conocimiento de los dípteros en nuestro país probablemente esté relacionada con el “taxonomic impediment”, que se refiere a la existencia de un número insuficiente de expertos en taxonomía para grupos muy diversos y a los contextos históricos de esta disciplina en distintos países (De Jesús-Bonilla *et al.*, 2018).

Debido a lo anterior, es importante aplicar una estrategia eficiente que brinde una idea más acercada a la riqueza específica de dípteros necrófilos, así como comprobar la identificación de los organismos integrando información molecular y morfológica para obtener una clasificación taxonómica robusta (Padial *et al.*, 2010).

4. JUSTIFICACIÓN.

El reciente desarrollo de métodos rigurosos y cuantitativos basados en secuencias moleculares de ADN para la delimitación de especies está cambiando la forma en que se estudia la biodiversidad, ya que toman en cuenta la teoría sobre procesos que han llevado a la especiación, como el aislamiento reproductivo, limitación independiente y selección divergente (Ceccarelli *et al.*, 2011). La biodiversidad cambia según diferentes factores ambientales que van a influir en la riqueza. Estimar la riqueza específica permite describir los componentes de un sistema, así como hacer comparaciones (Moreno *et al.*, 2011) en este caso, entre La Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” (EBTLT) en Veracruz y El Jardín

Botánico “Helia Bravo Hollis” (JBHBH) en Puebla. Además, permite evaluar el estado de conservación y el grado de perturbación que existe entre ambos ambientes (Amézquita *et al.*, 1999). La riqueza específica refuerza el análisis de los procesos dinámicos en los ecosistemas, los determinantes históricos que influyen en la biodiversidad, así como evalúa el impacto de las actividades humanas (Moreno *et al.*, 2011). Aunado a esto, el tipo de análisis que se propone en estas localidades específicas no se ha llevado a cabo en estudios previos. Cabe destacar que no se encontraron trabajos donde se compare la riqueza específica de dípteros necrófilos por medio de código de barras en México. Debido a que la información es escasa acerca de la evaluación del efecto de variables ambientales sobre la diversidad de artrópodos en las investigaciones forenses (Rodríguez-Olivares *et al.*, 2015). En especial, la diversidad de las familias de dípteros necrófilos en México se conoce escasamente, a raíz de algunos trabajos que reportan especies necrófilas en ciertas regiones del país (Loera-Padilla *et al.*, 2015; Pedraza-Lara y Vergara, 2017). A pesar de que la identificación de dípteros a nivel de familia tiene un alto potencial para evaluar la biodiversidad de ciertos ecosistemas (Remedios *et. al*, 2012).

Una ventaja más de conocer la riqueza específica de dípteros necrófilos presentes en el país es la utilidad que se le da en entomología forense, la cual es una disciplina relativamente reciente pues cuenta con escasa información de la diversidad de dípteros necrófilos en distintas regiones, lo cual ha impactado en el desarrollo de esta disciplina (Molina, 2009). Durante los últimos años, los avances más importantes en el estudio evolutivo provienen de la biología molecular, uno de los enfoques que ha recibido mayor atención internacional está relacionado con la identificación molecular de especies de interés forense, vía marcadores genéticos. Los marcadores genéticos que más han sido utilizados son fragmentos de genes mitocondriales, como el COXI. Si bien, para acceder a identificaciones precisas, el primer paso es contar con correctas identificaciones morfológicas como referencia. De esta forma, al conocer la secuencia de un fragmento de ADN que ha sido extraído de un organismo, se puede inferir su identidad específica. Una de las mayores ventajas es que permite la identificación de todos los estadios de vida, por lo que no hay necesidad de esperar al desarrollo del adulto, aunado a que estos

datos genéticos pueden compararse en bases de datos y pueden servir de referencia.

Se debe tomar en cuenta que no hay mucha información acerca de los factores ambientales que intervienen en la degradación de los cuerpos y cómo estos pueden influir en la determinación del tiempo de colonización y del IPM, por lo que el presente estudio podría servir como referencia para futuros trabajos que evalúen la importancia de estos factores en investigaciones de tipo forense.

Con el presente estudio se busca plantear una taxonomía integradora para caracterizar, en particular, la fauna de interés forense en varias regiones del país. Con el fin de maximizar la representatividad, se cubrirá la variabilidad ambiental en términos de dos tipos de vegetación, considerando el contexto biogeográfico. Incorporando evidencia mitocondrial y morfológica para contar con identificaciones robustas y brindar un enfoque de alta calidad científica para asistir a los entomólogos forenses en la difícil tarea de la identificación de especies insectos necrófilos (Pedraza-Lara y Vergara 2017).

5. HIPÓTESIS.

Dado que las características ambientales afectan la riqueza específica de dípteros necrófilos, entonces se observarán diferencias en la composición de especies en cada sitio, así como en las especies exclusivas.

6. OBJETIVOS.

Objetivo General

- Evaluar la riqueza de dípteros necrófilos en dos ecosistemas diferentes de México, por medio de la integración de un código de barras genético y la identificación morfológica

Objetivos Particulares

- Identificar las especies de dípteros necrófilos presentes en dos ecosistemas: selva alta en La Estación de Biología Tropical, Los Tuxtlas, Veracruz y matorral xerófilo en el Jardín Botánico Helia Bravo Hollis en Zapotitlán, Puebla.
- Inferir las especies de dípteros necrófilos de cada familia a través de métodos de delimitación de especies con códigos de barras genéticos y usando un contexto de taxonomía integradora, al integrar las identificaciones con enfoques morfológicas.
- Comparar la riqueza específica presente de dípteros necrófilos y algunos aspectos de su diversidad obtenida en ambos ecosistemas.

7. MATERIAL Y MÉTODOS.

Área de estudio

Jardín Botánico Helia Bravo Hollis, Puebla

El Jardín Botánico Helia Bravo Hollis, Puebla (JBHBH) se encuentra en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (figura 2), el cual forma parte de la Reserva de la Biósfera del mismo nombre y se localiza en el Municipio de Zapotitlán Salinas. Se ubica entre los 17°20', 18°53' N y 96°55', 97°44' W, cubriendo un área aproximada de 10 000 km². El JBHBH presenta una altitud de 1,503 m. y en promedio anual la precipitación es de 250 a los 500 mm, con régimen de lluvias de verano con una marcada estacionalidad de la precipitación, con básicamente seis meses de sequía que van de noviembre hasta abril (Dávila *et al.*, 2002; López-Gómez *et al.*, 2012). La temperatura media anual es de 22°C y un clima templado semiárido a semicálido semiárido (Cortés, 2009). Los suelos son rocosos y poco profundos, bien drenados y principalmente derivados de rocas sedimentarias y metamórficas por lo que presenta una vegetación de tipo matorral xerófilo (Herrera-Fuentes *et al.*, 1999).

En particular, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán presenta altos niveles de diversidad y endemismo como resultado de un marco fisiográfico complejo, diversos rangos altitudinales, así como diferencias notables en el origen geológico del sustrato y los tipos de suelo generando que la flora sea muy rica, con 910 géneros de plantas con un 30% de endemismo (Arriaga *et al.*, 2000; Dávila *et al.*, 2002).

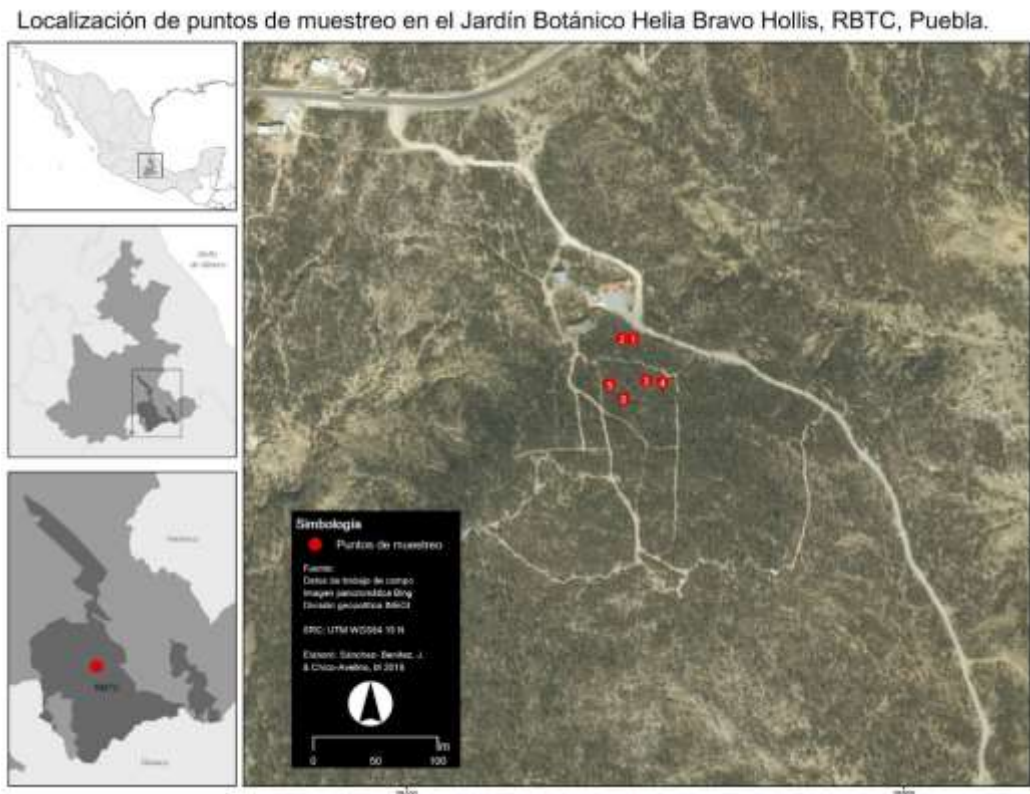


Figura 2. Mapa de la región correspondiente a Zapotitlán, Salinas; resaltando con rojo los puntos de muestreo en el Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”.

Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”, Veracruz

La Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” (EBTLT) pertenece a la Reserva de Los Tuxtlas (figura 3), que forma parte de la sierra del mismo nombre localizada al sur del estado de Veracruz sobre la costa del Golfo de México, entre los 18°05', 18°43' N y 94°35', 95°25' W. Presenta clima mayormente cálido, con temperaturas medias anuales en torno a los 20°C y mínimas nunca inferiores a 18°C. Los Tuxtlas es una de las regiones más lluviosas del país, registrándose en ocasiones precipitaciones anuales superiores a los 5,000 mm. La precipitación

media anual oscila entre los 1,500 y 4,500 mm (Guevara *et al.*, 2000), y su vegetación es selva alta perennifolia (INEGI, 2017). Por su ubicación geográfica, es una zona de encuentro entre la flora de las zonas templadas de América del Norte y la flora tropical. Esta característica, sumada a la concurrencia de elementos endémicos, incrementa notablemente la biodiversidad de la zona (Barbosa *et al.*, 2004). La EBTLT es considerada una de las zonas más conservadas de la región, sin embargo, se encuentra aledaña a potreros muy amplios (Siemens, 2009).

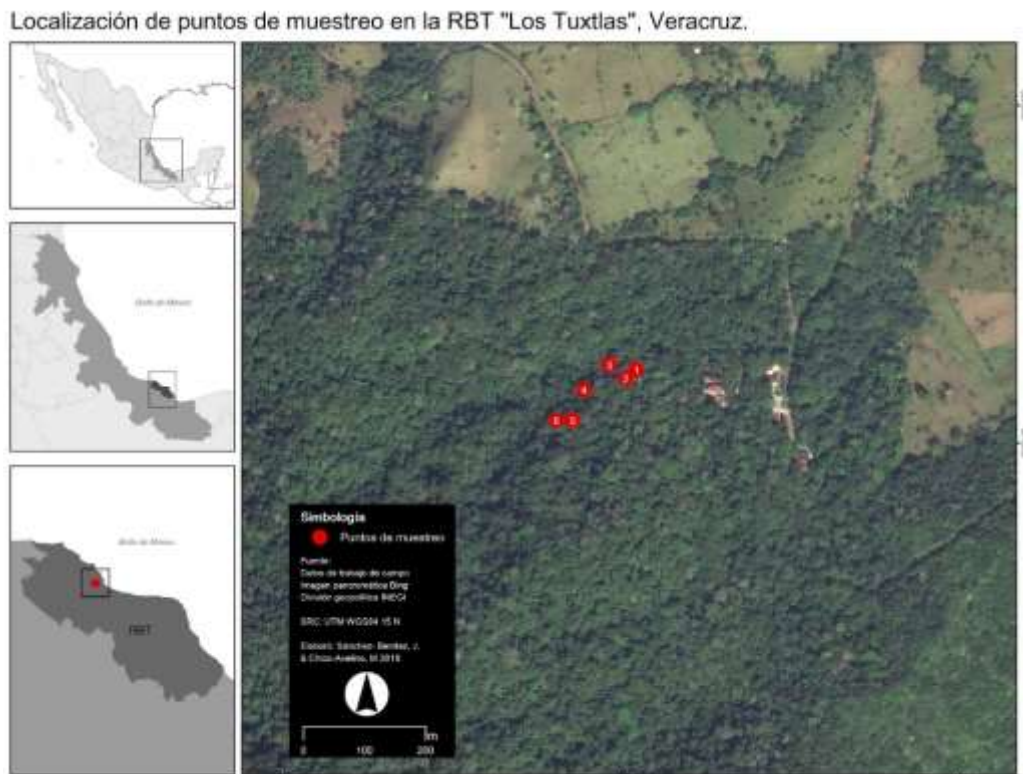


Figura 3. Mapa de la región de Los Tuxtlas, resaltando los puntos de muestreo en la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas".

Todo el trabajo de laboratorio y gabinete se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología Forense de la Licenciatura en Ciencia Forense, UNAM.

Muestreo

El muestreo para el presente estudio se realizó en los días 30 de octubre y 13 de noviembre de 2017 durante una parte del otoño. Se realizó la recolección de dípteros haciendo uso de dos tipos de trampas con una adaptación del modelo descrito por Kozlov y Whitworth, colocando un total de 12 trampas: 6 en el JBHBH (figura 2) y 6 en el EBTLT (figura 3) respectivamente, sin repeticiones. Se colocaron

en ramas de árboles a una altura de 1.5 a 3 m aproximadamente y fueron dotadas de 250 g de cebo natural de carne de cerdo. Las trampas se dejaron durante una semana y posteriormente de forma simultánea para ambas localidades, se recolectaron los organismos, cubriendo las trampas con tela nylon, se pasaron a frascos con etanol al 96% y se refrigeraron a 4°C para una mejor conservación, esto para el primer tipo de trampa. Con respecto al segundo tipo se retiraron las botellas hasta llegar al laboratorio en donde se eliminó el exceso de etanol para transportar los organismos a un recipiente con etanol al 96% para ser conservados y revisados posteriormente.

DELIMITACIÓN DE ESPECIES

Identificación morfológica de dípteros necrófilos

Para la identificación de organismos hasta un taxonómico específico, se utilizó un microscopio estereoscópico con cámara modelo Leica serie EZ4 con el cual se fotografiaron todos los organismos. Las fotografías fueron procesadas usando Adobe Photoshop CS6. La identificación de ejemplares se realizó con las claves de Disney, (1983, 1989), Whitworth, (2006, 2019), Carvalho & Mello-Patiu, (2008), Brown *et al.*, (2009), y Ferro & Carvalho, (2014) Durango & Ramírez-Mora, (2019).

Las muestras primero fueron separadas por familias y morfoespecies. Posteriormente, se extrajo tejido de cada organismo, (tomando en cuenta que hubiera individuos representantes de cada localidad) y se colocó en un criovial con etanol al 96% debidamente etiquetado con coordenadas geográficas, transformadas a UTM y localidad de recolecta. Los organismos fueron montados e ingresados a la Colección de Artrópodos de Referencia Forense, disponible en el Laboratorio de Entomología Forense, de la Licenciatura en Ciencia Forense de la Facultad de Medicina de la UNAM, dirigido por el Dr. Carlos Pedraza Lara.

Identificación molecular de dípteros necrófilos

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó según la técnica de extracción salina modificada propuesta por Sambrook *et al.*, (1989) y modificado por Ornelas-García *et al.*, (2014). El tejido/individuo fue lavado con agua destilada para después colocarlo en tubos Eppendorf de 1.5 mL con 500 μ L de buffer HOM (EDTA [80 mM], pH 8, Tris [100 mM], 0.5% SDS) y 15 μ L de proteinasa K. Posteriormente las muestras se colocaron en un termociclador a 56°C durante 3 horas aproximadamente para activar la proteinasa K. Posteriormente las muestras se colocaron en un termociclador a 56°C durante 3 horas aproximadamente para activar la proteinasa K. Las muestras fueron posteriormente incubadas a 96°C por 9 minutos con el propósito de desactivar la enzima, para después agregar 500 μ L de una solución de NaCl [4.5 M] más 300 μ L de CHCl₃, la cual se agitó gentilmente por 15 minutos. Enseguida se centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos para precipitar el ADN y recuperar el sobrenadante en tubos Eppendorf, a los cuales se les agregó 600 μ L de C₂H₅OH absoluto a -20°C. Después, el sobrenadante fue centrifugado a 13000 rpm por 10 minutos. Se recuperó el sobrenadante y se adiciono 500 μ L de C₂H₅OH al 70% para volver a centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos, y este paso se repitió una segunda vez. Finalmente se dejó secar el pellet, abriendo los tubos Eppendorf en una zona libre de contaminantes, hasta que se volatilizó.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Se utilizó la técnica de PCR para amplificar un fragmento de 658 pb del gen COXI, usando los cebadores LCO1490 (59-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-39) y HCO2198 (59-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-39) (Folmer *et al.*, 1994). Se preparó un mix de reacción en un volumen final de 10 μ L con 5.0 μ L de H₂O, 2.0 μ L de Buffer 1X, 0.4 μ L de Primer Forward, 0.4 μ L de Primer Reverse, 0.15 μ L de Taq polimerasa BIOLINE y 2.0 μ L de ADN. El programa de amplificación tuvo por un periodo de desnaturalización a 95°C por 5 minutos, después pasarlos por 35 ciclos a la misma temperatura, pero por 45 segundos, una hibridación a 45°C por 1

minuto y extensión a 75°C por 1 minuto igualmente, después se pasó por 7 minutos para elongar y finalmente un ciclo a 4°C.

Electroforesis y Secuenciación

Los productos de la amplificación se visualizaron por medio de electroforesis en gel, para lo cual se elaboró un gel de agarosa al 1%, y se utilizó una tinción con GelRed. Se utilizó un transiluminador de luz ultravioleta para determinar la presencia de bandas con los productos de la amplificación. La secuenciación se llevó a cabo en la unidad del laboratorio de Biología Molecular de la Biodiversidad y de Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

Delimitación de especies

La delimitación de especies se llevó a cabo siguiendo el criterio de congruencia propuesta por Padial *et al.*, (2010) (figura 4) según la información obtenida mediante distancias genéticas, Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) e información morfológica.

Distancias genéticas: Para la obtención de distancia genéticas primero se realizó la visualización de las secuencias con el programa FinchTV v.1.4 para verificar su calidad, observando que no se encontraran varias secuencias solapadas, en el caso de que esto ocurriera o el cromatograma se observa con múltiples picos con la misma intensidad, la secuencia fue eliminada. En los casos donde la secuencia presentará posiciones de difícil identificación y poca claridad en la asignación de una base, se colocó una letra N en su lugar, siguiendo la nomenclatura IUPAC. La identidad de las secuencias se verificó con el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), tomando como referencia secuencias depositadas en GenBank. Estas secuencias fueron elegidas según el mayor porcentaje de similitud y sólo los haplotipos que tenían alta similitud con las secuencias se utilizaron para el alineamiento.

En cuanto al alineamiento de las secuencias, se realizó por medio del programa MEGA v10.0. para todas las familias encontradas. Se aplicó el protocolo

estándar de códigos de barras de ADN publicado por el Consorcio para el Código de Barras de la Vida (CBOL) para eliminar inferencias de baja calidad, verificando la intensidad de la señal, ausencia de señales solapadas e identificación de indels o codones stop. Para continuar con el procedimiento se tuvo que determinar el modelo de sustitución nucleotídica el cual se llevó a cabo de la siguiente manera:

- I) Selección de modelo de sustitución nucleotídica:** Haciendo uso del programa JModeltest v.2. se determinó el modelo de sustitución nucleotídica (tabla 4). Como resultado se obtuvo el modelo mejor ajustado: GTR+I+G, modelo general reversible en el tiempo (GTR por sus siglas en inglés) (Trave, 1986), el cual incluye sitios invariables (+I) y la variación de velocidad entre sitios (+G). Toma en cuenta que los cambios de bases son igual de probables en ambas direcciones 5` y 3`. También considera 6 parámetros de sustitución (A↔C, A↔G, A↔T, C↔G, C↔T y G↔T) que es el máximo número que se puede incluir en estos modelos (Castilla, 2006; Galindo-Sandoval, 2015).

Tabla 4. Elección del modelo de sustitución nucleotídica con los criterios que integra cada uno.

Modelo	-lnL	K	AICc	Delta	Peso	curnWeigth
TIM2+I+G	10374.99264	168	21201.399914	0.000000	0.986563	0.986563
TVM+I+G	10377.48294	169	21209.992357	8.592442	0.013437	1.000000
TPM2uf+I+G	10397.98833	167	21243.794104	42.394190	6.14e-010	1.000000
GTR+I+G	10409.70549	170	21278.064041	76.664127	2.22e-017	1.000000
TPM3uf+I+G	10428.78100	167	21305.379444	103.979530	2.60e-023	1.000000
TIM1+I+G	10427.00675	168	21305.428134	104.028220	2.54e-023	1.000000
HKY+I+G	10432.23760	166	21308.710018	107.310104	4.92e-024	1.000000
TrN+I+G	10433.28259	167	21314.382624	112.982710	2.89e-025	1.000000
TIM3+I+G	10434.52474	168	21320.464114	119.064200	1.38e-026	1.000000
TPM1uf+I+G	10436.82569	167	21321.468824	120.068910	8.35e-027	1.000000

Una vez obtenido el modelo de sustitución, se infirió un dendrograma con el método Neighbour Joining (NJ) donde los nodos del árbol fueron evaluados por medio del análisis de bootstrap con 1000 réplicas, todo este procedimiento se llevó a cabo con el programa MEGA v10.0.

Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC): Posteriormente se generaron árboles ultramétrico por medio del programa BEAST v1.8.4, en los cuales la longitud de sus ramas se encuentra expresada en unidades de tiempo. Se utilizó una tasa de mutación de 1.5% por millón de años para el COXI como prior (Papadopoulou *et al.*, 2010). Para la datación se seleccionó un reloj estricto con distribución lognormal y distribución normal para la tasa de mutación, con valor del 1% como media y valor de inicio con varianza de 0.05, para incluir el intervalo de valores reportados como tasa de mutación del COXI en insectos. Los árboles fueron evaluados usando el análisis GMYC en el portal de internet que lleva el mismo nombre, este análisis utiliza coalescencia para delimitar especies y es útil en estudios que buscan caracterizar la diversidad de amplios grupos de fauna (Téllez, 2018).



Figura 4. Protocolo general para realizar estudios acerca de taxonomía integradora. El aumento de la intensidad del color negro representa una creciente incertidumbre sobre el estado de la especie y la necesidad de una evaluación más exhaustiva de los datos. Tomado y modificado de Padial *et al.*, (2010).

Determinación de riqueza específica de dípteros necrófilos

Abundancia: la abundancia se estimó como el número de individuos del total de especies detectadas presentes en cada sitio. Esta fue considerada también por Quintero (2002) y fue contabilizada por muestras y localidad.

Riqueza específica: con base en los datos obtenidos de abundancia de dípteros necrófilos, se llevó a cabo los análisis estadísticos de Shannon (H') para

estimar la riqueza de especies, así como el estadístico de Simpson fue utilizado para analizar la dominancia con respecto de una localidad sobre la otra. Ambos análisis toman en cuenta el número de especies presentes y la abundancia relativa de cada una de ellas. También se utilizó el índice Chao-1 para estimar las especies exclusivas en cada localidad. Asimismo, se analizó la Equidad de Pielou's, índice que indica la equitatividad de especies con respecto de su abundancia relativa en el área de muestreo (Moreno *et al.*, 2011). Todos estos análisis al igual que el Análisis de Componentes Principales (ACP) y el cálculo de la diversidad β se llevaron a cabo utilizando el programa PAST 3.26 (Hammer *et al.*, 2001)

Diversidad β : se estimó la diversidad β para medir la tasa de recambio de especies con base en los índices Whittaker, así como los datos del índice de Cody para analizar el número de pérdida de especies. El índice de Routledge fue utilizado para analizar las especies compartidas (Halffter *et al.*, 2005)

Ordenación: se llevó a cabo un ACP para determinar los componentes más importantes que pudieron influir en la abundancia relativa de los individuos, estos son calculados en un orden de importancia decreciente. Las comunidades se ubican en un espacio determinado por estos componentes que expliquen la mayor parte de la variación en los datos originales (Baev y Penev, 1995; Moreno, 2011).

Este análisis se llevó a cabo con el fin de explorar los datos de las variables ambientales que ayuden a evaluar las diferencias ecológicas entre las localidades, así como ratificar de forma estadística las diferencias de la riqueza específica por localidad. Se hizo un ACP por localidad con respecto a la abundancia relativa de las especies y los factores ambientales tales como:

- Temperatura promedio (T°C)
- Humedad promedio (%)
- Presión atmosférica (mBar)
- Distancia a una zona urbana (km)
- Precipitación acumulada (mm)
- Radiación solar máxima (kWh)

- Velocidad del viento promedio (km/h)
- Distancia a un potrero (km)

Los datos de cada variable fueron recuperados de la Plataforma de Información Climática (PIC) de cada Estación Meteorológica Automática (EMA) correspondientes a Tehuacán, PUE. (SMN-ANP), ID: 16A0A4E6 y a Los Tuxtlas I. (SMN-ANP) ID: 15F573EA. Con respecto a la distancia a una zona urbana, se tomaron en cuenta poblaciones aledañas con un número medianamente homólogo de habitantes: Zapotitlán (2416 hb) para el JBHBH y Sontecomapan (2354 hb) para la EBTLT. Como distancia a un potrero se tomaron en cuenta los potreros más cercanos a los puntos de muestreo JBHBH (700 m) y EBTLT (600 m), según imágenes satelitales de Google Earth Pro e información de campo.

8. RESULTADOS.

1.DELIMITACIÓN DE ESPECIES

De los muestreos realizados en ambas localidades, se recolectaron un total de 495 organismos pertenecientes al orden Diptera, correspondientes a 15 familias, 20 géneros y 13 especies. Se recolectaron individuos de la familia Calliphoridae (figura 5), Chloropidae (figura 6A-C) y Drosophilidae (figura 6D-S).



Figura 5. VF, VL, y VD de especies correspondientes a la familia: A-C: Calliphoridae CPL1444 *Cochliomya macellaria*; D-F: CPL1699 *Comptosyriops callipes*; G-I: CPL1700 *Chloroprocta ideoidea*; J-L: CPL1732 *Chrysomya rufifacies*.



Figura 6. Especies correspondientes a las familias: A-C: Chloropidae CPL 1434 *Liohippelates* sp.; D: Drosophilidae CPL1432 *Stegana bacilla*, tomada de BOLD system; E-G: CPL1416 *Drosophila* sp.3; H-J: CPL1746 *Drosophila* sp.2; K-M: CPL 1433 *Drosophila hypocausta*.; N-P: CPL1447 *Drosophila* sp. 1/ *Zygothrica* sp.; Q-S: CPL1747 *Leucophenga* sp.



Figura 7. Especies pertenecientes a las familias A-C: Fanniidae CPL1435 *Fannia pusio*; D-F: Mesembrinellidae CPL1736 *Mesembrinella bicolor*; G-I: CPL1740 *Mesembrinella* sp.; J-K: Micropezidae CPL1441 *Taeniaptera* sp.; L-M: 1752 *Ptilosphen* sp.

Se recolectaron individuos pertenecientes a la familia Fanniidae (figura 7A-C) pertenecientes al género *Fannia*. También se identificaron ejemplares del género *Mesembrinella*, así como la especie *M. bicolor*, correspondientes a la familia Mesembrinellidae (figura 7D-F). De igual forma los géneros *Taeniaptera* y *Ptilosphen* de la familia Micropezidae (figura 7J-M). Dentro de la familia Milichiidae (figura 8A) sólo fue posible identificar el género *Ulia*. Con respecto a la familia Muscidae (figura 8B-J) se identificaron los géneros *Syntesiomyia*, *Neomuscina* y la especie *N. pictipennis*. Para la familia Neriidae, se obtuvieron ejemplares asignados a *Oncopsia flavifrons* (figura 8K-L).



Figura 8. Especies pertenecientes a las familias A: Milichiidae CPL1427 *Ulia* sp.; B-D: Muscidae CPL1420 *Syntesiomyia* sp.; E-G: CPL1753 *Neomuscina* sp.; H-J: CPL1756 *Neomuscina pictipennis*; K-M: Neriidae CPL1440 *Oncopsia flavifrons*.

Se obtuvieron ejemplares de *Megaselia scalaris* y *Diplonevra florea* correspondientes a la familia Phoridae (figuras 9). En la identificación de los individuos de la familia Phoridae se logró encontrar nueve morfoespecies bien definidas por características morfológicas. Estas morfoespecies corresponden al género *Megaselia*, las especies *Megaselia* sp. 3-7 se incluyen en la figura 10. Así como *Megaselia* sp. 8 y *Megaselia* sp. 9 se incluyen en la figura 11A-F.



Figura 9. Especies pertenecientes a las familias A-C: Phoridae CPL1762 *Phoridae* sp.; D-F: CPL1763.; G-I: *Diplonevra florea*; J-L: *Megaselia* sp. 1; M-O: *Megaselia* sp. 2.

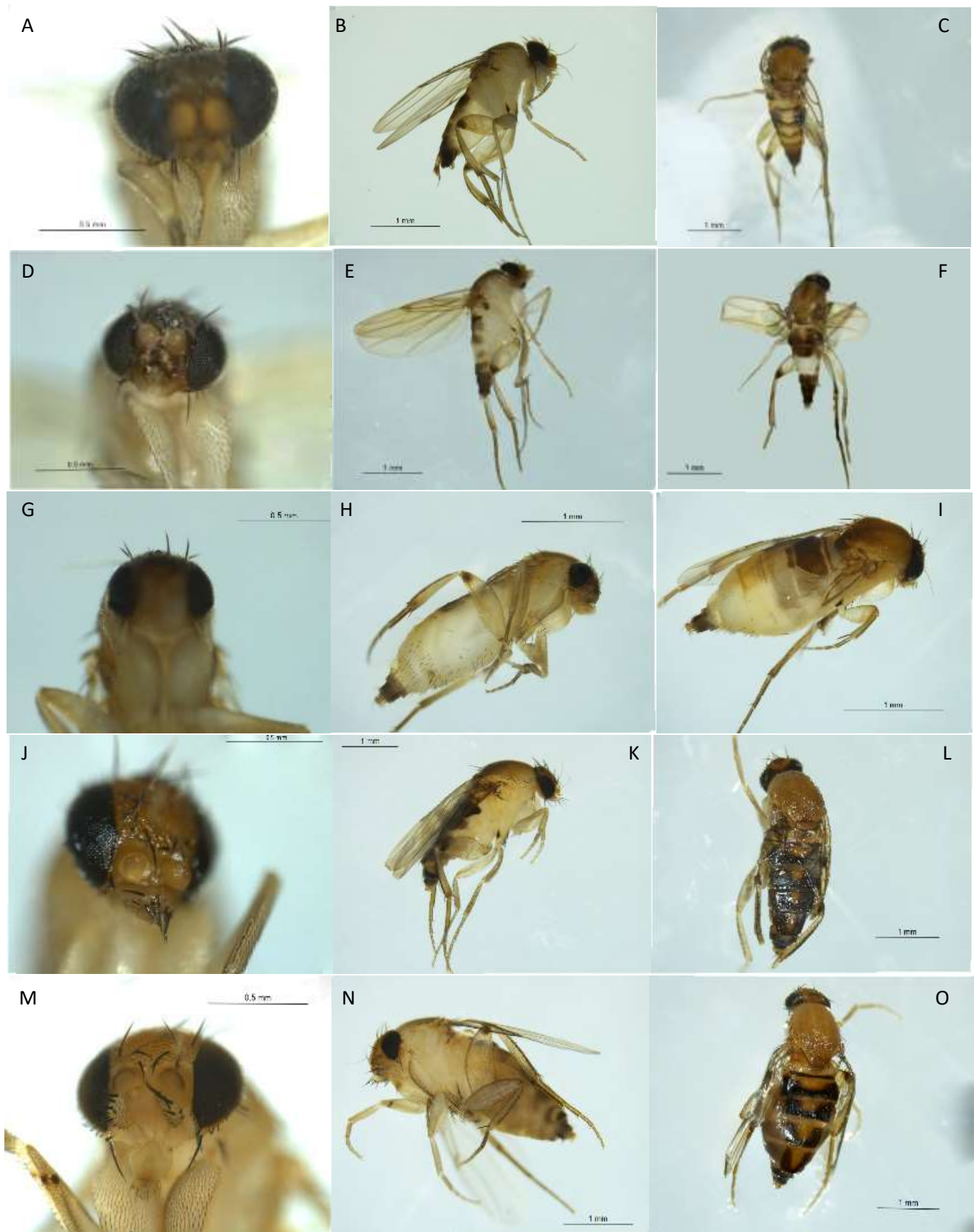


Figura 10. Especies pertenecientes a las familias A-C: Phoridae *Megaselina* sp. 3; D-F: *Megaselina* sp. 4; G-I: *Megaselina* sp.5; J-L: *Megaselina* sp. 6; M-O: *Megaselina* sp. 7



Figura 11. Especies pertenecientes a las familias A-C: Phoridae, *Megaselia* sp. 8; D-F: *Megaselia* sp. 9; G-I: Platystomatidae CPL1439 *Rivellia* sp.

Dentro de la familia Platystomatidae (figura 11G-I), se identificaron ejemplares del género *Rivellia*, con ayuda de la información morfológica y el uso de claves disponibles. Para la familia Sarcophagidae, se identificaron ejemplares pertenecientes a los géneros *Blaesoxipha*, *Sarcophaga* y *Oxysarcodexia* y las especies determinadas fueron *Peckia intermutants* y *P. australis* (figura 12).

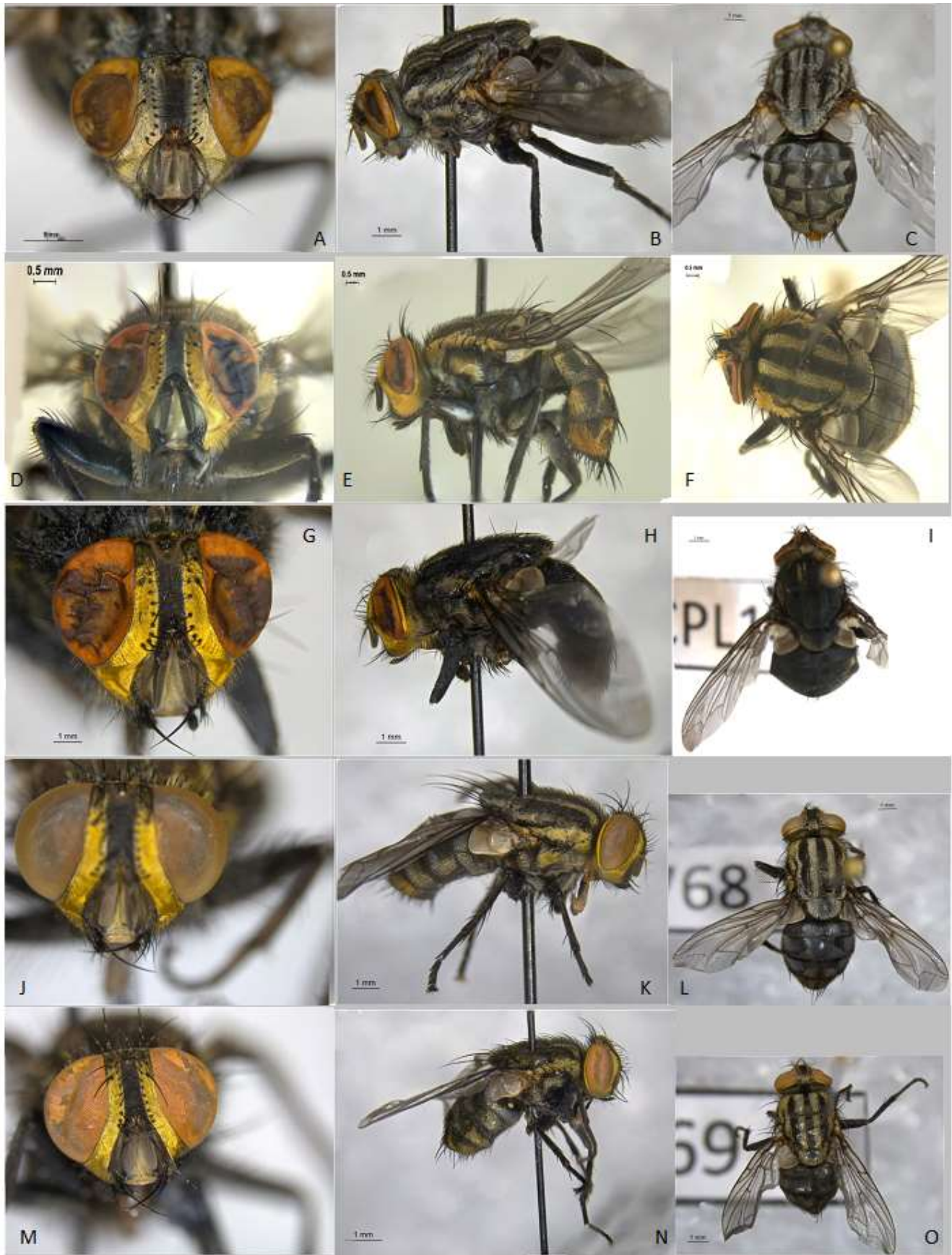


Figura 12. Especies pertenecientes a las familias A-C: Sarcophagidae CPL1424 *Blaesoxipha* sp.; D-F: CPL1425 *Peckia intermutans*; G-I: CPL1426 *Peckia australis*; J-L: CPL1768 *Sarcophaga* sp.; M-O: CPL1769 *Oxysarcodexia* sp.



Figura 13. Especies pertenecientes a las familias A-C: CPL1436 Somatiidae; D: Sphaeroceridae CPL 1428 *Spelobia* sp.; E-F: CPL 1429 *Pterogramma* sp. tomada de BOLD system; G-I: Ulidiidae CPL1443 *Notogramma* sp.

Se recolectaron individuos pertenecientes a la familia Somatiidae (figura 13A-C) y Sphaeroceridae dentro de la cual se identificó una especie que corresponde a el género *Spelobia* (figura 13 D-F). Así como, individuos de la familia Ulidiidae, en la cual se identificó una especie del género *Notogramma* (figura 13G-I).

a) Identificación morfológica de dípteros necrófilos.

Se identificaron seis especies haciendo uso exclusivo de la información morfológica. Estos taxones corresponden a las familias Calliphoridae, Muscidae, Platystomatidae, Somatiidae y Ulidiidae. De igual forma, se identificaron 21 géneros, los cuales se identificaron hasta especie gracias a la información molecular. Sin embargo, debido a la falta de claves taxonómicas en algunos taxones no se pudo corroborar la especie.

b) Identificación molecular de dípteros necrófilos

Extracción de ADN:

Se obtuvieron un total de 77 extracciones a partir del mismo número de organismos, de las cuales 58 individuos amplificaron con éxito y fueron enviados a secuenciar al Servicio de Secuenciación del Laboratorio de Biología Molecular y de la Salud, Instituto de Biología, UNAM. Dentro de las muestras que no amplificaron con éxito se encuentran ejemplares de algunas especies de la familia Calliphoridae y Muscidae, y a todas las especies correspondientes a las familias Platystomatidae, Somatiidae y Ulidiidae, las cuales se identificaron exclusivamente con información morfológica.

Alineamiento:

Un total de 50 secuencias se pudieron alinear y fueron verificadas mediante el algoritmo de BLAST. Se encontraron similitudes de regiones homólogas entre las secuencias biológicas y los niveles máximos alcanzados en el grado de identidad, la coincidencia total entre las secuencias osciló entre el 89% al 100% en todos los casos, valores aceptables para el presente análisis (Felsenstein, 1985).

Delimitación de especies:

Distancias genéticas: Las secuencias fueron analizadas por medio del método Neighbour Joining, y el soporte de los nodos se estimó mediante un análisis de bootstrap (figura 14), valores de bootstrap >80 fueron considerados con alto soporte (Felsenstein, 1985). Este método permitió obtener 13 grupos terminales que son equivalentes a OTU's.

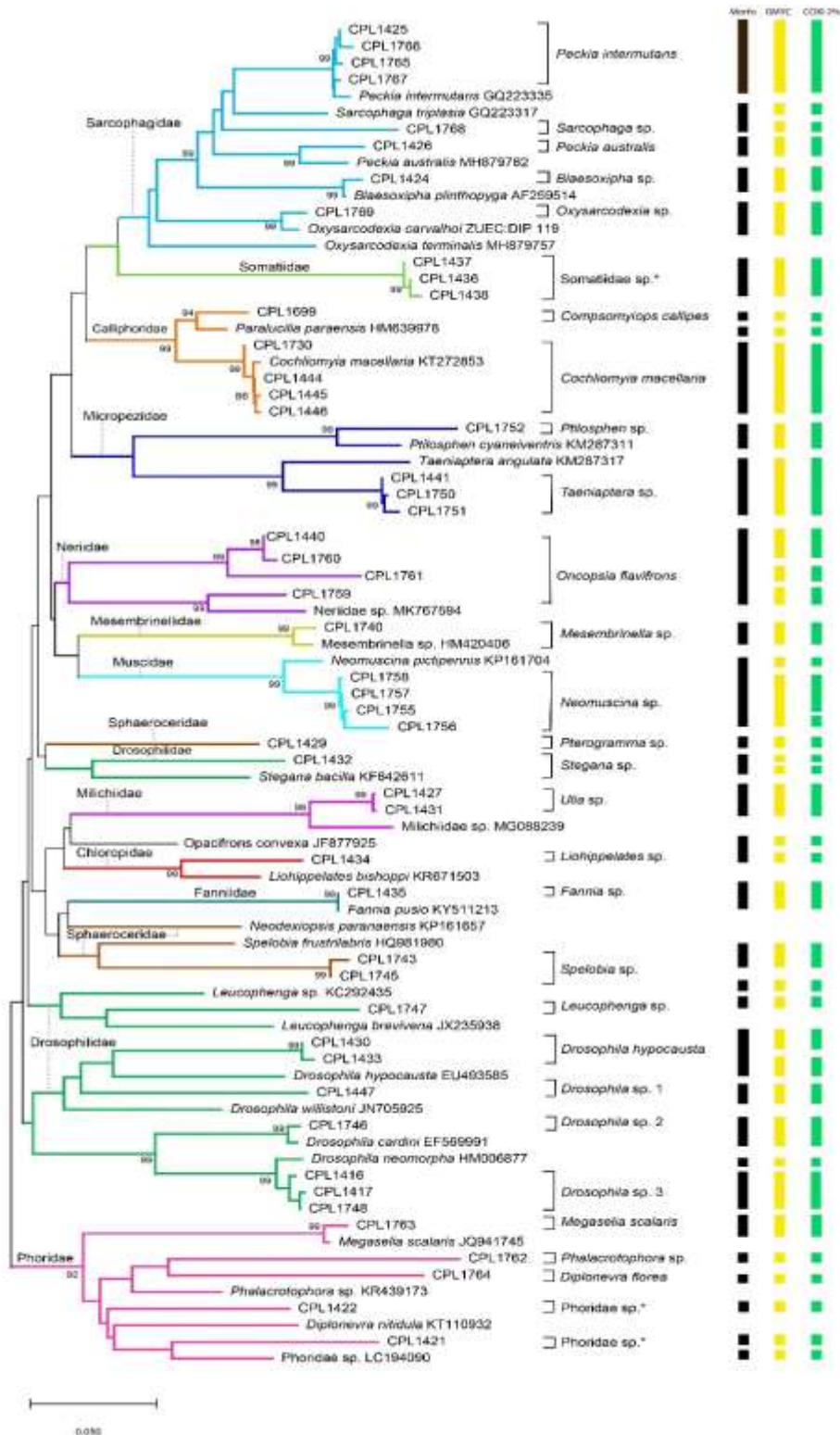


Figura 14. Dendrograma construido con el algoritmo de NJ correspondiente al gen COXI de los taxa de referencia de dípteros necrófilos publicadas en GenBank, usando el modelo GTR+I+G. Se incluyen especies secuenciadas para el presente estudio con código CPL. Los valores de soporte de bootstrap se colocan arriba de los nodos, sólo se muestran valores <80. Las barras hacen referencia a los diferentes métodos de delimitación de especies que se utilizaron en este estudio. Con corchetes identifican las especies determinadas morfológicamente. Las líneas punteadas indican las familias correspondientes a cada clado.

En el análisis obtenido por NJ (figura 14) se utilizó un criterio de homología entre los taxones de referencia recuperados de GenBank y las secuencias obtenidas de los individuos muestreados. El nombre de los individuos se asignó siguiendo criterios de congruencia entre la información morfológica y molecular.

Para cada familia se utilizaron diferentes taxa de referencia (se incluye nombre y número de GenBank). En de la familia Calliphoridae se utilizaron los siguientes taxones de: *Cochliomyia macellaria* KT272853, *Lucila cuprina* GQ12667, en el caso de las secuencias CPL1444-1446 se les relaciona con la especie *Cochliomyia macellaria* y la secuencias CPL1699 se alinea con el taxa *Paralucilia parénesis* HM639978. Sin embargo, el ejemplar presenta características morfológicas de la especie *Compsomyiops callipes* (figura 4 y 5).

Para la delimitación de las especies pertenecientes a la familia Chloropidae se utilizaron los taxones *Liohippelates bishoppi* KR671503 y *Liohippelates bishoppi* MG080039, mostrando la determinación de la especie *Liohippelates* sp. correspondiente a la secuencia CPL1434. En este caso se determinó que su distancia genética (tabla 5) era mayor entre los taxones por lo que fueron considerados diferentes especies, siempre siguiendo un criterio de congruencia.

En el caso de la familia Drosophilidae se logró identificar cinco especies con ayuda de las secuencias *Drosophila neomorpha* HM006877, *Drosophila hypocausta* EU493585, *Drosophila willistoni* JN705925, *Leucophenga brevivena* JX235938, *Stegana bacilla* KF642611, alineadas con las secuencias CPL1430, CPL1433, CPL1746-1748, CPL1416-1417 y CPL1432. Sin embargo, el taxón de referencia *Zygothrica* sp. KY556079 alineado con la secuencia CPL1447 no se utilizó para identificar al individuo ya que las características morfológicas pertenecen al género *Drosophila* (figura 6D-P).

El morfotipo perteneciente a la familia Fanniidae se logró identificar como *Fannia* sp. con ayuda del taxa de referencia *Fannia pusio* KY511213 que se alinea con un alto porcentaje de confiabilidad con la secuencia CPL1435.

Caso parecido a lo ocurrido con la familia Mesembrinellidae, donde el taxa de referencia *Mesembrinella* sp. HM420406 se alineo con un valor de 99% de bootstrap con la secuencia CPL1740, lo cual ayudó a identificar las especies *Mesembrinella bicolor* y *Mesembrinella* sp. (figura 7A-I).

Se lograron identificar dos especies de la familia Micropezidae con referencia de los taxones: *Taeniptera angulata* KM287317 y *Ptilosphen cyaneiventris* KM287311 los cuales se alinearon con valores de 99% de bootstrap con las secuencias CPL1441, CPL1750-1752 y corresponden con la descripción morfológica de al menos el género (figura 7J-M).

En el caso de la familia Milichiidae se utilizó el taxón Milichiidae sp. MG088239 corroborando la familia del organismo y la identificación del género *Ulia* sp. correspondientes a las secuencias CPL1427 y CPL1431 se logró con ayuda de los caracteres morfológicos (ver figura 8A).

Para la identificación de los morfotipos correspondientes con la familia Muscidae, se utilizó el siguiente taxa de referencia: *Neomuscina pictipennis* KP161704, logrando identificar la especie *Neomuscina pictipennis* y *Neomuscina* sp., con números de secuencia CPL1753-1758.

En el caso de la familia Phoridae se lograron identificar 3 especies: *Phoridae* sp., *Megaselia scalaris*, *Megaselia* sp. con los taxa de referencia *Diplonevra nitidula* KT110932, *Megaselia scalaris* JQ941745 y *Phoridae voucher* KY839063 y tomando en cuenta los caracteres morfológicos (figura 9 y figura 10A-F).

La determinación de especies para la familia Neriidae se llevó acabo con el taxa de referencia Neriidae sp. MK767594 con el cual se logró corroborar la familia y determinar la especie *Oncopsia flavifrons* por medio de criterios de congruencia y tomando en cuenta la distancia genética obtenida (tabla 5).

De igual forma para la familia Sarcophagidae con 5 especies determinadas alineadas con las secuencias de los taxones *Blaesoxipha plinthopyga* AF25951,

Oxysarcodexia terminalis MH879757, *Oxysarcodexia carvalhoi* ZUEC: DIP119, *Peckia intermutans* GQ223335, *Peckia australis* MH879762 y *Sarcophaga triplasia* GQ223317. La familia Sphaeroceridae con 2 especies alineadas con los taxones de referencia *Spelobia frustrilabris* HQ981980 y *Opacifrons convexa* JF877925. La familia Platystomatidae (figura 11G-I), Somatiidae (figura 13A-C) y Ulidiidae (figura 13G-I) no fueron consideradas en el árbol ya que no se obtuvo la amplificación de estas muestras debido a fallas en la extracción de ADN y se identificaron únicamente con información morfológica (tabla 6).

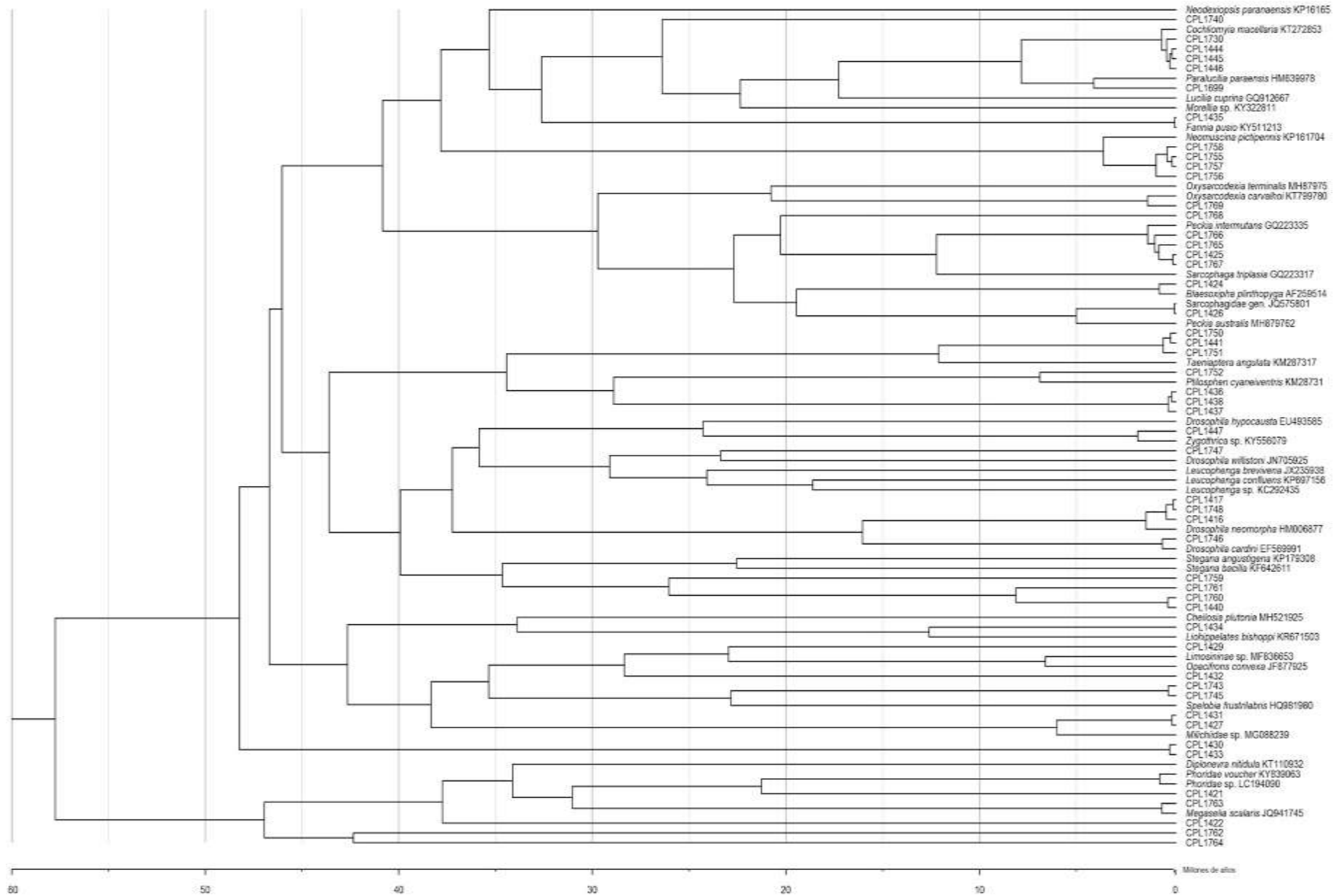


Figura 15. Árbol ultramétrico estimado por inferencia bayesiana en BEAST.

Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC): Con la finalidad de llevar a cabo el método de delimitación GMYC, se estimó una tasa de sustitución nucleotídica que fue calibrada obteniendo un árbol ultramétrico (figura 15). Con el método GMYC se lograron definir los agrupamientos de individuos asignados a una especie de dípteros necrófilos en los terminales de las ramas del árbol.

Los nodos internos que se observan en el análisis GMYC (figura 16) representan eventos de divergencia para el grupo, los cuales dieron paso a grupos descendientes a través de una serie de cambios. La ramificación del análisis presenta un patrón que ayuda a visualizar en qué punto se encuentra el ancestro en común más reciente para el grupo. GMYC estima el cambio en la tasa de cladogénesis para encontrar el punto en que tal patrón puede ser correspondiente con variación intraespecífica. Con lo anterior, GMYC encuentra evidencia para 32 posibles especies (figura 16).

Especies determinadas por medio de taxonomía integradora: con la información morfológica se determinaron 29 especies. Las evidencias obtenidas con las distancias genéticas (tabla 5) y con el análisis de GMYC (figura 16), concuerdan en su mayoría, a excepción de la secuencia CPL1756 que es recuperada con GMYC en la misma especie. Sin embargo, cuando se toma en cuenta la distancia genética, esta secuencia corresponde a otra especie. Debido a lo anterior, se reportan 22 especies que concuerdan con los tres métodos utilizados.

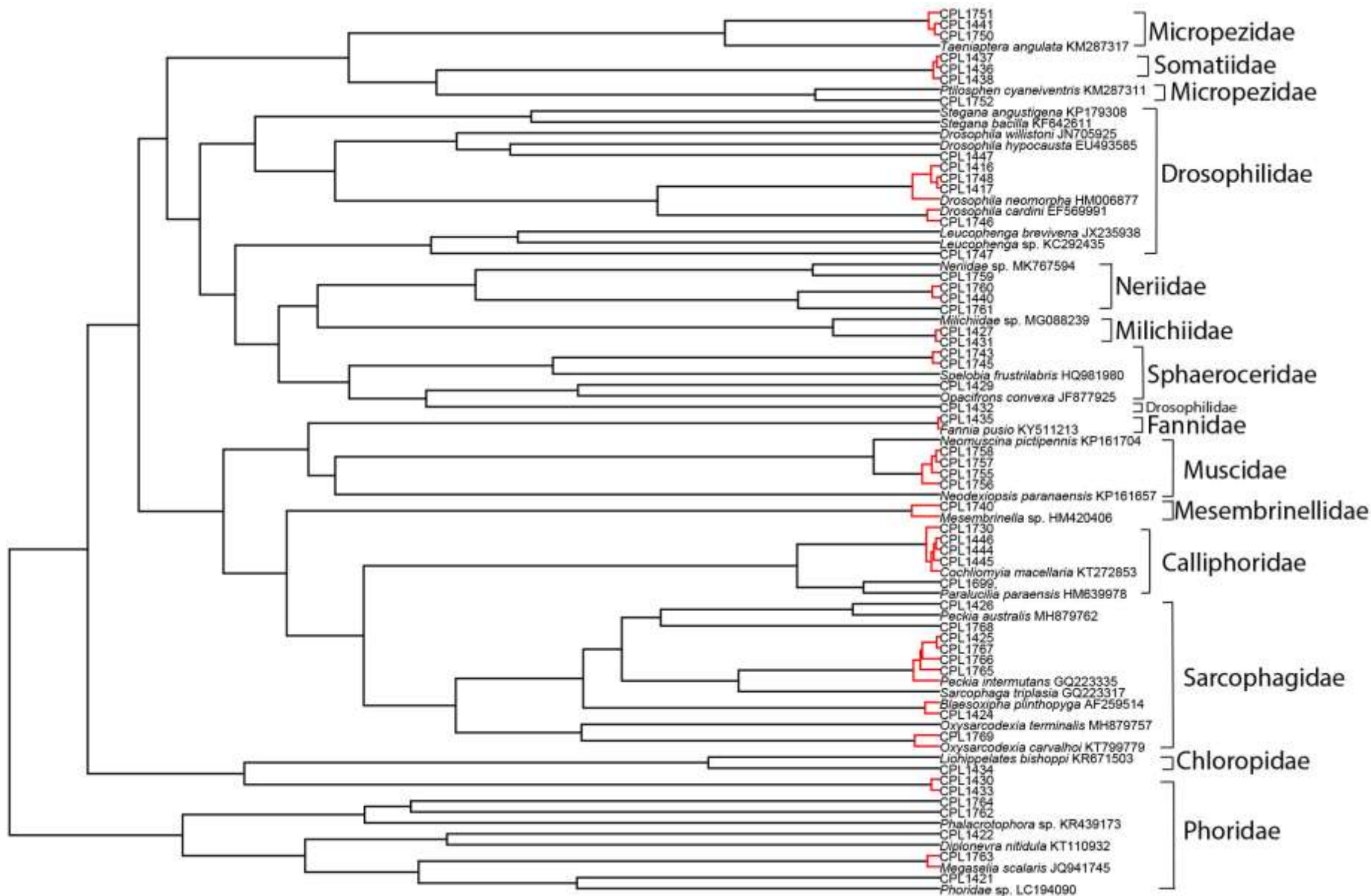


Figura 16. Análisis estimado a partir del gen COXI para las diferentes familias de dípteros necrófilos haciendo uso de métodos bayesianos (BEAST). Representando la delimitación de OTUS recuperados con el método GMYC. Las ramas negras corresponden a diferentes especies. Con corchetes se indica la familia a la que corresponde el conjunto de especies.

Con ayuda de la información morfológica se identificaron hasta género 21 taxones y 14 especies, respectivamente. Con respecto a los taxones identificados con información molecular, se obtuvo un total de 3 secuencias hasta familia, 3 géneros y 22 especies. En general, tomando en cuenta las determinaciones en donde al menos el género coincidió haciendo uso de ambos enfoques, se identificaron 22 taxones (tabla 6). Cabe mencionar que, en varios casos se identificó morfológicamente sólo la familia o el género y con ayuda de la información molecular se pudo identificar la especie.

Tabla 6. Comparación de las especies determinadas mediante enfoques morfológicos y moleculares.

Familia	Especies Morfológica	Especies Molecular
Calliphoridae	<i>Cochliomya macellaria</i>	<i>Cochliomya macellaria</i>
	<i>Chrysomya rufifacies</i>	
	<i>Comptosomyiops callipes</i>	<i>Paralucilia paraensis</i>
	<i>Chloroprocta ideoidea</i>	
	<i>Lucilia sericata</i>	
Chloropidae	<i>Liohippelates</i> sp.	<i>Liohippelates bishoppi</i>
Drosophilidae	<i>Drosophila hypocausta</i>	<i>Drosophila hypocausta</i>
	<i>Drosophila</i> sp.1	<i>Zygothrica</i> sp.
	<i>Drosophila</i> sp. 2	<i>Drosophila cardini</i>
	<i>Leucophenga</i> sp.	<i>Leucophenga brevivena</i>
	<i>Drosophila</i> sp. 3	<i>Drosophila neomorfa</i>
	<i>Stegana</i> sp.	<i>Stegana bacilla</i>
	<i>Fannia</i> sp.	<i>Fannia pusio</i>
Fanniidae		
Mesembrinellidae	<i>Mesembrinella bicolor</i>	
	<i>Mesembrinella</i> sp.	<i>Mesembrinella</i> sp.
Micropezidae	<i>Taeniptera</i> sp.	<i>Taeniptera angulata</i>
	<i>Ptilosphen</i> sp.	<i>Ptilosphen cyaneiventris</i>
Milichiidae	<i>Ulia</i> sp.	Milichiidae sp.
Muscidae	<i>Syntesiomyia nudiseta</i>	
	<i>Syntesiomyia</i> sp.	
	<i>Neomuscina pictipennis</i>	<i>Neomuscina pictipennis</i>
Neriidae	<i>Oncopsia flavifrons</i>	Neriidae sp.
Phoridae	Phoridae sp.	Phoridae sp.
	<i>Phalacrotophora</i> sp.	<i>Phalacrotophora</i> sp.
	<i>Diplonevra florea</i>	<i>Diplonevra nitidula</i>
	<i>Megaselia scalaris</i>	<i>Megaselia scalaris</i>
	<i>Megaselia</i> sp.	
	<i>Rivellia</i> sp.	
	<i>Blaesoxipha</i> sp.	<i>Blaesoxipha plinthopyga</i>
Platystomatidae		
Sarcophagidae	<i>Peckia intermutans</i>	<i>Peckia intermutans</i>

Somatiidae	<i>Peckia australis</i> <i>Sarcophaga</i> sp. <i>Oxysarcodexia</i> sp.	<i>Peckia australis</i> <i>Sarcophaga triplasia</i> <i>Oxysarcodexia carvalhoi</i>
Sphaeroceridae	<i>Spelobia</i> sp. <i>Pterogramma</i> sp.	<i>Spelobia frustrilabris</i> <i>Opacifrons convexa</i>
Ulidiidae	<i>Notogramma</i> sp.	

a) Especies de dípteros necrófilos determinadas para cada familia por medio de taxonomía integradora.

En la determinación de especies de dípteros necrófilos, el uso de la taxonomía integradora ayudó más en familias poco estudiadas, por lo que es difícil su identificación hasta nivel de especie. En el caso de las familias Drosophilidae, Micropezidae y Sarcophagidae ayudó a identificar casi el doble de las especies determinadas únicamente con morfología (figura 17), de igual forma para la familia Phoridae las especies identificadas con ayuda de la información molecular presentaron valores más altos que sólo identificándolas con morfología. Sin embargo, para la familia Calliphoridae y Muscidae el uso de la taxonomía integradora no aumentó las identificaciones que ya se habían hecho con las claves taxonómicas, esto podría deberse a que hay mayor disponibilidad de claves morfológicas. Las familias Chloropidae, Fanniidae, Milichiidae, Neriidae y Sphaeroceridae, presentaron la misma cantidad de especies determinadas con la información morfológica y molecular, obteniendo identificaciones robustas para estas familias ya que hubo coherencia en ambas identificaciones.

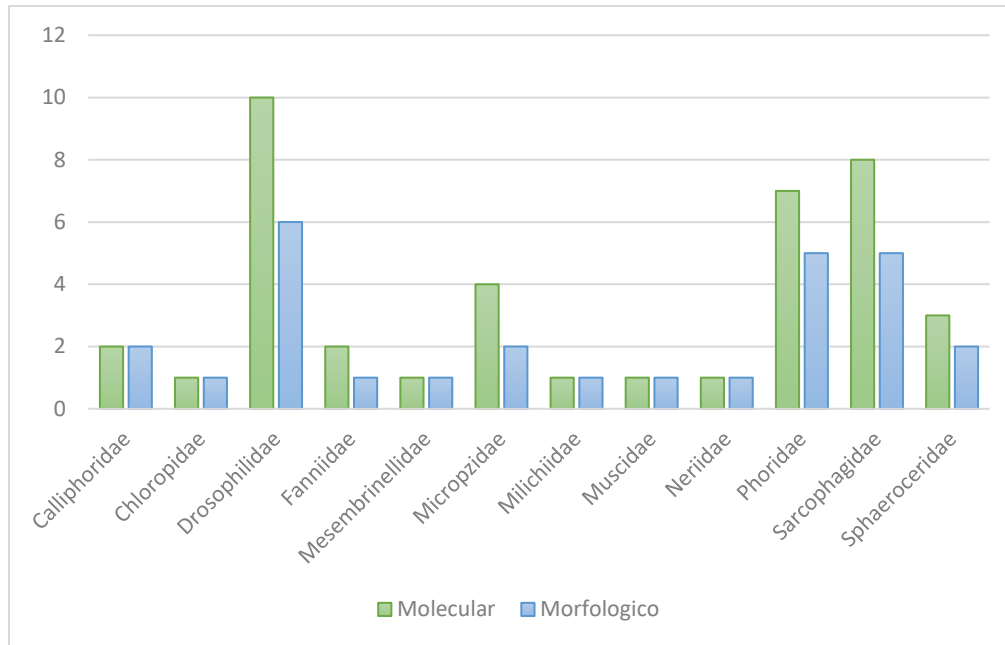


Figura 17. Número de especies determinadas haciendo uso de los enfoques moleculares.

También se analizó el número de especies de dípteros necrófilos determinadas para cada familia (tabla 7) excluyendo los casos donde no fue posible utilizar la información molecular debido a fallas en la extracción, como se muestra en la figura 18. En este caso algunos individuos de la familia Calliphoridae, Muscidae y Mesembrinellidae fueron mejor identificadas con uso de la información morfológica.

Tabla 7. Valores dados para el análisis de la determinación de especies, excluyendo las especies que no amplificaron.

Familia	Especie	Morfológico	Molecular
Calliphoridae	<i>Cochliomya macellaria</i>	1	1
	<i>Compsomyiops callipes</i>	1	0
	<i>Chrysomya rufifacies</i>	1	0
	<i>Chloroprocta ideoidea</i>	1	0
	<i>Lucilia sericata</i>	1	0
	<i>Paralucilia paraensis</i>	0	1
	Chloropidae	<i>Liohippelates</i> sp.	1
<i>Liohippelates bishoppi</i>		0	1
Drosophilidae	<i>Zaprionothrica</i> sp.	1	0
	<i>Drosophila</i> sp. 1	1	0
	<i>Zygothrica</i> sp.	0	1

Familia	Especie	Morfológico	Molecular
	<i>Drosophila hypocausta</i>	0	1
	<i>Drosophila</i> sp. 2	1	1
	<i>Drosophila cardini</i>	0	1
	<i>Leucophenga</i> sp.	1	1
	<i>Leucophenga brevivena</i>	0	1
	<i>Drosophila</i> sp. 3	1	1
	<i>Drosophila neomorfa</i>	0	1
	<i>Stegana</i> sp.	1	1
	<i>Stegana bacilla</i>	0	1
Fanniidae	<i>Fannia</i> sp.	1	1
	<i>Fannia pusio</i>	0	1
Mesembrinellidae	<i>Mesembrinella bicolor</i>	1	0
	<i>Mesembrinella</i> sp.	1	1
Micropezidae	<i>Taeniptera</i> sp.	1	1
	<i>Taeniptera angulata</i>	0	1
	<i>Ptilosphen</i> sp.	1	1
	<i>Ptilosphen cyaneiventris</i>	0	1
Milichiidae	<i>Ulia</i> sp.	1	0
	Milichiidae sp.	0	1
Muscidae	<i>Syntesiomyia nudiseta</i>	1	0
	<i>Syntesiomyia</i> sp.	1	0
	<i>Neomuscina</i> sp.	1	0
	<i>Neomuscina pictipennis</i>	1	1
Neriidae	<i>Oncopsia flavifrons</i>	1	0
	Neriidae sp.	0	1
Phoridae	Phoridae sp.	1	1
	<i>Phalacrotophora</i> sp.	1	1
	<i>Megaselia scalaris</i>	1	1
	<i>Megaselia</i> sp.	1	0
	<i>Diplonevra florea</i>	1	1
	<i>Diplonevra nitidula</i>	0	1
Platystomatidae	<i>Rivellia</i> sp.	1	0
Sarcophagidae	<i>Blaesoxipha</i> sp.	1	1
	<i>Blaesoxipha plinthopyga</i>	0	1
	<i>Peckia intermutans</i>	1	1
	<i>Peckia australis</i>	1	1
	<i>Sarcophaga</i> sp.	1	1
	<i>Sarcophaga triplasia</i>	0	1
	<i>Oxysarcodexia</i> sp.	1	1
	<i>Oxysarcodexia carvalhoi</i>	0	1
Somatiidae	Somatiidae	1	0

Sphaeroceridae	<i>Spelobia</i> sp.	1	1
	<i>Spelobia frustrilabris</i>	0	1
	<i>Pterogramma</i> sp.	1	0
	<i>Opacifrons convexa</i>	0	1
Ulidiidae	<i>Notogramma</i> sp.	1	0

Se incluyeron los datos de las familias Platystomatidae, Somatiidae y Ulidiidae, aun cuando no se obtuvieron sus secuencias. En este caso, aumento el valor de la determinación morfológica de especies para las familias Calliphoridae, Mesembrinellidae, Muscidae y Phoridae ya que algunos de sus taxones se identificaron únicamente con caracteres morfológicos.

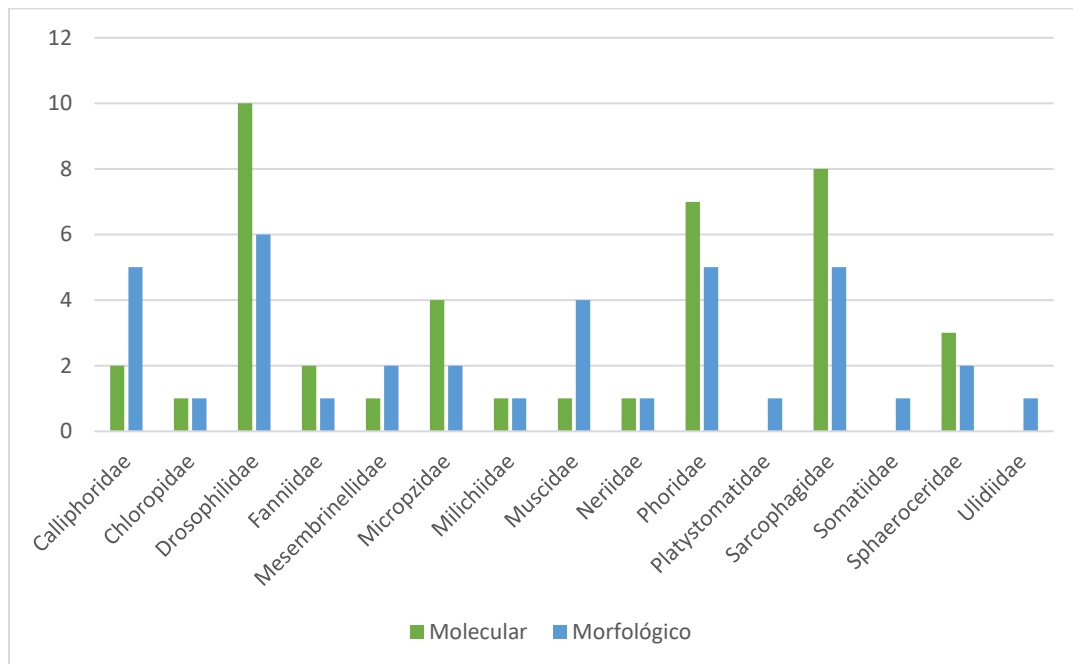


Figura 18. Número de especies determinadas incluyendo información molecular.

- **Utilidad de los diferentes enfoques para la delimitación de especies.**

Se evaluó la utilidad de los enfoques morfológicos y moleculares para identificar especies de dípteros necrófilos. Se asignaron valores (tabla 8) con el fin de analizar

la eficacia de las determinaciones por especie haciendo uso de los diferentes enfoques.

Tabla 8. Valores dados para análisis de utilidad en el uso de la información morfológica y molecular.

Familia	Especie	Morfológico	Molecular
Calliphoridae	<i>Cochliomya macellaria</i>	1	1
	<i>Comptosomyiops callipes</i>	1	0
	<i>Paralucilia paraensis</i>	0	1
Chloropidae	<i>Liohippelates</i> sp.	1	0
	<i>Liohippelates bishoppi</i>	0	1
Drosophilidae	<i>Drosophila hypocausta</i>	1	1
	<i>Drosophila</i> sp. 1	1	0
	<i>Zygothrica</i> sp.	0	1
	<i>Drosophila</i> sp. 2	1	1
	<i>Drosophila cardini</i>	0	1
	<i>Leucophenga</i> sp.	1	1
	<i>Leucophenga brevivena</i>	0	1
	<i>Drosophila</i> sp. 3	1	1
	<i>Drosophila neomorfa</i>	0	1
<i>Stegana</i> sp.	1	1	
Fanniidae	<i>Fannia</i> sp.	1	1
	<i>Fannia pusio</i>	0	1
Mesembrinellidae	<i>Mesembrinella</i> sp.	1	1
Micropezidae	<i>Taeniaptera</i> sp.	1	1
	<i>Taeniaptera angulata</i>	0	1
	<i>Ptilosphen</i> sp.	1	1
	<i>Ptilosphen cyaneiventris</i>	0	1
Milichiidae	<i>Ulia</i> sp.	1	0
	<i>Milichiidae</i> sp.	0	1
Muscidae	<i>Neomuscina pictipennis</i>	1	1
Neriidae	<i>Oncopsia flavifrons</i>	1	0
	<i>Neriidae</i> sp.	0	1
Phoridae	<i>Phoridae</i> sp. 1	1	1
	<i>Phoridae</i> sp.	0	1
	<i>Phalacrotophora</i> sp.	0	1
	<i>Megaselia scalaris</i>	1	1
	<i>Megaselia</i> sp.	1	0
	<i>Phalacrotophora</i> sp.	1	1
	<i>Diplonevra florea</i>	1	1
	<i>Diplonevra nitidula</i>	0	1

Familia	Especie	Morfológico	Molecular
Sarcophagidae	<i>Blaesoxipha</i> sp.	1	1
	<i>Blaesoxipha plinthopyga</i>	0	1
	<i>Peckia intermutans</i>	1	1
	<i>Peckia australis</i>	1	1
	<i>Sarcophaga</i> sp.	1	1
	<i>Sarcophaga triplasia</i>	0	1
	<i>Oxysarcodexia</i> sp.	1	1
	<i>Oxysarcodexia carvalhoi</i>	0	1
Sphaeroceridae	<i>Spelobia</i> sp.	1	1
	<i>Spelobia frustrilabris</i>	0	1
	<i>Pterogramma</i> sp.	1	0
	<i>Opacifrons convexa</i>	0	1

Con los resultados obtenidos en el análisis de delimitación de especies (figura 19). La información molecular aumentó en un 58% el número de especies estimado, pues utilizando exclusivamente la información morfológica se logró identificar un 39% del total de las especies reales. Por otro lado, incluyendo los datos moleculares se pudo estimar un 61% de especies, por lo que la información molecular ayudó a estimar casi el doble de los resultados obtenidos mediante los enfoques morfológicos.

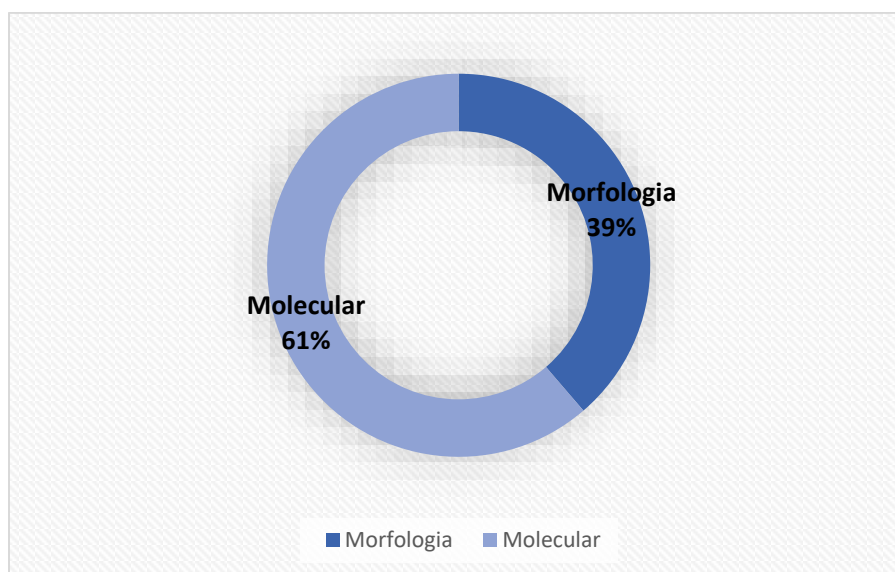


Figura 19. Utilidad de los diferentes enfoques morfológicos y moleculares para determinar especies de dípteros necrófilos.

2. ABUNDANCIA RELATIVA DE FAMILIAS DE DÍPTEROS NECRÓFILOS EN LAS DIFERENTES LOCALIDADES.

Se estimó la abundancia relativa de dípteros necrófilos en cada familia que se encontró en la RBTLT y en el JBHBH (figura 20). En la EBTLT la familia Muscidae fue la más abundante, seguida por la familia Phoridae y Drosophilidae. Para el JBHBH la familia con mayor abundancia fue la familia Phoridae seguida de Calliphoridae y Drosophilidae. La familia Muscidae fue la más abundante en este estudio.

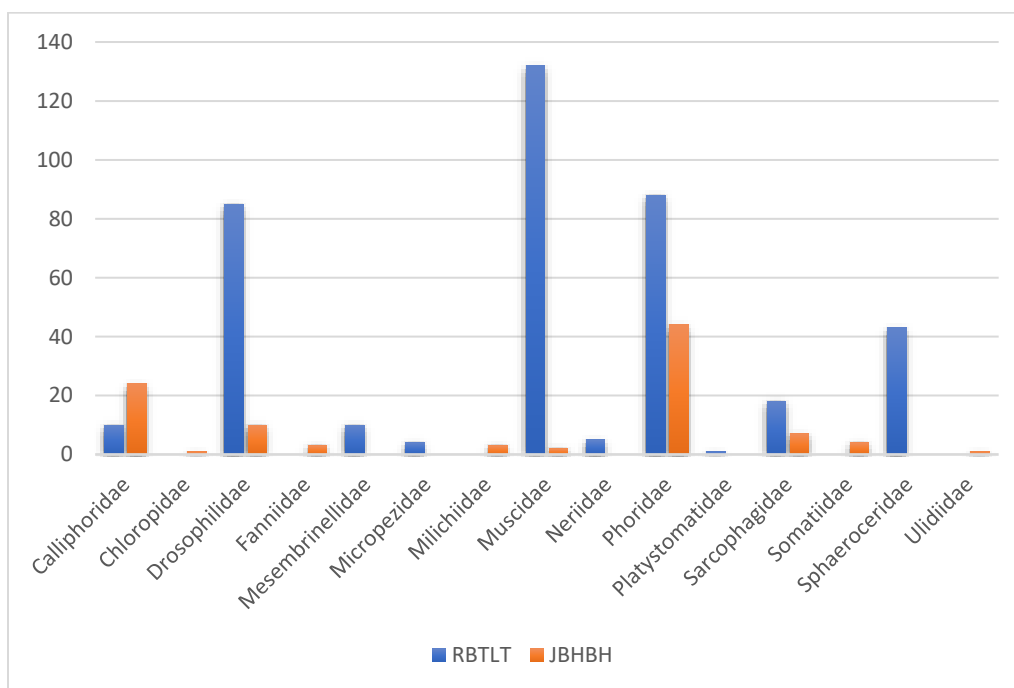


Figura 20. Abundancia relativa por familia de dípteros necrófilos para las diferentes localidades; EBTLT: Reserva de Biología Tropical “Los Tuxtlas”; JBHBH: Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”.

Dentro de las 15 familias identificadas, las familias Chloropidae, Fanniidae, Milichiidae, Somatiidae y Ulidiidae fueron exclusivas para el JBHBH. Las familias Mesembrinellidae, Micropezidae, Neriidae, Platystomatidae y Sphaeroceridae sólo se presentaron en la EBTLT, así como las familias Calliphoridae, Drosophilidae, Phoridae y Sarcophagidae compartieron especies en ambas localidades (figura 21).

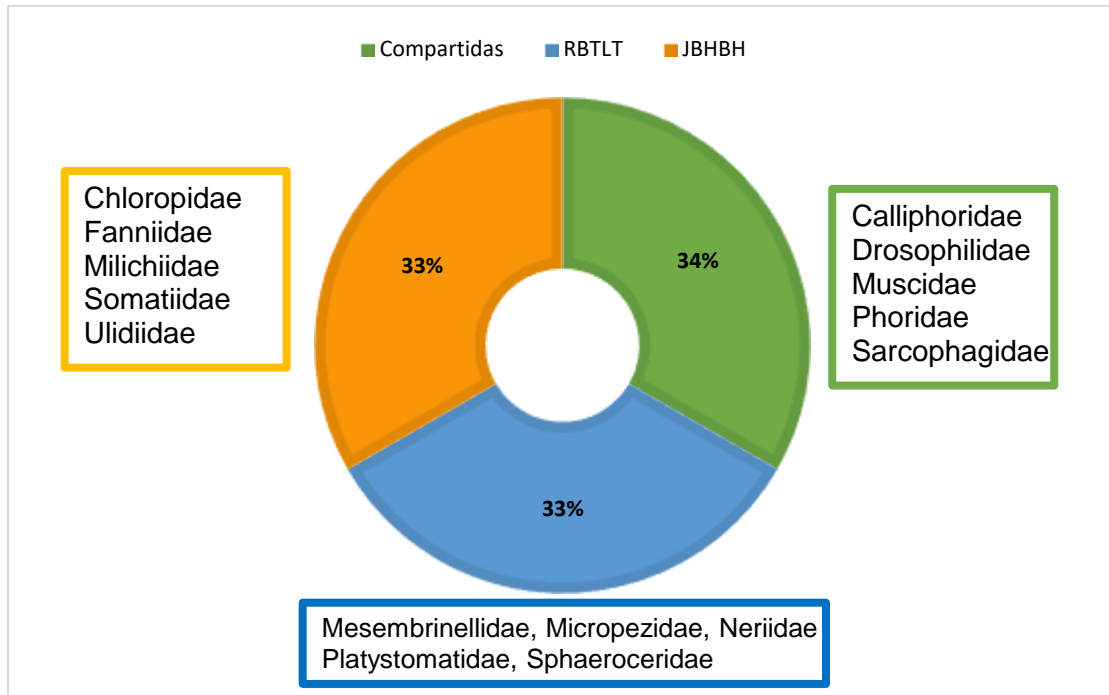


Figura 21. Número de familias exclusivas y compartidas presentes en las diferentes localidades. EBTLT: Reserva de Biología Tropical “Los Tuxtlas”; JBHBH: Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”.

3. RIQUEZA ESPECÍFICA

En cuanto a la abundancia de especies, se estimó la riqueza específica para cada localidad, así como la compartida. La EBTLT presentó mayor número de especies exclusivas (22), por el contrario, el JBHBH presentó casi la mitad de lo reportado para la EBTLT, observando 12 especies exclusivas. En este caso, nueve especies estuvieron presentes en ambas localidades (figura 22). De forma general, la EBTLT presentó 396 individuos y el JBHBH, 99 individuos incluidos en diferentes familias.

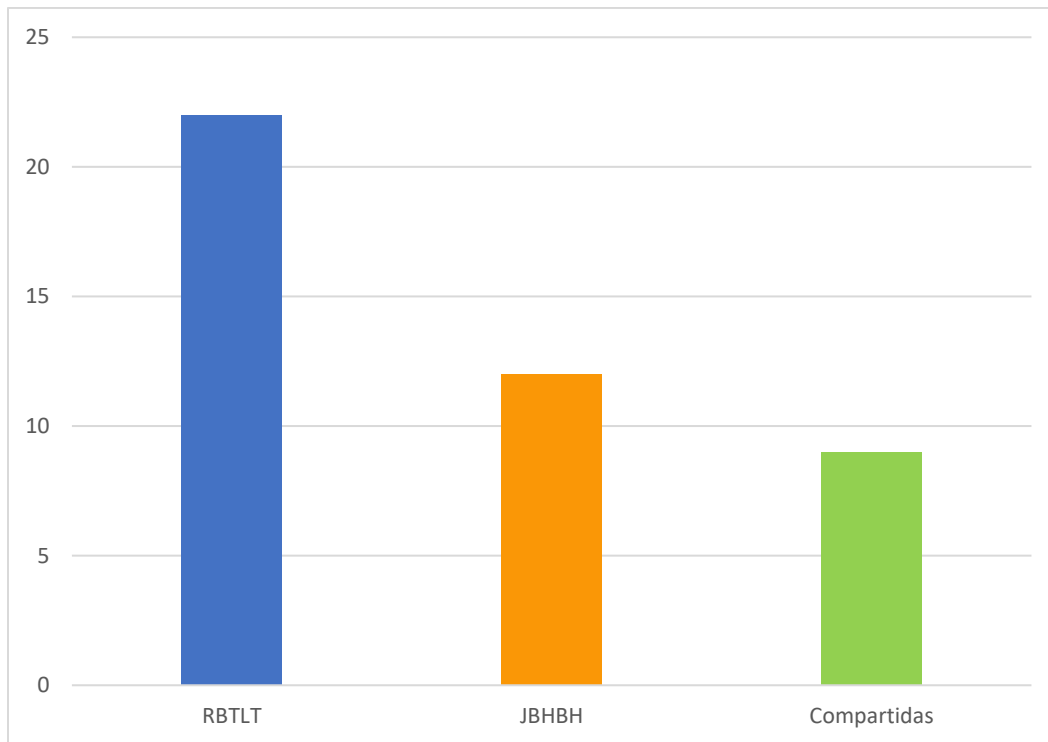


Figura 22. Número de especies exclusivas por localidad, así como especies compartidas de dípteros necrófilos en la EBTLT: Reserva de Biología Tropical “Los Tuxtlas” y JBHBH: Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”.

En el caso del JBHBH (figura 23) se encontró que la especie más abundante fue *C. macellaria*, con 22 individuos, perteneciente a la familia Calliphoridae, seguida de *Megaselia* sp. con 14 individuos y 11 de *Phoridae* sp. ambas correspondientes a la familia Phoridae. Así mismo las menos abundantes fueron *Liohippelates* sp., perteneciente a la familia Chloropidae, *Oxysarcodexia* sp. y *Peckia* sp. de la familia Sarcophagidae, *Notogramma* sp., de la familia Ulidiidae y *Stegana* sp. de la familia Drosophilidae.

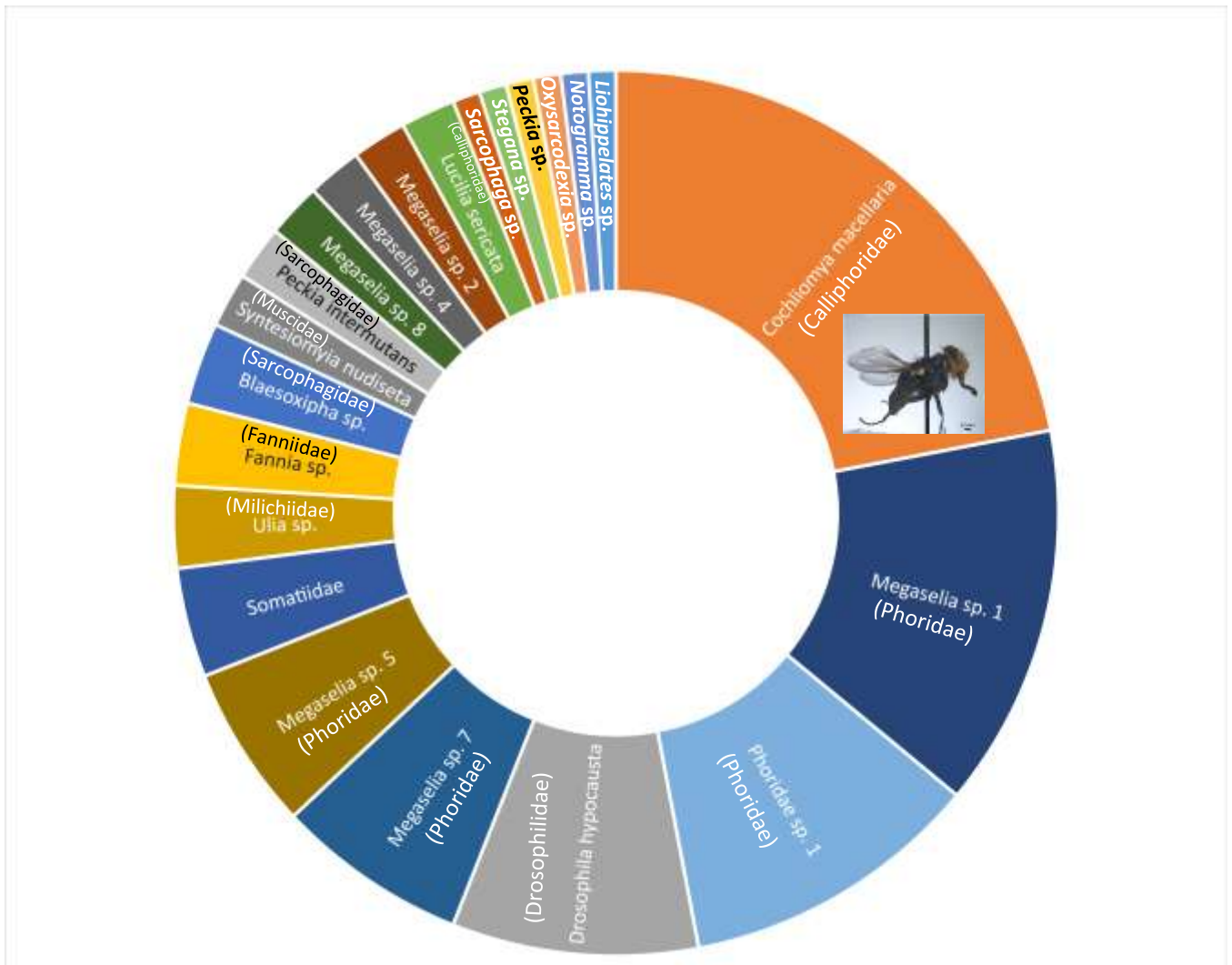


Figura 23. Abundancia de especies de dípteros necrófilos presentes en el JBHBH: Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis”. Entre parentesis se muestran las familias a las que corresponde cada especie.

En cuanto al análisis de abundancia relativa, en la EBTLT (figura 24) se encontró que la especie más abundante fue *N. pictipennis* con 122 individuos dentro de la familia Muscidae, seguida de *Drosophila* sp. 2 con 43 individuos dentro de la familia Drosophilidae y *Stegana* sp. de la familia Sphaeroceridae con 42 individuos. Las especies menos abundantes con sólo un individuo (figura 24) fueron: *Chloroprocta ideoidea*, *Compsomyiops callipes*, *Diplonevra florea*, *Drosophila* sp. 1, *Megasella scalaris*, *Megasella* sp. 9, *Peckia australis*, *Phalacrotophora* sp., *Pterogramma* sp., *Ptilosphen* sp., *Rivellia* sp., *Sarcophaga* sp.

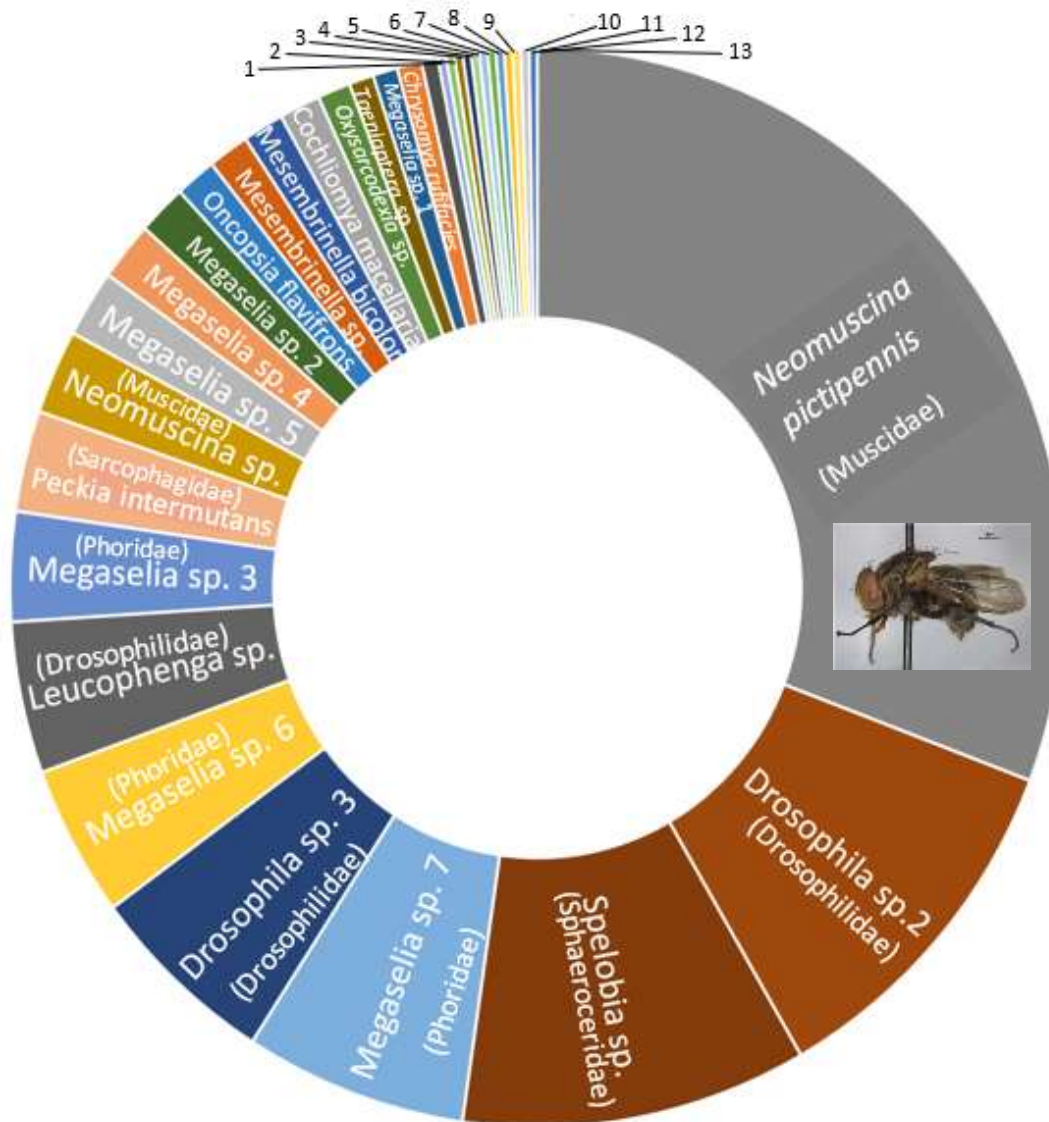


Figura 24. Abundancia relativa de especies presentes en la EBTLT: Reserva de Biología Tropical “Los Tuxtles”. 1: *Chloroprocta ideoidea*, 2: *Compsomyiops callipes*, 3: *Diplonevra florea*, 4: *Drosophila* sp. 1, 5: *Megaselia scalaris*, 6: *Megaselia* sp. 9, 7: *Peckia australis*, 8: *Phalacrotophora* sp., 9: *Pterogramma* sp., 10: *Ptilosphen* sp., 11: *Rivellia* sp., 12: *Sarcophaga* sp. 13: *Notogramma* sp. Entre paréntesis se muestra la familia a la que corresponde cada especie.

4. DIVERSIDAD DE ESPECIES.

Los índices de diversidad llevados a cabo (tabla 9) indican que el JBHBH presentó valores ligeramente más altos en comparación con la EBTLT: Simpson (0.894 vs 0.865), Shannon (2.583 vs 2.582). En el caso de la Equitatividad de Pielou's (0.630 vs 0.388) fue mayor para el JBHBH; sin embargo, los valores de

Chao-1 (22.4 vs 67) fueron más altos para la EBTLT utilizando información molecular.

Tabla 9. Comparación de los índices de diversidad para las localidades JBHB y EBTLT incluyendo sólo datos moleculares.

	Con info.molecular			
	JBHBH	EBTLT	JBHBH	EBTLT
Taxones	21	34	11	20
Individuos	99	396	58	293
Dominancia	0.106	0.1347	0.2212	0.223
Simpson 1-D	0.894	0.8653	0.7788	0.777
Shannon-H	2.583	2.582	1.839	1.966
Equitatividad e^H/S	0.6302	0.3889	0.5716	0.3572
Chao-1	22.43	67	14	48

Los valores calculados para la diversidad β como lo muestra la tabla 10, representan la diferencia de diversidad entre ambas localidades en un 0.70909, con una tasa de especies ganadas según el índice de Cody (19.5), dado por Wilson-Shmida de 0.7909. Se encontró un grado de solapamiento (0.20121) entre las especies presentes de cada localidad según el índice de Routledge, incluyendo un total de 55 taxones y de 41 taxones identificados con información molecular.

Tabla 10. Diversidad β de dípteros necrófilos en dos localidades, EBTLT y JBHBH incluyendo sólo datos moleculares.

Diversidad β global		Con info.molecular
Whittaker:	0.70909	0.74194
Cody:	19.5	11.5
Routledge:	0.20121	0.20478

5: ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP):

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) para evaluar el ordenamiento de las especies en función de las variables, que en este caso son

las localidades de muestreo la EBTLT y el JBHBH (tabla 11), así como analizar dicho ordenamiento en relación con los factores ambientales por localidad.

Tabla 11: Valores obtenidos en el ACP para los datos de abundancia de especies vs localidad.

Localidad	Loadings		Autovalor	% Varianza
	PC 1	PC 2		
JBHBH	-0.023047	0.99973	386.881	17.8576
EBTLT	0.99973	0.023047	95.588	4.4121

Se realizó una gráfica de dispersión (figura 25) para analizar cómo se acomodan las especies en relación con el comportamiento de las localidades. Las especies se ordenaron según su abundancia relativa ya que las más abundantes fueron las que presentaron valores más altos en su componente (localidad) correspondiente, esto concuerda con los datos de abundancia relativa por especies (figura 23 y 24). Lo anterior concuerda con los datos obtenidos con los índices de diversidad y abundancia relativa.

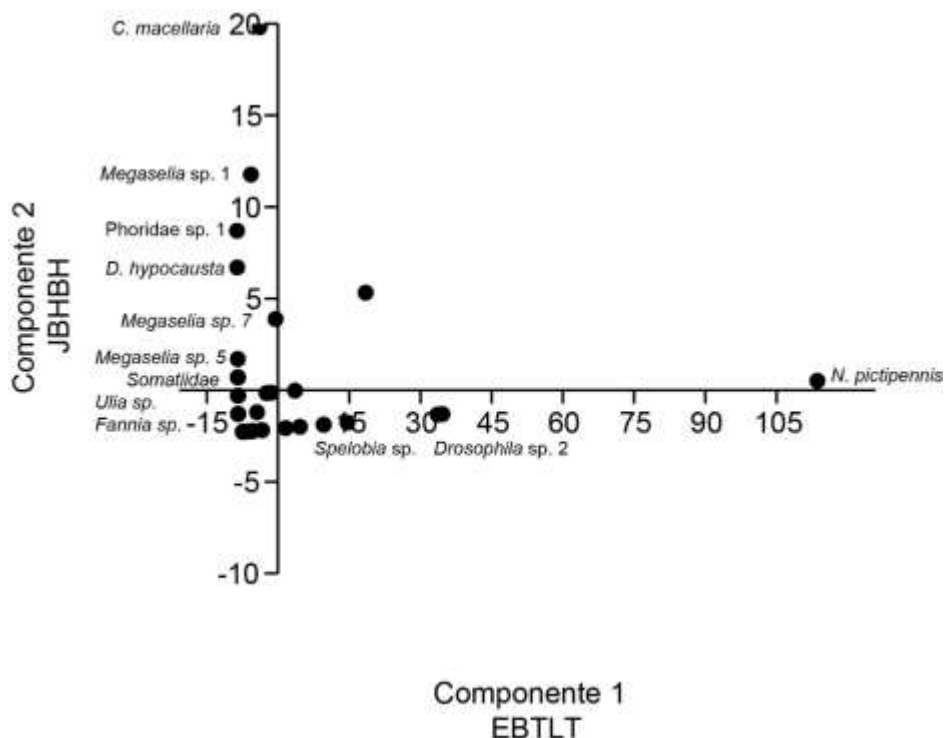


Figura 25: Gráfica de dispersión sobre la abundancia relativa de especies con respecto de las localidades: EBTLT (eje X, componente 1) y JBHBH (eje Y, componente 2). Donde se observa el ordenamiento de las especies con respecto de cada localidad.

El ACP se realizó primordialmente para observar el ordenamiento de las especies determinadas en los sitios de muestreo (figura 26), observando que aquellas especies más abundantes en cada localidad como lo son: *Neomuscina pictipennis* y *Cochliomyia macellaria* fueron las especies más importantes para cada sitio respectivamente, siendo ordenadas según su abundancia relativa.

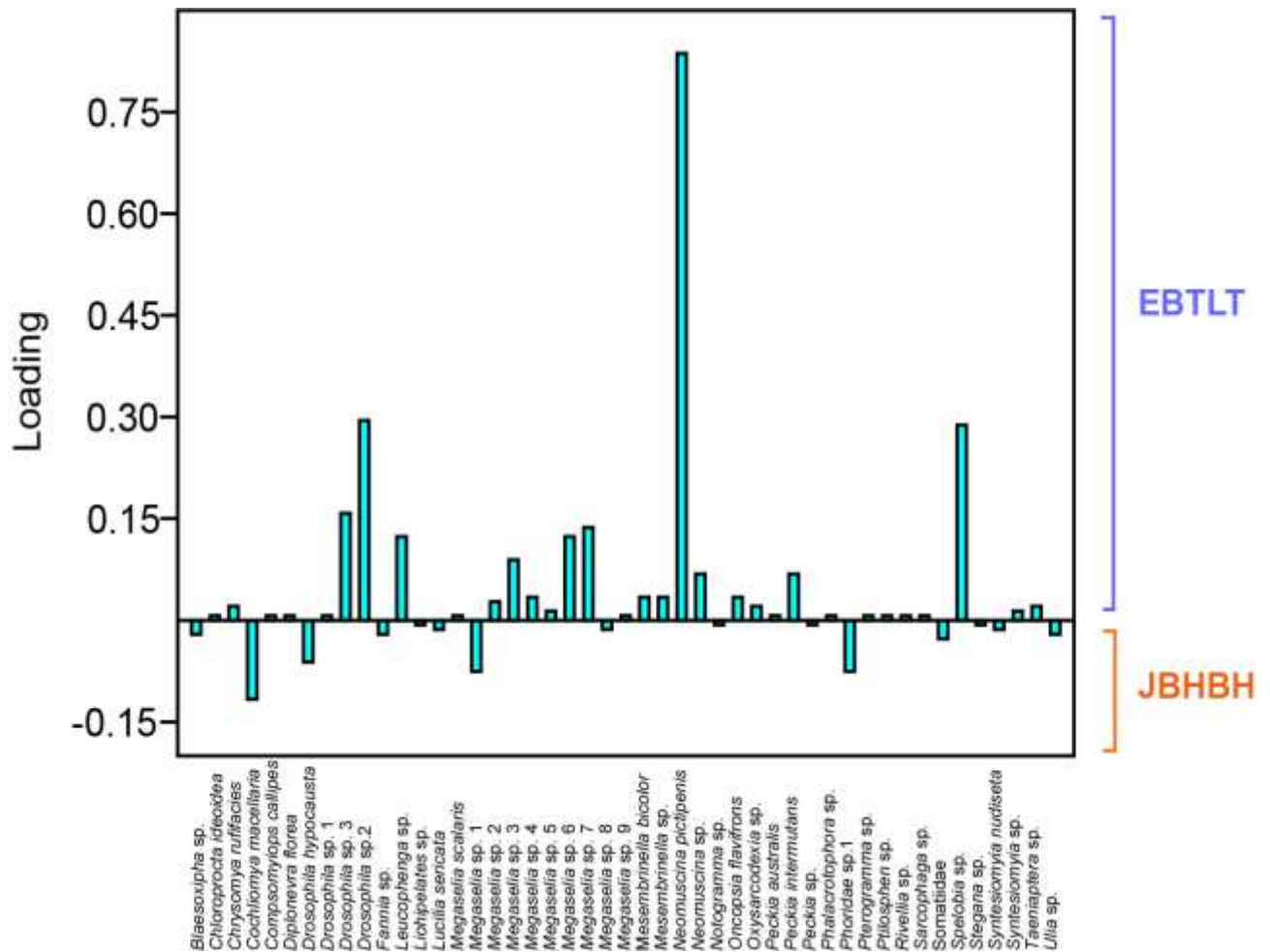


Figura 26: Gráfica de cargas obtenidas con ACP de la abundancia relativa de las especies en relación con las localidades de muestreo: Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” (EBTLT), Jardín Botánico “Helia Bravo Hollis” (JBHBH).

Se tomaron en cuenta los datos de las variables ambientales obtenidas por mes y por día de muestreo para cada localidad (tabla 12), con el fin de analizar la variación que puede influir en la riqueza de insectos. De esta forma se pueden explorar los datos ambientales obtenidos y evaluar las diferencias ecológicas de cada localidad. Se observaron altos valores de radiación solar máx. (kWh/),

velocidad del viento promedio (km/h) y distancia a un potrero (km) en el JBHBH con los datos mensuales y por día. Sin embargo, la precipitación acumulada y la T°C máx. fueron mayores el día de muestreo. Con respecto a la EBTLT los valores más altos fueron en la T°C mín., T°C. prom., T°C máx., presión atmosférica (mBar), precipitación acumulada (mm) y humedad promedio (%), también fue mayor la distancia a una zona urbana (km).

Tabla 12. Datos de los distintos factores ambientales en los sitios de muestreo: EBTLT: Reserva de Biología Tropical "Los Tuxtlas"; JBHBH: Jardín Botánico "Helia Bravo Hollis".

	Datos mensuales		Datos por día	
	EBTLT	JBHBH	EBTLT	JBHBH
T° mínima (° C)	16.65	12.17	17.2	12.3
T° promedio (° C)	20.89	18.17	19.18	18.05
T° máxima (° C)	28.16	24.81	22.3	27.9
Humedad promedio (%)	97.79	72.82	93.19	69.88
Precipitación acumulada (mm)	4.09	1.27	24	28.2
Radiación solar máx. (kWh)	775.53	1002	394	978
Presión atmosférica (mbar)	966.99	748.54	1001.6	828.55
Velocidad viento prom. (km/h)	1.9	13.56	2.2	7.55
Dist. Zona urbana (km)	10.2	1	10.2	1
Dist. Potrero (km)	0.6	0.7	0.6	0.7

9. DISCUSIÓN

1. DELIMITACIÓN DE ESPECIES

a) Identificación morfológica de dípteros necrófilos

En varios casos la identificación de los taxones por medio de enfoques morfológicos se vio limitada. En la identificación de las especies de varias familias sólo se identificó el género y en algunas otras sólo la familia como en el caso de la familia Somatiidae, debido a la falta de herramientas morfológicas para su identificación o en el caso la corroboración de las especies, caso al que muchos taxónomos, aun siendo expertos se enfrentan (Peraza-Padilla *et al.*, 2013).

b) Identificación molecular de dípteros necrófilos

Dentro de las 15 familias encontradas en el muestreo, se logró identificar 21 taxones hasta género y 6 especies exclusivamente con información morfológica: *Chrysomya rufifacies*, *Syntesiomyia nudiseta* *Syntesiomyia* sp., *Rivellia* sp., una especie correspondiente a la familia Somatiidae y *Notogramma* sp. Esto se debió posiblemente a la baja concentración de ADN en las muestras o en su defecto, a la degradación de este, por lo que no fue posible delimitar molecularmente estas especies. Una situación similar la reporta Rodríguez-Romero *et al.*, (2011) pues menciona que a menudo existen problemas con el rendimiento y la calidad del ADN obtenido, encontrándose posibles contaminantes, degradaciones parciales del ADN, así como protocolos de extracción consumidores de tiempo.

Calliphoridae

Uno de los casos excepcionales fue el observado en la familia Calliphoridae, ya que hay mayor accesibilidad de claves en la identificación de los individuos. Según Téllez (2018), reportó a *Cochliomya macellaria* y *Chrysomya rufifacies* en el Valle de México, especies que de igual manera en el presente estudio se determinaron haciendo uso del método de congruencia. Sin embargo, en México no se han realizado claves para la región ni trabajos de barcoding en el JBHBH o en la EBTLT, siendo éste el primero en hacerlo. Es por ello por lo que las secuencias

recuperadas se dejan disponibles, pues se sabe que *Cochliomyia macellaria* y *Chrysomya rufifacies* son de importancia forense, lo cual concuerda con Stephano-Vera *et al.*, (2009) pues las reporta en 14 de 37 de los casos forenses que intervinieron, lo cual confirma su hábito necrófilo y su importancia en la estimación del IMP, ya que son de las especies más comunes de encontrar en los cadáveres.

Chloropidae

Dentro de la familia Chloropidae se identificó el género *Liohippelates*; sin embargo, no se pudo determinar la especie ya que este género presenta especies parasitarias, las cuales han dejado grandes pérdidas económicas, por lo que la mayoría de los estudios se centran en el daño sanitario que causan y no en describir correctamente a las especies, como los llevado a cabo por Tondella *et al.*, (1994) y Machtinger & Kaufman, (2011); lo cual ayudaría a identificarlas y de esta manera dejar disponibles secuencias para su consulta.

Drosophilidae

Al igual que la familia Calliphoridae, la familia Drosophilidae es una de las más estudiadas, por lo que la disponibilidad de claves para las especies es mayor. En el presente estudio el género *Drosophila* se encontró asociado a materia orgánica en descomposición, caso parecido a lo reportado por Sawaby *et al.*, (2018) en donde describe las características diacríticas del género, pero no de las especies. Sin embargo, hacen falta trabajos de descripción de especies para la región, tomando en cuenta que estas descripciones estén validadas y completas, así como puedan corroborarse haciendo uso de la información morfológica y molecular para lograrlo.

Fanniidae

La identificación de las morfoespecies de la familia Fanniidae se llevó a cabo sólo con la clave disponible en Brown *et al.*, (2009) ya que en la mayoría de las claves describen machos, como el llevado a cabo por Durango & Ramírez-Mora

(2019) describen 5 nuevas especies para Colombia, pero sólo lo hacen con machos, restringiendo la utilidad de sus claves para esa región y para individuos masculinos.

Mesembrinellidae

La identificación de la especie *Mesembrinella bicolor* por medio de taxonomía integradora se corrobora por Whitworth (2019) pues reporta a la misma especie para México haciendo uso de datos morfológicos y moleculares. Sin embargo, no hay trabajos de este tipo exclusivamente para la región, por lo que se propone realizar más estudios acerca de la familia Mesembrinellidae, incluyendo marcadores nucleares para corroborar las relaciones filogenéticas dentro de esta familia, así como determinar si la variación genética encontrada dentro de las especies es intraespecífica o representa varias especies crípticas; conclusión a la que también llega Whitworth (2019).

Micropezidae

Las morfoespecies de la familia Micropezidae se identificaron hasta género ya que la identificación de las especies en esta familia es problemática y muchos géneros aún necesitan revisión lo que coincide con lo reportado por Ferro & de Carvalho (2014), donde describen los géneros *Taeniptera* y *Ptilosphen*, pero sólo enlista sus especies. Con lo anterior, concluye que se necesita actualización de claves, así como realizar estudios robustos a familias poco conocidas.

Milichiidae

La misma problemática que en la identificación de especies reportadas, también se presentó para determinar especies de la familia Milichiidae, pues la poca disponibilidad de claves hace que las determinaciones no sean más allá del género *Ulia*, ya que se sabe muy poco sobre la biología de la mayoría de ellas. Además, son poco comunes en las colecciones y falta descripción de taxones presentes en el trópico como también lo menciona Sabrosky (2016).

Muscidae

En el caso de la determinación de las especies de la familia Muscidae no resulto complicado, ya que es una de las familias más conocidas. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre esta familia no aportan nuevas descripciones y se centran sólo en algunas especies como *Syntesiomyia nudiseta*. Una situación similar reporta (Grzywacz *et al.*, 2017) ya que mencionan en varios estudios que debido a problemas de identificación, se hace referencia a Muscidae solamente a nivel de género. Sin embargo, la correcta identificación de *Syntesiomyia nudiseta* no deja de ser útil pues es una especie con relevancia en el enfoque forense, ya que es útil en la estimación del IPM, como también lo reporta Stephano-Vera *et al.*, (2009), pues mencionan su presencia en casos forenses.

Neriidae

Oncopsia flavifrons (Glyphidops) especie perteneciente a la familia Neriidae, también ha sido reportada por Mondragón & Gironza, (2016) en Colombia. Sin embargo, hacen falta estudios de descripción de especies para México. Así como, complementar los estudios con información molecular, pues en este caso, *Oncopsia flavifrons* (Glyphidops), se alinea con el taxa de referencia Neriidae sp., haciendo notar esta falta de secuencias en GenBank. De la misma forma que en el presente estudio, se debe dejar disponible la secuencia de identificación y registro geográfico de la especie, para futuros trabajos de dípteros necrófilos que lo necesiten.

Platystomatidae

La identificación del género *Rivellia*, perteneciente a la familia Platystomatidae, en este estudio al igual que lo reportado por Bodner & Freidberg (2016) se menciona que las claves disponibles más actualizadas, son para la región paleártica y sólo a nivel de género. Por ejemplo, casi todas las especies paleárticas son conocidas de Asia (particularmente en China y Corea), y sólo dos especies de Europa. Ya que es una familia poco estudiada, pues la biología y ecología de los Platystomatidae, especialmente en términos de historia de vida, son poco conocidos

(Bodner & Freidberg, 2016). En este caso, se deja disponible la secuencia de la OTU recuperada, herramienta que sería útil todos los demás estudios proporcionaran, de esta forma hacer corroboraciones de especies y analizar su distribución geográfica.

Phoridae y Somatiidae

En el caso de las morfoespecies pertenecientes a la familia Phoridae y Somatiidae, sólo se logró identificar a estas hasta familia. Para las morfoespecies de la familia Phoridae no fue posible identificar el género al que correspondían debido a su estado de conservación y a que no se contaba con machos para los cuales están realizadas la mayoría de las claves taxonómicas. Además, para el género *Megaselia* no fue posible identificar los individuos hasta especie ya que no hay claves disponibles para todo el territorio, en este caso para México. Debido a lo anterior, varios estudios han decidido excluir al género dentro de sus análisis, como el llevado a cabo en Andorra, España por Carles-Tolrà (2007) pues menciona que es un género muy diverso y las claves disponibles no son tan confiables. Con respecto a la familia Somatiidae sólo se pudieron revisar los organismos haciendo uso de la clave de Brown *et al.*, (2009), en la cual no hay descripción del organismo que se tenía. Según lo reportado por Carvalho-Filho (2017) para la región tropical solo hay 7 especies descritas para un género, *Somatia*, por lo que concluye que la información acerca de la biología de la familia Somatiidae es desconocida, lo cual se rectifica en este estudio pues en la búsqueda de claves para el Neotrópico o mínimamente para especies de la familia, no se obtuvieron resultados, de la misma forma en la obtención de secuencias, hubieron fallas en la extracción lo cual impidió obtener una secuencia limpia.

Sarcophagidae

Una de las familias con mayor atención en estudios de fauna necrófila, es la familia Sarcophagidae, para la cual se han desarrollado buena cantidad de claves. Sin embargo, para México los trabajos sobre su taxonomía son escasos. En el

presente estudio se logró identificar los géneros *Blaesoxipha*, *Sarcophaga*, *Oxysarcodexia* y las especies *Peckia intermutans* y *Peckia australis*, de los cuales *Oxysarcodexia* y *Sarcophaga* también son reportadas por Téllez, (2018) para el Valle de México.

Sphaeroceridae

Existe poco conocimiento acerca de la biología de la familia Sphaeroceridae y hay poca información acerca del género *Spelobia*, que en este caso no se pudo identificar la especie a la que correspondía. Lo anterior, coincide con lo reportado por Tepedino (2016), sugiere que hay más especies no descritas de Sphaeroceridae en la región neotropical que en todas las demás regiones, tomando en cuenta los malos muestreos y la falta de información molecular para este tipo de familias en las cuales ya se cuenta con bastante trabajo taxonómico. En el caso de la secuencia tomada como referencia de *Opacifrons convexa*, estuvo disponible en GenBank sin una publicación, por lo que no es confiable para la determinación de la especie de este estudio.

Ulidiidae

La familia Ulidiidae tiene 700 especies descritas formalmente, en América Central presenta 66 especies y 2 géneros que no están descritos (Kameneva, 2005). Para México, el conocimiento de esta familia es escaso, así como la disponibilidad de claves para la identificación de sus géneros, tal es el caso de *Notogramma*, el cual sólo se pudo identificar haciendo uso de la clave disponible en Brown *et al.*, (2009) ya que no se cuenta con claves para la región.

Otra limitante que se presentó al momento de identificar las especies se debió a la falta de taxónomos especializados en las diferentes familias de dípteros necrófilos como también lo reporta Ibáñez-Bernal, (2017), así como De Jesús-Bonilla *et al.*, (2018) al mencionar el “*taxonomic impediment*” al que se enfrentan los investigadores que llevan a cabo este tipo de estudios.

Falta de actualización de claves y publicaciones

Se han realizado trabajos que utilizan el criterio de congruencia para la identificación de especies en el Neotrópico, como el llevado a cabo por Whitworth y colaboradores (2019) dejando disponible, al igual que el presente estudio, secuencias nuevas para las familias con las cuales se pueden resolver problemáticas filogenéticas. Uno de los casos particulares, es el observado en la familia Mesembrinellidae, ya que anteriormente estaba incluida como subfamilia dentro de la familia Calliphoridae, basándose únicamente en información morfológica para su identificación (Marinho *et al.*, 2017). Sin embargo, publicaciones recientes han propuesto su separación (Whitworth, 2019). En el presente estudio se corrobora que son familias separadas (figura 14 y 16), esto también lo menciona Marinho *et al.*, (2017) uno de los primeros estudios en hacer una filogenia molecular del grupo, con 5 marcadores (ITS2, 28S, COI, COII y 16S), demostrando que la familia Mesembrinellidae es un grupo monofilético dentro de Ostroidea, separado de Calliphoridae.

c) Identificación molecular

Importancia de la información molecular en la estima de la riqueza específica de dípteros necrófilos.

La determinación de las especies utilizando sólo la información morfológica se dificultó debido a la falta de claves taxonómicas para algunas familias, por lo que es necesario hacer uso de herramientas que ayuden en la tarea de estas identificaciones. En el presente estudio la información molecular ayudó en las identificaciones llevadas a cabo sin las cuales no se hubieran corroborado o bien identificado varias especies. La información molecular ayudó en un 58% en la identificación de las especies, mejorando así la estimación de la riqueza específica (figura 17 y 19). Una situación similar fue analizada por Erasmus *et al.*, (2018) en su análisis de géneros de tricópteros, pues logró identificar tres nuevas especies gracias a la aproximación con barcoding, ya que no logró discernir entre géneros

utilizando únicamente la información taxonómica. La información molecular también ayuda en la identificación de especies crípticas (Whitworth, 2019).

Especies crípticas: Las especies crípticas pueden representar una fracción sustancial de la biodiversidad además de servir como un factor integrador del estudio de la taxonomía y el patrón filogenético con el funcionamiento de los ecosistemas, los procesos evolutivos y las tendencias macroevolutivas, como la especiación, la convergencia de paralelismo y la estasis (Struck *et al.*, 2018). Otra importante aportación de la información molecular en las definiciones inconsistentes y en la identificación de especies crípticas contribuye a la comprensión real de la biodiversidad, así como de su importancia evolutiva y ecológica (Struck *et al.*, 2018). Las especies de la familia Drosophilidae, Phoridae y Sphaeroceridae, que son morfológicamente muy similares, la información molecular ayudó a distinguirlas. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Whitworth (2019), pues menciona que los datos del código de barras muestran una variación genética considerable para varias especies que no se refleja en la morfología, lo cual se asocia con especies crípticas.

Cabe destacar que el utilizar la información molecular resultó una herramienta eficaz y confiable ya que aumentó el número de especies determinadas para las familias Drosophilidae, Micropezidae y Sarcophagidae (figura 17 y 18), identificando casi el doble de especies que las estimadas utilizando sólo la información morfológica. De la misma manera que en el presente estudio, Will *et al.*, (2005) refieren que el uso del barcoding es una herramienta rentable para algunas especies conocidas y brinda una idea sobre unidades de nivel de especies adicionales. Por lo que el delimitar especies correctamente haciendo uso de las herramientas moleculares y de forma robusta ayuda en la estimación y comprensión de la biodiversidad (Will *et al.*, 2005).

Limitaciones de la información molecular.

Se observaron casos en los que la información molecular presentó limitaciones en la identificación de especies, por ejemplo, la especie del género *Mesembrinella* no fue posible identificar ya que este género ha sido poco estudiado, por lo que la disponibilidad de secuencias en GenBank también es escasa (Whitworth *et al.*, 2019), caso parecido al observado en las identificaciones de *Uliia* sp. vs *Milichiidae* sp., *Oncopsia flavifrons* vs *Neriidae* sp. y la especie *Phoridae* sp. Esto podría ocurrir porque los individuos analizados potencialmente podrían ser nuevas especies, lo cual es justificado por posibles períodos potencialmente prolongados de hibridación introgresiva, ya que se ha sugerido que un solo código de barras COXI transmitido de forma matrilineal no podría delimitar los taxones de hibridación y se requerirían múltiples marcadores nucleares (Whitworth *et al.*, 2019). En el caso de la separación de las especies del género *Drosophila* hubo dificultad, ya que compartían muchos caracteres morfológicos y resulto complicado delimitarlas de las demás secuencias, esto posiblemente se deba a que estén en proceso de divergencia, dando lugar a la formación de grupos híbridos y dificultar su separación debido a que el marcador molecular que se utiliza no lo detecte ((Wells & Stevens, 2008; Marshall *et al.*, 2011; Téllez, 2018). En algunas ocasiones se puede llegar a amplificar un pseudogen generado por hibridación, lo que conlleva a identificaciones erróneas (Wells & Stevens, 2008). Sin embargo, en este estudio el código de barras de ADN con COXI fue capaz de reflejar los resultados logrados con GMYC, además marca inmediatamente el intercambio de haplotipos entre especies fenotípicamente distintas, así como invita a utilizar otros marcadores adicionales para la corroborar las identificaciones (Baker *et al.*, 2009; Whitworth *et al.*, 2019).

d) Especies de dípteros necrófilos determinadas por medio de taxonomía integradora.

El uso de la taxonomía integradora en el presente estudio ayudó a identificar 13 especies incluidas en los 21 organismos que coincidieron al menos en el género.

Esto se debe a la limitada disponibilidad de claves taxonómicas para la identificación de familias altamente diversas y poco estudiadas. Sin embargo, gracias a la información molecular fue posible identificar varias especies, en algunos casos corroborar el género y la familia a la que correspondían (Hebert, 2003; Carles-Tolrá, 2007; Téllez 2018). Se determinaron morfológicamente 21 taxones hasta género, así como 14 especies. Con ayuda a la información molecular se obtuvo un total de tres secuencia a familia, tres a género y 22 a especie. En general, tomando en cuenta las determinaciones en donde al menos el género coincidió haciendo uso de ambas herramientas, se identificaron 22 taxones. Esto represento la posibilidad de delimitar 58% del número de especies presentes gracias al trabajo conjunto de la información morfológica y molecular.

Casos de inconsistencia en la determinación de especies de dípteros necrófilos bajo el criterio de congruencia.

Dentro de la familia Calliphoridae y Drosophilidae se observó la delimitación de OTUS en donde las secuencias no correspondían con las descripciones morfológicas. Tal es el caso de *Compsomyiops callipes* vs *Paralucilia paraensis*. Se hizo una nueva identificación taxonómica de *Compsomyiops callipes*, llegando a la misma especie en ambas revisiones con diferentes claves, por lo que posiblemente existan errores en la publicación de la secuencia *Paralucilia paraensis*. Caso parecido ocurrió en la determinación de *Drosophila* sp.1 vs *Zygothrica* sp. de la familia Drosophilidae, pues el individuo se revisó varias veces haciendo uso de la clave disponible en Brown *et al.*, (2009), la cual describe al género *Zygothrica* con una proboscis sobresaliente y la carina facial bulbosa, estas características no fueron observadas en el organismos con el que se estaba trabajando, por lo que se puede decir que la publicación de donde se recuperó la secuencia de referencia *Zygothrica* sp. pudiera tener errores.

Falta de estudios de taxonomía integradora en México.

El presente estudio es uno de los primeros trabajos en México sobre taxonomía integradora para dípteros necrófilos presentes en la EBTLT y en el

JBHBH. Se sabe que hay pocos estudios de identificación de especies de dípteros necrófilos que complementan la información morfológica y molecular. Tal es el caso del estudio de Yuseff-Vanegas y Anderson (2012) pero en la región del Caribe, en el cual demuestra la importancia de la combinación de bases de datos moleculares con una base de datos taxonómicos, en especial de especies en sectores de importancia forense donde se pueden aplicar estas identificaciones. También el llevado a cabo por Buenaventura *et al.*, (2018) contribuyó con el enriquecimiento del acervo de secuencias de especies, ya que analizó la eficiencia de los códigos de barras COXI en la familia Sarcophagidae, mostrando su eficiencia como un medio alternativo de identificación de especies de moscas recolectadas en materia orgánica en descomposición.

En México sólo se puede citar el trabajo realizado por Téllez (2018) en delimitación de especies de dípteros en México. Esto es resultado de la falta de estudios robustos e integradores para identificar especies de dípteros necrófilos en la región. Sin embargo, el presente estudio deja disponible una biblioteca de referencia que en muchos casos se logró identificar la especie o bien, el género. Este trabajo será útil como referencia para futuros trabajos que requieran utilizar la identificación de dípteros de interés forense en estas localidades de México. Por lo anterior, las secuencias de COXI generadas a partir de proyectos de código de barras de ADN proporcionan una biblioteca rica en especies para su uso, junto con genes nucleares para resolver linajes monofiléticos divergentes que podrían representar especies no reconocidas (Baker *et al.*, 2009).

Importancia de realizar estudios con taxonomía integradora.

La importancia de realizar este tipo de estudios se basa en hacer identificaciones robustas, que se reflejen en estudios serios, con esfuerzos de catalogación y curación correcta de colecciones, así como utilizar información validada por expertos en taxonomía (Ibáñez-Bernal, 2017; Buenaventura *et al.*, 2018). Delimitar correctamente las especies, ayuda en una estimación más cercana a la biodiversidad real, pues se puede corroborar la información con datos

morfológicos, moleculares y ecológicos siendo especialmente útil en grupos poco estudiados (Ceccarelli *et al.*, 2012; Téllez, 2018). Además, gracias a la taxonomía integradora se mejora inequívocamente la comprensión de los procesos que dan lugar a la biodiversidad, lo cual es crucial para estimar mejor las tasas de extinción en la era actual de pérdida de biodiversidad (Zinguer *et al.*, 2016; Struck *et al.*, 2018). Como se sabe, la identificación a nivel de especie es un requisito previo para una buena aplicación de los métodos entomológicos para la estimación de IPM en donde los juicios dependen de ello, pues una identificación equivocada puede afectar una sentencia (Grzywacz *et al.*, 2017; Wells & Stevens, 2008). Por lo tanto, la falta de herramientas de identificación impide que la identificación de especies sea precisa y lleve a inferencias erróneas en el sistema de justicia (De Jesús-Bonilla *et al.*, 2018). Sin embargo, varios autores mencionan que los métodos basados en el ADN se utilizarán cada vez más en la investigación de entomología forense y el trabajo de casos en todo el mundo (Wells & Stevens, 2008; Struck *et al.*, 2018).

e) Utilidad de las herramientas en la identificación de especies de dípteros necrófilos.

Distancias genéticas entre especies

Como se sabe, la capacidad de información potencial en los nucleótidos es limitada, ya que la mayoría de sus posiciones son constantes en las comparaciones de especies cercanamente emparentadas. Sin embargo, dada una tasa de mutación de 2%, uno espera 12 diferencias en una comparación de 600 pb en un par de especies con un millón de años de historia de aislamiento reproductivo, según lo reporta Hebert *et al.*, (2003). Según Papadopolou *et al.*, (2010) y Hebert *et al.*, (2004) una tasa de mutación de 2% ayuda a distinguir entre especies de insectos, así como a discernir entre especies estrechamente emparentadas o que puedan ser especies crípticas, lo cual se corroboró en el caso de las especies correspondientes a la familia Muscidae, Neriidae y Sarcophagidae pues mostraron ser morfológicamente iguales, pero molecularmente diferentes. Por ejemplo, en el caso de lepidópteros se propuso que una divergencia entre secuencias de COXI mayor

a 2% indica la posible presencia de especies distintas (Hebert *et al.*, 2004; Janzen *et al.*, 2005).

GMYC

El utilizar un método logarítmico en GMYC (figura 16) en estos análisis, ha demostrado ser una herramienta útil para identificar especies, ya que en estudios previos realizados con datos de secuencia de ADN simulados y reales han revelado que el modelo de frecuencia log normal generalmente recupera estimaciones de reloj y relaciones filogenéticas más precisas que el modo de frecuencia exponencial (Ceccarelli *et al.*, 2012).

2. ABUDANCIA DE LAS FAMILIAS DE DíPTEROS NECRÓFILOS EN LAS DIFERENTES LOCALIDADES.

Abundancia relativa por familia de dípteros necrófilos

Chloropidae:

Con respecto a las familias encontradas, también se puede analizar su presencia en la RBTLT y en el JBHBH. En el caso de *Liohippелates* sp. (Chloropidae) fue una especie exclusiva para el JBHBH, pero poco abundante, esto también fue observado por Francisco (2005) ya que en el otoño también obtuvo el menor número de individuos recolectados en Campinas – São Paulo. Se sabe que esta familia es poco común en estudios de fauna necrófila, por lo que puede haberse encontrado de manera incidental.

Drosophilidae:

Con respecto a la familia Drosophilidae, una de las más abundantes y con presencia de individuos en ambos sitios de muestreo (figura 21), considerándose como una familia que regularmente puede presentar alto número de individuos en

otoño, conclusión a la que también llegó Remedios *et al.*, (2012) en su estudio sobre fauna asociada a materia en descomposición pues se sabe que algunas especies de esta familia son consideradas necrófilas. De igual forma Amador *et al.*, (2011) reporta a la familia Drosophilidae como una de las más abundantes en su estudio sobre fauna necrófila.

Fanniidae:

En el caso de *Fannia* sp. de la Fanniidae se encontró de forma exclusiva en el JBHBH ya que es considerada rara en paisajes abiertos y humedales. Su amplia distribución se asocia con los hábitos alimenticios que tienen las larvas, pues en su mayoría son saprófagas y se alimentan de material orgánico en descomposición, lo cual también explica su asociación con el hombre, esto coincide con Domínguez *et al.*, (2011), pues explica que *Fannia pusio* es considerada una especie ampliamente distribuida, aunque restringida a la zona Holártica, la cual es considerada junto con el Neotrópico, uno de los centros de origen para la familia.

Mesembrinellidae:

La familia Mesembrinellidae se encontró de forma exclusiva en la EBTLT (figura 21) la cual presenta un ambiente lluvioso. Las especies pertenecientes al género *Mesembrinella* presentó pocos individuos en la localidad. Esta situación también es reportada por Whitworth (2019), pues reporta que Mesembrinellidae es un grupo exclusivamente neotropical, más abundante y diverso en bosques tropicales lluviosos, también menciona que varias especies son atraídas por la carroña, el estiércol, la fruta y la vegetación en descomposición.

Micropezidae:

Los géneros *Taeniptera* sp. y *Ptilosphen* sp. pertenecientes a la familia Micropezidae, se presentaron de forma exclusiva para la RBTLT y en poca

abundancia relativa (figura 20 y 21) son reportados como neotropicales (Ferro & de Carvalho, 2014) lo que coincide con la distribución encontrada en el presente estudio, sin embargo, las larvas de la familia Micropezidae viven en excrementos y se ha indicado que podrían actuar como indicador forense para cierto hábitat específico (Carvalho *et al.*, 2008). Cabe destacar que no hay información acerca de que los géneros *Taeniaptera* sp. y *Ptilosphen* sp. hayan sido reportados como necrófilos, posiblemente se encontraron de forma incidental dentro del muestreo, lo cual concuerda con lo concluido por Chin *et al.*, (2011), pues caracteriza a la familia Micropezidae y Neriidae como visitantes según Smith (1986), también menciona que cuando llegaron a los cadáveres se alimentaron del líquido que supuraba.

Muscidae:

La familia Muscidae presentó poca abundancia relativa de especies en el JBHBH ya que es una familia que se puede encontrar en una variedad de hábitats terrestres y acuáticos, excepto en los entornos más áridos (Grzywacz *et al.*, 2017), como lo es el matorral xerófilo, tipo de vegetación dominante en el JBHBH. Sin embargo, en la mayoría de los estudios de dípteros con importancia forense, en donde se ha recolectado, siempre se reporta como una familia abundante y útil en la estimación del IMP, lo cual se cumplió con respecto de la EBTLT.

Neriidae:

La familia Neriidae fue exclusiva para la EBTLT y presentó poca abundancia relativa en comparación de las demás familias. En especial *Oncopsia flavifrons* se encontró en un ambiente tropical y su presencia se atribuye de forma incidental dentro del presente estudio, de igual manera como lo reporta Mondragón & Gironza, (2016), pues reporta a la familia como sinantrópicas, oportunista y algunas especies se alimentan de savia y tejidos vegetales en descomposición. Recientemente se ha considerado importante en la estimación del IPM, pero en su estado adulto, ya que

en estado larval no resulta útil debido a su falta de características diacríticas (Mondragón & Gironza, 2016).

Phoridae:

Una de las familias más abundantes fue Phoridae, la cual se reportó en ambas localidades, lo que demuestra su amplio rango de tolerancia ante la temperatura, precipitación y vegetación. Se observa que es una de las especies mejor adaptadas y más distribuidas. Estos resultados son consistentes con los inferidos por Carles-Tolra (2007) para la familia, pues reporta que esta familia se encuentra repartida por todo el mundo y es cosmopolita. De esta manera se justifica su continua presencia en estudios de fauna necrófila.

Platystomatidae:

El género *Rivellia*, correspondiente a la familia Platystomatidae, se presentó de forma exclusiva en la EBTLT y de manera poco abundante. Una situación similar reportó Bodner & Freidberg (2016), describiendo una sola especie para Israel. Algunas especies de *Rivellia* son fitófagas y atacan los nódulos de la raíz de Fabaceae una de las familias más abundantes dentro de la EBTLT (Vázquez *et al.*, 2010).

Sarcophagidae:

El caso de la familia Sarcophagidae presentó varias especies sinantrópicas, tal como las correspondientes al género *Peckia* y *Oxysarcodexia*, reportados en ambas localidades. Estos géneros también fueron encontrados por Buenaventura y colaboradores (2018), en su estudio sobre código de barras de ADN para identificar moscas de carne sinantrópicas. Fueron reportados con altos índices de sinantropia y posiblemente la perturbación existente en las localidades haga posible encontrarlas ahí. Cabe destacar que *Peckia intermutans* y *Sarcophaga* sp. son

especies necrófagas, comúnmente utilizadas en investigaciones forenses, así como útiles en la estimación del IPM (Carles-Torlá *et al.*, 2015).

Somatiidae:

La presencia exclusiva de la familia Somatiidae en el JBHBH se debe a que es una especie exclusivamente Neotropical. La abundancia relativa que presentó la familia Somatiidae fue poca, esto se debe a que es poco común encontrarla en estudios de fauna necrófila, por lo que su presencia en la colecta, posiblemente se deba a que es una familia incidental dentro de estos estudios. Estos resultados son similares a lo reportado por Carvalho-Filho (2017) pues sólo se le ha observado alimentarse del envés de las hojas de una solución acuosa producida por las hojas de Leguminosae, Sterculiaceae y Passifloraceae (Lonsdale, 2010; Marshall, 2012) familias de plantas que se encuentran en el JBHBH.

Sphaeroceridae:

Las especies de la familia Sphaeroceridae: *Spelobia* sp. y *Pterogramma* sp., fueron exclusivas para la EBTLT con buen número de individuos, logrando ser de las mejores representadas. La EBTLT presenta un ambiente más húmedo y está más cercana a varios potreros (tabla 12). Ya que estas especies se consideran atraídas por ambientes húmedos, son cosmopolitas y presentan una amplia tolerancia a diferentes factores, es justificable su presencia de forma exclusiva en esta localidad. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Medina-Chavarría *et al.*, (2017), pues menciona que las especies de Sphaeroceridae son atraídas principalmente por materia orgánica en descomposición, así como que han sido encontradas en zonas rurales y se encuentran particularmente en ambientes húmedos y en copas de bromelias, una de las familias más ricas en Los Tuxtlas. En el estudio de Medina-Chavarría *et al.*, (2017) se reporta a *Spelobia* como acelerador del proceso de putrefacción y reciclaje de nutrientes, de allí su asociación con el proceso de descomposición cadavérica.

Ulidiidae:

Otra familia que se encontró de forma exclusiva en el JBHBH fue Ulidiidae y también presentó poca abundancia relativa, siendo una de las familias con sólo un individuo registrado de *Notogramma* sp. (figura 24), especie que se puede reportar como necrófila pues se ha encontrado asociado a cactus podridos (Brown *et al.*, 2009) lo que justifica su presencia exclusiva en el JBHBH. El género *Notogramma* se considera de utilidad en la estimación del IPM. Estos resultados coinciden con lo reportado por Medina-Achín *et al.*, (2018) y Sawaby *et al.*, (2018) pues menciona que *Notogramma* es un género necrófilo con importancia forense.

Abundancia relativa por especies de dípteros necrófilos

De manera general, la familia Muscidae fue de las más abundantes en el presente estudio (figura 20), tal como se reporta en la mayoría de los estudios de dípteros con importancia forense. Sin embargo, Ting Ma y Jia Huang (2018) mencionan que las diferencias morfológicas entre las especies de un mismo género suelen ser escasas, siendo fáciles de confundir, por lo tanto, hay dificultades al identificarlas, sobrestimando su abundancia relativa. La familia Muscidae es común de encontrar en ambientes urbanizados, sin embargo, *Neomuscina pictipennis* (especie más abundante para la EBTLT (figura 23)), se asocia más a ambientes de bosque o rurales (Grzywacz *et al.*, 2017), con preferencia por ambientes húmedos como en la Reserva de Los Tuxtlas, la cual se caracteriza por ser una de las regiones más lluviosas del estado, debido a su orografía la cual genera aportes fluviales dispuesto radialmente compuestos por ríos y pantanos. Esta asociación a ambientes húmedos de los Múscidos, también la reporta Uribe-M. *et al.*, (2010), en su estudio reporta a *N. pictipennis* como una especie que prefiere ambientes boscosos, con un aumento en su abundancia relativa durante los meses más húmedos.

La especie más abundante para el JBHBH fue *Cochliomyia macellaria* (figura 24) la cual se encuentra asociada a materia en descomposición y se le caracteriza como una especie necrófaga (Camacho, 2005). Esto coincide con lo encontrado en el presente estudio ya que el JBHBH se encuentra a un 1 km de una zona urbana. Sin embargo, difiere con González-Hernández *et al.*, (2015), reportan que hay bajas abundancias de fauna necrófila cuando el paisaje es modificado a causa del incremento de actividades antropogénicas. Cabe destacar que *C. macellaria* es identificada como especie parasitaria de ganado, y ya que el JBHBH se localiza a 600 m de una zona de potrero se justifica la abundancia relativa en esta localidad.

3. RIQUEZA DE ESPECIES.

El JBHBH presentó mayor riqueza específica en comparación con la EBTLT ya que los índices reportaron valores ligeramente mayores. También se considera el número de taxones y abundancia relativa, ya que la abundancia de los organismos puede depender de la altitud, humedad, precipitación, temperatura, así como factores antropogénicos, esto sucede principalmente como consecuencia de las respuestas a nivel gremial (López-De Casenave y Morone, 1996; Challenger *et al.*, 2009). Sin embargo, la EBTLT albergó mayor número de individuos, mostrando familias más abundantes (figura 20 y 22). En el caso de la EBTLT, gracias a su ubicación en una planicie costera en contacto directo con la costa y su posición latitudinal, ocasiona grandes precipitaciones, factor determinante directo que condiciona la presencia de los dípteros, caso reportado también por Martín-Vega, (2011); además, este factor genera que la riqueza específica sea distinta para cada localidad. Otro factor determinante para considerar es la temperatura promedio por día, en el JBHBH en las fechas de muestreo fue de 18.05°C y en la EBTLT de 19.18 °C, temperaturas parecidas. Además la distancia del lugar de muestreo a un potrero es poca, la cual puede ser considerada un factor antropogénico, lo cual podría justificar la presencia de las especies compartidas: *Cochliomyia macellaria* (Calliphoridae), 5 especies del género *Megaselia* (Phoridae), *Oxysarcodexia* sp., *Peckia intermutans* y *Sarcophaga* sp. (las tres especies incluidas en la familia Sarcophagidae), las cuales pertenecen a familias más comúnmente encontradas en

este tipo de estudios y son consideradas sinantrópicas (Carles-Torlá *et al.*, 2015). Algo similar analizó Tomberlin y Adler (1998), reportando que *Cochliomyia macellaria* (F.) y *Lucilia sericata* (Meigen) y *Sarcophaga bullata* Parker, colonizaron la carroña en tierra y en agua, concluyendo que el hábitat influye en la colonización de insectos de la carroña. La presencia de estas especies en ambas localidades, también nos habla de sus requerimientos ecológicos y de sus amplios rangos de tolerancia ya que pueden habitar ecosistemas con condiciones totalmente contrastantes, como también se reporta en IPCC (2002) pues mencionan que los insectos presentan particulares características fisiológicas y fenológicas con las cuales se pueden adaptar a nichos ecológicos estrechos.

Las diferencias en la riqueza específica encontradas en cada localidad (tabla 9), se pueden atribuir al tipo de vegetación, ya que la EBTLT presenta selva alta, la cual se concibe gracias a factores climáticos, edáficos y antropogénicos (Martín-Vega, 2011) al igual que el JBHBH, pero presenta una composición de matorral xerófilo, pues se sabe que al modificarse el tipo de vegetación, los requerimientos ecológicos (en ámbito selvático) de algunos insectos, como los hemípteros, también cambian (Chico-Avelino, 2019). Se comprueba que la composición de la vegetación influye en la diversidad de insectos. Una situación similar también analiza Zou Yi *et al.*, (2011), mencionando que la composición y riqueza de vegetación afecta la diversidad de insectos. Se sabe que la composición y distribución de la vegetación está determinada por el clima, el cual es un factor determinante primario en la diversidad de insectos, por ejemplo, en la EBTLT el clima dominante es cálido con temperaturas medias anuales de 20°C, 2°C menos que la temperatura media anual en el JBHBH, pero éste presenta clima templado semiárido a semicálido semiárido, por lo que cada localidad tiene factores determinantes que van a influir directamente en la riqueza específica y desarrollo de las especies de dípteros necrófilos reportadas en este estudio.

Como se observó, los factores bióticos y abióticos en cada localidad influyeron en la riqueza específica de dípteros necrófilos. Otro factor determinante que también comprende el clima es la altitud y la precipitación. La EBTLT presenta una altitud

que va de los 100 a los 200 msnm y llueve durante casi todo el año, caso contrario al JBHBH donde la altitud es de 1503 msnm y presenta una marcada estacionalidad de la precipitación, con seis meses de sequía, por lo que estos largos periodos de lluvia/sequía y valores tan diferentes de altitud, también están influyendo en la diferencia de riqueza específica como se obtuvo en el presente estudio, de igual forma todos estos factores bióticos y abióticos van a determinar la presencia o ausencia de las especies, conclusión a la que también llegó Azmi *et al.*, (2013) mencionando que entre todos los factores meteorológicos, la temperatura ambiente y la precipitación son los factores más fuertes que afectan el desarrollo de los dípteros, así como la duración del proceso de descomposición dependía de las condiciones climáticas, la cual puede ser considerada factor determinante indirecto.

Riqueza específica de dípteros necrófilos esperada

Los sitios de muestreo se localizan en reservas, por lo que están medianamente conservados y presentan alta biodiversidad. Sin embargo, los factores bióticos y abióticos han influido en la riqueza específica de dípteros necrófilos. El JBHBH se localiza en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, considerado uno de los centros de origen de varias especies de plantas y animales (Dávila *et al.*, 2003). Por lo que se entienden los valores ligeramente mayores de la riqueza específica de dípteros necrófilos en comparación de los obtenidos para la EBTLT (ver tabla 9), esto es consistente con Semarnat (2013), pues menciona que la amplia riqueza biológica mostrada y el número de especies endémicas en tan poca superficie no son igualados en ningún otro sitio de México, además reporta que, en un inventario de insectos en el Valle, realizado por Brailovsky *et al.*, (1994, 1995) reportaron especies de chinches y una alta diversidad de hormigas y termitas, así como otros artrópodos como escorpiones y arañas.

Los valores reportados para el JBHBH se deben gracias a la historia biogeográfica del lugar, pues presenta suelos heterogéneos, lo que ha favorecido la diversidad de sus especies. Lo anterior también fue reportado por Conabio (2008),

pues menciona que el Valle de Tehuacán-Cuicatlán concentra la mayor diversidad de tipos de vegetación y de especies debido a que es una zona heterogénea y donde convergen los más diversos linajes. Sin embargo, los datos muestran que “Los Tuxtlas” cuentan con 1,117 especies de insectos (Semarnat, 2016) y que la selva alta está caracterizada por su alta diversidad siendo uno de los atributos más característicos para este tipo de vegetación, lo que distingue a la zona de cualquier otro tipo de hábitat (Vázquez *et al.*, 2010). Cada localidad destaca en diferentes atributos ecológicos, en el caso del JBHBH presenta mayor valor de riqueza específica de dípteros necrófilos según los valores de Shannon, el índice de diversidad de Simpson, así como de equitatividad y la EBTLT presenta mayor abundancia relativa, así como mayor número de especies exclusivas según el valor de Chao-1. Estos resultados se pueden atribuir a la disponibilidad de recursos, ya que hay mayor abundancia relativa de especies exclusivas en la EBTLT debido a que la perturbación humana causada ya que “Los Tuxtla” presentan abundantes potreros y cultivos (Vázquez *et al.*, 2010). Lo anterior ha generado que haya competencia intraespecífica por recursos y se generen individuos especialistas los cuales se van a poder reproducir más. Esto también fue reportado por Fernández *et al.*, (2014), pues concluye que un sitio perturbado puede generar especies especialistas que incrementan la riqueza específica, pero provocan disminución en la equitatividad de la abundancia relativa.

4. DIVERSIDAD β y 5. ACP:

Una vez analizada la riqueza específica se procedió a evaluar la diversidad β , concretamente, se determinó el índice de Whittaker, Cody y Routledge (ver tabla 10), con los cuales se obtuvo alta tasa de recambio en las especies entre las localidades, así como alto número de pérdida de especies. Sin embargo, una tasa no tan alta con respecto de las especies compartidas, lo anterior coincide con Conabio, (2008) que menciona la diversidad alfa es mayor sobre la vertiente del Golfo de México, mientras la diversidad beta es mayor sobre la del Pacífico. La explicación de ello radica en el componente de las especies endémicas, que es mayor sobre las áreas del Pacífico. Como se sabe el método de ordenación más

frecuentemente utilizado para la medición de la diversidad beta es el análisis de componentes principales (ACP) con el cual se obtuvo que las especies se ordenan según la abundancia relativa que presenta en cada localidad (figura 25 y 26).

Con respecto a los factores ambientales, se observó que la precipitación acumulada, la radiación solar máxima, la velocidad del viento promedio y distancia a un potrero se mantuvieron como variables importantes en el JBHBH (tabla 12), esto podría deberse a que en la región domina un clima semiárido y sus suelos son rocosos principalmente derivados de rocas sedimentarias y metamórficas, además de su ya mencionada heterogeneidad de suelos. La distancia a potreros se considera importante ya que la distancia fue mayor para el JBHBH que para la EBTLT, lo que afecta a las especies que se asocian a animales de este tipo de ambiente.

La temperatura máxima y la precipitación acumulada como componentes principales en el JBHBH cambiaron en el análisis por día, esto se debe a que presentaron valores menores en un solo día a diferencia de la promediada por mes. En el caso de la EBTLT presentó como componentes principales, la temperatura media y promedio, la humedad promedio, presión y distancia a una zona urbana ya que al ser una de las zonas más lluviosas presenta mayor nubosidad, disminuyendo la radiación solar y aumentando la humedad y presión. La distancia a una zona urbana también fue un componente principal para la EBTLT esto se debe a que la distancia es mayor a la obtenida para el JBHBH y denota que esta variable explica mejor la variabilidad en la EBTLT.

10. CONCLUSIONES.

- Se delimitaron 14 especies de dípteros necrófilos con información morfológica, 22 con información molecular y 22 con la integración de ambos enfoques, por lo que se considera que enfoques que permitan integrar ambas formas de delimitación de especies son eficientes en la estimación de la riqueza de especies necrófilas.

-Se encontraron elementos faunísticos compartidos y exclusivos entre la EBTLT y el JBHBH, lo cual puede deberse a las condiciones ambientales contrastantes y a la historia biogeográfica de los sitios muestreados.

-Se encontraron cinco familias exclusivas en la EBTLT y en el JBHBH, así como 5 familias compartidas.

-Se encontraron nueve especies compartidas entre los sitios, 25 exclusivas en la EBTLT y 12 exclusivas en el JBHBH, las cuáles pueden representar especies indicadoras de cada ecosistema en aplicaciones forenses, si bien esto debe ser explorado con un muestreo sistemático y que cubra la mayor parte del año en ambos ecosistemas.

-Dentro de las familias exclusivas para la EBTLT, la familia Sphaeroceridae fue la más abundante, Somatiidae para el JBHBH y Muscidae en las familias compartidas.

-La especie exclusiva más abundante en la EBTLT fue *Neomuscina pictipennis*, en el JBHBH fue *Drosophila hypocausta*.

-Las diferencias en los factores bióticos y abióticos presentes en cada sitio influyen directamente en la presencia o ausencia de las especies de dípteros necrófilos, así como en su abundancia relativa. Se recomienda enriquecer este tipo de trabajos con análisis espacial.

-Es necesario incluir la información obtenida acerca de los registros de las especies en futuras investigaciones que incluyan bases de datos biogeográficos.

-Los valores de diversidad y equitatividad fueron ligeramente mayores para el JBHBH en comparación a la EBTLT, sin embargo, la EBTLT presento mayor dominancia y número de especies exclusivas.

-La presente investigación es la primera en utilizar la taxonomía integradora para identificar especies de dípteros necrófilos presentes en la EBTLT y el JBHBH y comparar la riqueza específica muestreada, así como dejar disponible una biblioteca de secuencias que pueden ser útiles en futuros trabajos de interés forense.

11. COMENTARIOS FINALES

-Conociendo las relaciones asociativas que presentan los insectos y el cadáver, se busca ampliar el futuro de las aplicaciones científicas del tipo del presente trabajo. A reserva de todas las demás preguntas relacionadas con la fauna cadavérica que se pueden plantear a través de estudios serios, que reflejen el interés por resolverlas.

12. Literatura citada

- Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2007). *Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas* (Vol. 2). *Icaria editorial*.
- Amézquita, S. J., Forsyth, A., Lopera, A., & Camacho, A. (1999). Comparación de la composición y riqueza de especies de escarabajos coprófagos (Coleoptera: Scarabaeidae) en remanentes de bosque de la Orinoquía Colombiana. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, (76), 113-126.
- Anderson, G. (2010). Factors that influences insects sucesion on carrion. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton: CRC Press. 201-250.
- Arcos, A. (2014). Díptero coprófago y necófagos de otoño e invierno en Gómez Farías, Durango. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria, Antonio Narro. Coahuila. México.
- Arriaga, L., Espinoza, J. M., Aguilar, C., Martínez, E., Gómez, L., & Loa, E. (2000). Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, México.
- Ávalos-Hernández, O., V. Hernández-Ortiz y M. Trujano-Ortega. (2016). Moscas y mosquitos (Diptera). En: La biodiversidad en la Ciudad de México. *CONABIO/SEDEMA*, 2, 363-369.
- Azmi, W. A., & Lim, S. P. (2013). Comparative study of Dipteran species diversity and their succession on rabbit carrion in two different mangrove areas of Peninsular Malaysia. *Journal of Insects*.
- Baev, P. V., & Penev, L. D. (1995). BIODIV: program for calculating biological diversity parameters, similarity, niche overlap, and cluster analysis. *Pensoft, Sofía, Bulgaria*.
- Baker, A. J., Tavares, E. S., & Elbourne, R. F. (2009). Countering criticisms of single mitochondrial DNA gene barcoding in birds. *Molecular Ecology Resources*, 9, 257-268.
- Barbosa, E., García, A. y Ramírez, F. (2004). Los Tuxtlas, paisaje y pensamiento. La Reserva de la Biósfera. Primera edición. *Monte Alban*.
- Bodner, L., & Freidberg, A. (2016). Taxonomy and immature stages of the Platystomatidae (Diptera: Tephritoidea) of Israel. *Zootaxa*, 4171(2), 201-245.
- Bovarnick, A., Alpizar, F., & Schnell, C. (2010). La importancia de la biodiversidad y los ecosistemas para el crecimiento económico y la equidad en América Latina y el Caribe: una valoración económica de los ecosistemas.
- Brailovsky, H., Barrera, M., E., Ortega, C. y G. (1994). Estadíos ninfales de los coreidos del Valle de Tehuacán, Puebla. (Hemiptera: Heteróptera). I. Chelinoidea staffiles, C. tabulata y Narnia femorata. *Anales del Instituto de Biología. Serie Zoológica* 65 (2), 241-264.
- Brailovsky, H., Mayorga, C., León, G. O., & Barrera, E. (1995). Estadíos ninfales de los coreidos del Valle de Tehuacán, Puebla, México (Hemiptera-Heteroptera). II.

Especies asociadas a huizacheras. *Anales del Instituto de Biología. Serie Zoológica*, 66(1), 57-80.

- Brown, B.V., Borkent, A., Cumming, J. M., Wood, D. M., Woodley, N. E., & Zumbado, M. (2009). *Manual of Central American Diptera: Volume 1*. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, 714 pp.
- Brundage, A., & Byrd, J. H. (2016). Forensic entomology in animal cruelty cases. *Veterinary pathology*, 53(5), 898-909.
- Buenaventura, E., Valverde-Castro, C., Wolff, M., Triana-Chavez, O., & Gómez-Palacio, A. (2018). DNA barcoding for identifying synanthropic flesh flies (Diptera, Sarcophagidae) of Colombia. *Acta tropical*, 182, 291-297.
- 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(2), 189-197.
- Carles-Tolrá, M. C. (2007). Phoridae: familia nueva de dípteros para Andorra (Diptera, Phoridae). *Boletín de la SEA*, (40), 419-422.
- Carles-Torlá, M. y Hjorth, A. (2015). Manual Clase Insecta, Orden Diptera. *Rev. Idea-SEA.*, 63, 6-11.
- Carvalho, C. J. B. D., & Mello-Patiu, C. A. D. (2008). Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52(3), 390-406.
- Carvalho-Filho, F. (2017). Aggregation of *Somatia aestiva* (Fabricius) (Diptera: Somatiidae) on leaves of *Solanum stramonifolium* Jacq. *EntomoBrasilis*, 10 (1), 54-56.
- Castilla, L. M. (2006). *Reconstrucción de la historia de cambio de los caracteres*. Ecología.
- Castillo, F. (2018). Análisis del nicho ecológico y áreas geográficas de distribución de *Oenothera drummondii* subsp. *drummondii* para determinar su potencial de invasión en las costas del mundo. Tesis de Licenciatura. ENES Morelia.
- Ceccarelli, F., Sharkey, M. y Zaldívar-Riverón, A. (2012). Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse, neotropical parasitoid wasp genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 485-495.
- Challenger, A., R. Dirzo (2009). Factores de cambio y estado de la biodiversidad, en Capital natural de México. Estado de conservación y tendencias de cambio. *Conabio*, México, 3, 37-73.
- Chapman, R., Simpson, S. y Douglas, A. (2013). *The insects: structure and function*. Cambridge University Press.
- Chaverri-Polini, A. (1997). Principales factores de la diversidad biológica y de especies de las montañas de América Latina. *Revista Forestal Centroamericana*, 17, 44-49.
- Chico-Avelino, M. (2019). Efecto de variables socio-ambientales en la distribución y riesgo potencial de *Triatoma* (*Hemiptera: Reduviidae*) en el Estado de Guanajuato, México. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 19(1), 19-38.

- Chin, H. C., Kurahashi, H., Marwi, M. A., Jeffery, J., & Omar, B. (2011). Opportunistic insects associated with pig carrions in Malaysia. *Sains Malaysiana*, 40(6), 601-604.
- Colinvaux, P.A. (1980). Introducción a la ecología. Limusa.
- CONABIO. (2008). Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad.
- Cortés, N. (2009). *Geoconservación y Cultura: un análisis del paisaje en Zapotitlán Salinas-El Encinal, Puebla*. Tesis de Maestría en Geografía, CIGA-UNAM, México.
- Cuvier, G. (1812). *Recherches sur les ossemens fossiles de quadrupèdes: où l'on rétablit les caractères de plusieurs espèces d'animaux que les révolutions du globe paroissent avoir détruites. Le discours préliminaire et la géographie minéralogique des environs de Paris. T. 1 (Vol. 1)*. Chez Deterville.
- Dávila, P., Arizmendi, M. D. C., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J. L., Casas, A., & Lira, R. (2002). Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán valley, Mexico. *Biodiversity & conservation*, 11(3), 421-442.
- De Jesús-Bonilla, Pedraza-Lara, C. y Zaldívar, R. (2018). Métodos de delimitación de especies y su importancia en entomología forense. En: Z.,García-Castillo. Temas de vanguardia en ciencia forense. México: *Tirant Lo Blanch*.
- De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. *Systematic biology*, 56(6).
- Disney, R. H. L. (1983). Scuttle flies. Diptera, Phoridae (except Megaselia). *Scuttle flies. Diptera, Phoridae (except Megaselia)*., 10(6).
- Disney, R. H. L. (1989). Scuttle flies: Diptera: Phoridae: genus Megaselia. *Royal Entomological Society*, 10 (8).
- Domínguez, M. C. L., & Roig, S. A. (2011). Historical biogeographic analysis of the family Fanniidae (Diptera: Calyptratae), with special reference to the austral species of the genus Fannia (Diptera: Fanniidae) using dispersal-vicariance analysis. *Revista chilena de historia natural*, 81(1).
- Durango, Y., & Ramírez-Mora, M. (2019). Fannia Robineau-Desvoidy (Diptera: Fanniidae) of Colombia: new species, identification key and updated checklist. *Zootaxa*, 4604(2), 301-325.
- Eliosa, H. R., Nieto Montes de Oca, A., y Navarro Carbajal, M. D. C. (2010). Conservadurismo filogenético del nicho ecológico un enfoque integral de la evolución. *Ciencias*, 98 (098).
- Erasmus, D., Yurkowski, E. y Huber, D. (2018). DNA barcode-based survey of Trichoptera in the Crooked River reveals three new species records for British Columbia. *PeerJ*, 6, 4221.
- Espinosa, D., S. Ocegueda, Zuñiga, C., Flores, O., Llorente-Bousquets, J., Vázquez, B. (2008). El conocimiento biogeográfico de las especies y su regionalización natural, en Capital natural de México, Conocimiento actual de la biodiversidad. *Conabio*, 1, 33-65.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791.

- Fernández García, I., Favila, M. E., & López Iborra, G. M. (2014). Composición, riqueza y abundancia de coleópteros (Coleoptera) asociados a bosques semidecíduos y vegetaciones ruderales en la Sierra del Rosario, Cuba.
- Ferro, G. B., & de Carvalho, C. J. (2014). A pictorial key and diagnosis of the Brazilian genera of Micropezidae (Diptera, Nerioidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 58(1), 52-62.
- Flores-Pérez, L. R., Sánchez-Arroyo, H., Ibáñez-Bernal, S. & García-García, M. (2008). *Lucilia eximia* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) en la sucesión de insectos sarcosaprofagos en *Sus scrofa* en Texcoco, México.
- Folmer, O., Hoeh, W., Lutz R. y Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 3(5), 294-9.
- Francisco, O. (2005). Moscas dos géneros Hippelates Loew, 1863 e Liohippелates Duda, 1929 (Diptera: Chloropidae): levantamento, sazonalidade e parametros biológicos.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. y Hurst, G. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18(22), 4541-4550.
- García, C. (2016). Variación en la composición de coleópteros necrófilos (Coleoptera: Scarabaeidae, Silphidae y Trogidae) entre un bosque de encino y un matorral xerófilo en Guanajuato, México. Tesis de Licenciatura. FESI. UNAM.
- García-Sandoval, R. (2015). Modelos de sustitución de nucleótidos*(y otros modelos). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/281591353_Modelos_de_sustitucion_de_nucleotidos_y_otros_modelos.
- Global, P. C. A. (2005). Manual de Ciudadanía Ambiental Global: Cambio Climático: Proyecto Ciudadanía Ambiental Global. In *Manual de Ciudadanía Ambiental Global: Cambio Climático: Proyecto Ciudadanía Ambiental Global*. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente; Oficina Regional para América Latina y el Caribe (PNUMA/ORPALC).
- González-Hernández, A., Navarrete-Heredia, J., Quiroz-Rocha, G. y Deloya, C. (2015). Necrocolous beetles (Scarabaeidae: Scarabaeinae, Silphidae and Trogidae) from Bosque Los Colomos, Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Rev. Mex. Biodiv.* México, 3, 86
- Grzywacz, A., Hall, M. J., Pape, T., & Szpila, K. (2017). Muscidae (Diptera) of forensic importance—an identification key to third instar larvae of the western Palearctic region and a catalogue of the muscid carrion community. *International journal of legal medicine*, 131(3), 855-866.
- Guevara, S. S., Laborde, D. J., & Sánchez, R. G. (2000). La Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas, México. *Documento de trabajo No 29*.
- Guzmán-Mendoza, R., Calzontzi-Marín, J., Salas-Araiza, M. y Martínez-Yáñez, R. (2016). La riqueza biológica de los insectos: análisis de su importancia multidimensional, *Acta Zool. Mex.* 3, 32.
- Halffter, G., Moreno, C. E., & Pineda, E. O. (2001). *Manual para evaluación de la biodiversidad en Reservas de la Biosfera*. CYTED, ORCYT/UNESCO & SEA.

- Halffter, G., Soberón, J., Koleff, P. y Melic, A. (2005). Sobre Diversidad Biológica: el Significado de las Diversidades Alfa, Beta y Gamma. *Monografías Tercer Milenio*, 4, 242.
- Hammer, Ø., Harper, D. A., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & Dewaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270 (1512), 313-321.
- Hennig, W. (1999). *Phylogenetic systematics*. University of Illinois Press.
- Herrera-Fuentes, Navarrete-Jiménez, Zavala-Hurtado, Orendain-Méndez y Campos-Serrano. (1999). Diversidad y abundancia temporal de insectos del Jardín Botánico del valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Departamento de Biología. UAM-Iztapalapa. Recuperado de <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2013/EC/665-670.pdf>
- Ibáñez-Bernal, S. (2017). *Actualización del Catálogo de Autoridades Taxonómicas de los Dípteros (Diptera: Insecta) de México*. Instituto de Ecología AC. Red Ambiente y Sustentabilidad. Informe final-SNI-BCONABIO proyecto JE006. Ciudad de México.
- Ibáñez-Bernal, S., Hernández Ortiz V. y L. Martín del Campo (2006). Catálogo de autoridad taxonómica orden diptera (Insecta) en México. Parte 1. Suborden Nematocera. Instituto de Ecología AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. CS004. México.
- IPCC. (2002). Cambio Climático. Bases Físicas. Resumen para Responsables de Política. Estados Unidos de América.
- IPCC. (2007). Cambio climático y biodiversidad. Estados Unidos de América.
- Janzen, D. H., Hajibabaei, M., Burns, J. M., Hallwachs, W., Remigio, E., & Hebert, P. D. (2005). Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1835-1845.
- Jiménez, E. (2005). Diversidad y abundancia de insectos asociados al follaje del oyamel (*Abies religiosa* [H.B.K] Schl. et Cham.) en el Parque Nacional Desierto de los Leones, D.F. Tesis de Licenciatura. FESI. UNAM.
- Johnson, N. F., & Triplehorn, C. A. (2005). *Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects*. Belmont, CA: Thompson Brooks/Cole.
- Kameneva, E. P. (2005). A new genus and species of the tribe Lipsanini (Diptera, Ulidiidae) from Central America.
- Knowlton, N. (1993). Sibling species in the sea. *Annual review of ecology and systematics*, 24(1), 189-216.
- Koleff, P., Gaston, K. J., & Lennon, J. J. (2003). Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology*, 72(3), 367-382.
- Kozlov, M. Whitworth, T. (2002). Population densities and diversity of Calliphoridae (Diptera) around a nickel-copper smelter at Monchegorsk, Northwestern Russia. *Entomologica Fennica*, 13(2), 98-104.

- Lersten, N. & Brubaker, C. (1987). Extrafloral nectaries in Leguminosae: Review and original observations in *Erythrina* and *Mucuna* (Papilionoideae; Phaseoleae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 4, 437-447.
- Llorente- Bousquets, J., Morrone, J. J., Ordóñez, O. Y., & Fernández, I. V. (2004). *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Loera-Padilla, F., López-Barbosa, O., González A. y Cuevas-Reyes, P. (2015) Variación espacial de la comunidad de artrópodos del dosel asociados a *Quercus castanea* a lo largo de un gradiente de humedad. *Bol. Soc. Mex. Ento.*, 1(47), 52.
- Lonsdale, O., 2010. Somatidae. p. 832-835. In: B.V. Brown, A. Borkent, J., Cumming, D.M. Wood, N.E. Woodley & M. Zumbado (Eds.). *Manual of Central American Diptera*, vol. 2. Ottawa, *NRC Research Press*, 1442.
- López-De Casenave, J. y Morone, L. (1996). Efectos de la riqueza y de la equitatividad sobre los valores de diversidad en comunidades de aves. *Ecología*, (10), 447-455.
- López-Gómez, V., Zedillo-Avelleyra, P., Anaya-Hong, S., González-Lozada, E., & Cano-Santana, Z. (2012). Efecto de la orientación de la ladera sobre la estructura poblacional y ecomorfología de *Neobuxbaumia tetetzo* (Cactaceae). *Botanical Sciences*, 90(4), 453-457.
- Machtinger, E., & Kaufman, P. E. (2011). Eye gnats, grass flies, eye flies, fruit flies *Liohippelates* spp. *Insecta: Diptera: Chloropidae*. *University of Florida IFAS Extension, EENY-485 (IN884)*, 1-6.
- Magurran A. (1988). *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press,.
- Marinho, M. A. T., Wolff, M., Ramos-Pastrana, Y., de Azeredo-Espin, A. M. L., & Amorim, D. D. S. (2017). The first phylogenetic study of Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea) based on molecular data: clades and congruence with morphological characters. *Cladistics*, 33(2), 134-152.
- Marshall, D. C., Hill, K. B., Cooley, J. R., & Simon, C. (2011). Hybridization, mitochondrial DNA phylogeography, and prediction of the early stages of reproductive isolation: lessons from New Zealand cicadas (genus *Kikihia*). *Systematic biology*, 60(4), 482-502.
- Marshall, S.A., (2012). *Flies-The natural history and diversity of Diptera*. Ontario, Firey Press, 616.
- Martínez-Sánchez, A., Rojo, S., & Marcos-García, M. A. (2000). Annual and spatial activity of dung flies and carrion in a Mediterranean holm-oak pasture ecosystem. *Medical and Veterinary Entomology*, 14(1), 56-63.
- Martín-Vega, D. (2011). Estudio de los agregados de dípteros sarcosaprófagos y su relación con los ecosistemas naturales de la Comunidad de Madrid.
- Matienzo Brito, Y., Veitía Rubio, M. M., & Alayón García, G. (2011). Composición y riqueza de insectos y arañas asociados a plantas florecidas en sistemas agrícolas urbanos. *Fitosanidad*, 15(1), 25-30.
- Mayr, E. (2000). *The biological species concept. Species concepts and phylogenetic theory: a debate*. Columbia University Press, 17-29.
- Medina-Achín, L. J., Sosa-Neyra, J. E., Villacorta-Ángulo, M., Santa Cruz-López, C. Y., & Calderón-Arias, C. (2018). Sucesión entomológica asociada a restos

cadavéricos de *Sus scrofa* Linnaeus (Artiodactyla: Suidae) y su utilidad en la estimación del Interval Post Mortem en Lambayeque, Perú. *Revista Chilena de Entomología*, 44(4).

- Medina-Chavarría, J. D., Valverde, C., & Wolff, M. (2017). Aspectos ecológicos de Sphaeroceridae (Diptera: Acalyptratae) en el bosque seco tropical del Caribe colombiano. *Revista Colombiana de Entomología*, 43(1), 100-105.
- Meier, R., & Willmann, R. (2000). A defense of the Hennigian Species Concept. *Species concept and phylogenetic theory Pp*, 167-178.
- Méndez, M. (2015). Efecto de la topografía y factores ambientales sobre la diversidad de especies y atributos funcionales de la comunidad arbórea de un bosque tropical caducifolio. Tesis de doctorado. UNAM.
- Méndez-Larios, I., Villaseñor, J. L., Lira, R., Morrone, J. J., Dávila, P., & Ortiz, E. (2005). Toward the identification of a core zone in the Tehuacán-Cuicatlán Biosphere Reserve, Mexico, based on parsimony analysis of endemicity of flowering plant species. *Interciencia*, 30(5), 267-274.
- Molina-Chávez, H. A. (2009). Conformación del Laboratorio de Entomología Forense en la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal (PGJDF) (Tesis de licenciatura). *Facultad de Ciencias-UNAM: México*.
- Mondragón, A. F. V., & Gironza, N. S. C. (2016). Morphology and development rate of the immature stages of *Glyphidops (Oncopsia) flavifrons* (Bigot, 1886) (Diptera, Neriidae) under natural conditions. *ZooKeys*, (603), 141.
- Moreno, C. E., Barragán, F., Pineda, E., & Pavón, N. P. (2011). Reanálisis de la diversidad alfa: alternativas para interpretar y comparar información sobre comunidades ecológicas. *Revista mexicana de biodiversidad*, 82(4), 1249-1261.
- Morrone, J. (2000) Sistemática, Biogeografía, Evolución. Los patrones de la biodiversidad en tiempo-espacio. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Morrone, J. J., Espinosa, D., Fortino, A. D., & Posadas, P. (1999). El arca de la biodiversidad. *Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF*.
- Odum, E. P. (1972). Ecología. Tercera edición. Ed. Méxic DF: Nueva Editorial.
- ONU. (2020). Recuperado de <https://www.un.org/es/observances/biological-diversity-day>
- Ornelas-García, C., Bastir, M. y Doadrio, I. (2014). Morphometric variation between two morphotypes within the *Astyanax* a Baird and Girard, 1854 (Actinopterygii: Characidae) genus, From a Mexican tropical lake. *Journal of morphology*, 275(7), 721-731.
- Padial, J., Miralles, A., De la Riva, I. y Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in zoology*, 7(1), 16.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I. y Vogler, A. (2010). Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution*, 27(7), 1659-1672.
- Pedraza-Lara, C. y Vergara-Pineda, S. (2017). El estado del arte de la entomología forense en México. En: Z, García-Castillo y M, Bravo-Gómez. El estado de las artes forenses en México. *Tirant Lo Blanc.*, 235-254.

- Peraza-Padilla, W., Rosales-Flores, J., Esquivel-Hernández, A., Hilje-Rodríguez, I., Molina-Bravo, R., & Castillo-Castillo, P. (2013). Identificación morfológica, morfométrica y molecular de meloidogyne incognita en higuera (ficus carica l.) en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 24(2), 337-346.
- Pigliucci, M., Murren, C. J., & Schlichting, C. D. (2006). Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2362-2367.
- Pujol, L. (2007). Biodiversidad y su importancia para la sustentabilidad. *Ecología y Biodiversidad UAIS*, 1-7.
- Quintero, I. (2002). Avaliação do impacto da fragmentação da floresta sobre Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeinae), na Amazônia Central. Tesis para máster de Entomología. *Pesquisas da Amazônia-INPA*.133.
- Remedios, M. (2010). Estructura de los ensambles de dípteros coprófilos y necrófilos y su variación estacional en un bosque serrano de Sierra de Minas, Uruguay. Tesina de grado. Universidad de la República, Montevideo.
- Remedios, M., Martínez, M. y González, P. (2012). Estudio preliminar de los dípteros asociados a cebos de estiércol y carroña en un bosque serrano de Sierra de Minas, Uruguay. *Acta Zoológica Mexicana*, 28, 2.
- Ridley, M. (1989). The cladistic solution to the species problem. *Biology and Philosophy*, 4(1), 1-16.
- Rodríguez, P., Soberón, J., & Arita, H. T. (2003). El componente beta de la diversidad de mamíferos de México. *Acta zoológica mexicana*, (89), 241-259.
- Rodríguez-Olivares, K., Quijas, S., Cupul-Magaña, F. y Navarrete-Heredia, J. (2015). Literatura científica sobre artrópodos asociados a cadáveres: estudio observacional. *Acta Univ. México*, 6:25.
- Rodríguez-Romero, A., Posos Ponce, P., Peteira, B., & Suris, M. (2011). Evaluación de tres protocolos de extracción de ADN en insectos del orden Thysanoptera. *Revista de Protección Vegetal*, 26(3), 187-190.
- Ruggiero, A. (1999). Búsqueda de patrones en macroecología: la regla de Rapoport. *Ecología Austral*, 9(01y02), 045-063.
- Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta botánica mexicana*, 14, 3-21.
- Sabrosky, C. W. (2016). Family Milichiidae. Departamento de zoología, secretaria da agricultura.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. y Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press. Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P.
- Samways, M., Geoch, M. & New, T. R. (2010). Insect Conservation. A handbook of approaches and methods. Techniques in Ecology & Conservation Series. *Oxford*. 441
- Santibáñez, G., Castillo-Argüero, S., Zavala-Hurtado, J., Martínez, Y. y Hernández, M. (2009). La Heterogeneidad Ambiental en un Matorral Xerófilo. *Bol. Soc. Bot. México*, 85.

- Sawaby, R. F., El Hamouly, H., & Abo-El Ela, R. H. (2018). Diagnosis and keys of the main dipterous families and species collected from rabbit and guinea pig carcasses in Cairo, Egypt. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 79(1), 10.
- SEMARNAT. (2012). Ecosistemas terrestres. CONAFOR. México.
- SEMARNAT. (2013). Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán.
- SEMANART. (2016). *Una manera de ver los Tuxtlas: paisaje de Mesoamérica*.
- Shelford, V. (1975) E.: Physiological animal geography. *J. Morphol.*, 22:551-618.
- Siemens, A. H. (2009). *Una manera de ver los Tuxtlas: paisaje de Mesoamérica*. SEMANART.
- Smith, K.G.V. 1986. A Manual of Forensic Entomology. London: *British Natural History Museum*.
- Stephano-Vera, D. I., Vázquez-Saucedo, R., Díaz, P., Villagómez, J. E., Rodríguez, V. A., & Quiroz, H. (2009). Reporte de insectos asociados a cadáveres en el Estado de Nuevo León, México. *Entomología Mexicana*, 8, 759-762.
- Struck, T. H., Feder, J. L., Bendiksbj, M., Birkeland, S., Cerca, J., Gusarov, V. I. & Stedje, B. (2018). Finding evolutionary processes hidden in cryptic species. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(3), 153-163.
- Téllez, I. (2018). Código de barras genético de especies de dípteros necrófilos de la reserva ecológica del pedregal de San Ángel, Ciudad de México. Tesis de licenciatura. FESZ.
- Templeton, A. R. (1989). The meaning of species and speciation: a genetic perspective. *The units of evolution: Essays on the nature of species*, 159-183.
- Tepedino, K. P. (2016). Family Sphaeroceridae. *Zootaxa*, 4122(1), 685-695.
- The Nature Conservancy TNC. (2002). Un Enfoque en la Naturaleza: Evaluaciones ecológicas rápidas. Virginia, USA. 196 p.
- Ting Ma y Jia Huang. (2018). A new species of the genus *Morellia* Robineau-Desvoidy (Diptera: Muscidae) from Yunnan, China, with analysis of available DNA barcoding sequences. *Biología*.73, 1205-12013.
- Tomberlin, J. K., & Adler, P. H. (1998). Seasonal colonization and decomposition of rat carrion in water and on land in an open field in South Carolina. *Journal of Medical Entomology*, 35(5), 704-709.
- Tondella, M. L. C., Paganelli, C. H., Bortolotto, I. M., & Takano, O. A. (1994). Isolation of *Haemophilus aegyptius* associated to Brazilian purpuric fever from *Hippelates* and *Liohippелates* flies (Diptera: Chloropidae). *REVISTA-INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SAO PAULO*, 36, 105-105.
- Torretti, R. (2010). La proliferación de los conceptos de especie en la biología evolucionista (The proliferation of species concepts in evolutionary biology). *Theoria. Revista de Teoría, Historia y Fundamentos de la Ciencia*, 25(3), 325-377.
- Uribe, E. (2015). El cambio climático y sus efectos en la biodiversidad en América Latina. CEPAL.
- Uribe-M, N., Wolff, M., & de Carvalho, C. J. (2010). Synanthropy and ecological aspects of Muscidae (Diptera) in a tropical dry forest ecosystem in Colombia. *Revista Brasileira de Entomologia*, 54(3), 462-470.

- Vázquez, T. M., Armenta, M. S., Campos, J. J., & Carvajal, H. C. I. (2010). Árboles de la Región de los Tuxtlas. *Gobierno del Estado de Veracruz, secretaria de educación del Estado de Veracruz. Comisión del Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave para la conmemoración del Bicentenario de la Independencia Nacional y del Centenario de la Revolución. México*, 29-32.
- Waikagul, J. & Thaenkham. U. (2014). Approaches to Research on the Systematics of Fish-Borne Trematodes. *Methods of Molecular Study: DNA Sequence and Phylogenetic Analyses. Academic Press.*
- Walther, B. A., & Morand, S. (1998). Comparative performance of species richness estimation methods. *Parasitology*, 116(4), 395-405.
- Wells, J. D., & Stevens, J. R. (2008). Application of DNA-based methods in forensic entomology. *Annu. Rev. Entomol.*, 53, 103-120.
- Whittaker, R.H. (1972). Evolution and measurement of species diversity. *Taxon*, 21(2/3): 213-251.
- Whittaker, R.H. (1977). Evolution of species diversity in land communities. In: Hecht, M.K. and Steere, B.W.N.C. Eds., *Evolutionary Biology, Plenum Press*, 10, 1-67.
- Whittaker, R.J., K.J. Willis & R. Field. (2001). Scale and species richness: Toward a general, hierarchical theory of species diversity. *Journal of Biogeography*, 28: 453-470.
- Whitworth, T. (2006). Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of America north of Mexico. *Proceedings-Entomological Society of Washington*, 108(3), 689-725.
- Whitworth, T. L., & Yusseff-Vanegas, S. (2019). A revision of the genera and species of the Neotropical family Mesembrinellidae (Diptera: Oestroidea). *Zootaxa*, 4659(1), 1-146.
- Will, K. W., Mishler, B. D., & Wheeler, Q. D. (2005). The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Systematic biology*, 5, 844-851.
- Zepeda-Cavazos, I., Flores-Hernandez, G., Iruegas-Bientello, F., Tijerina-Medina, G., Caballero-Quintero, A. & Quiroz-Martínez, H. (2015). Diversidad de insectos en necrotrampas expuestas a dos condiciones en el Ojase, Salinas Victoria, Nuevo León, México. *Entomología Mexicana*, 2, 648-654.
- Zinger, L., & Philippe, H. (2016). Coalescing molecular evolution and DNA barcoding. *Molecular ecology*, 25(9), 1908-1910.
- Zou Yi, F., Dayuan, X., Weiguo, S. y Jan Axmacher (2011). Insect Diversity: Addressing an Important but Strongly Neglected Research Topic in China. *J. Resour. Ecol.* 4, 380-384.

13. Anexo

ANEXO I. Secuencias de las especies de dípteros necrófilos.

Familia Calliphoridae

CPL1444

nnnnnnnnnGAGCTTGATCTGGAATAGTAGGAACCTTCTCTAAGAATTCTAATTCGAGCAG
AATTAGGACATCCTGGAGCATTAAATTGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
GCTCACGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGA
AATTGATTAGTTCCTTTAATACTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGAATAAATAA
TATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGCATTAACCTTTATTATTAGTAAGTAGTATAGTAGA
AAACGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTTTATCTTCTAATATTGCTCAC
GGAGGAGCTTCAGTTGATCTAGCTATTTTCTCTCTTCATTTAGCCGGAATTTATCAAT
TTTAGGAGCAGTAAATTTTATTACAACCTGTAATTAATATACGATCAACAGGAATTACAT
TCGATCGAATGCCTTTATTCGTATGATCAGTAGTAATTAATGCTCTTTTACTTTTATTAT
CTTTACCAGTTTTAGCCGGAGCTATTACTATACTTTTAACTGATCGAAATTTAAATACTT
CATTCTTTGATCCAGCCGGAGGAGGAGATCCAATTTTATACCAACACTTATTTTGATTT
TTTGGTCA

CPL1445

nnnnnnnnnGAGCTTGATCTGGAATAGTAGGAACCTTCTCTAAGAATTCTAATTCGAGCAG
AATTAGGACATCCTGGAGCATTAAATTGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
GCTCACGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGA
AATTGATTAGTTCCTTTAATACTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGAATAAATAA
TATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCTGCATTAACCTTTATTATTAGTAAGTAGTATAGTAGA
AAACGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTTTATCTTCTAATATTGCTCAC
GGAGGAGCTTCAGTTGATCTAGCTATTTTCTCTCTTCATTTAGCCGGAATTTATCAAT
TTTAGGAGCAGTAAATTTTATTACAACCTGTAATTAATATACGATCAACAGGAATTACAT
TCGATCGAATGCCTTTATTCGTATGATCAGTAGTAATTAATGCTCTTTTACTTTTATTAT
CTTTACCAGTTTTAGCCGGAGCTATTACTATACTTTTAACTGATCGAAATTTAAATACTT
CATTCTTTGATCCAGCCGGAGGAGGAGATCCAATTTTATACCAACACTTATTTTGATAT
TTTGGTCA

CPL1446

nnnnnnnnnGATCTTGATCTGGAATAGTAGGAACCTTCTCTAAGAATTCTAATTCGAGCAG
AATTAGGACATCCTGGAGCATTAAATTGGAGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
GCTCACGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGAGGATTTGGA
AATTGATTAGTTCCTTTAATACTAGGAGCTCCTGATATAGCTTTCCACGAATAAATAA

Familia Chloropidae

CPL1434

TTCTATTCGGAGCATGAGCTGGAATAGTGGGAACATCATTGAGAATTTTAATT
CGAGCTGAATTAGGTCACCCAGGAGCATTAAATTGGTGATGATCAAATTTATAA
TGTAATTGTTACTGCTCATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACCTATT
ATAATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCATTAATACTAGGAGCACCTGAT
ATAGCATTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTCTGATTACTACCGCCATCATTAA
CATTATTAATGGCTAGTAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACT
GTTTATCCTCCTTTATCTTCAATTATTGCCCATGGAGGAGCTTCAGTTGATTTA
GCTATTTTTTTCCTTACATTTAGCTGGAGTTTCTTCAATTTTAGGGGCCGTAAT
TTTATTACTACTGTAATTAATATGCGATCAACAGGAATTACATTTGATCGAATAC
CCTTATTCGTGTGATCAGTAGTAATTACTGCATTATTATTATTATTATCTTTACC
AGTATTAGCTGGAGCTATTACTATATTATTAAGTACCAGAAATTTAAATACTTCA
TTCTTTGACCCAGCTGGAGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATCTATCTnnn
nnnnnnnnnn

Familia Drosophilidae

CPL1416

nnnnTTTTGGTGCATGAGCAGGAATAGTGGGAACATCGTTAAGAATTCTTATTC
GAGCTGAACTTGGTCATCCAGGTGCTTTAATTGGTGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTTACTGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT
AATCGGGGGATTTCGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCACCCAGATA
TAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTACCCCGCTTTAA
CACTATTATTAGTTAGAAGTATAGTTGAAAATGGAGCTGGAACAGGTTGAACT
GTTTACCCCCACTATCAGCAGGAATTGCTCATGGTGGGGCTTCAGTTGATTT
AGCAATTTTTTCTTTACATCTTGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAAT
TTTATTACAACAGTAATTAATATACGATCTACAGGAATTACATTAGACCGAATA
CCATTATTTGTATGATCTGTTGTTATTACTGCTTTATTACTGTTACTTTCTTTAC
CCGTATTAGCCGGTGCTATTACGATACTTTTAACTGATCGAAATTTAAATACAT
CCTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCGATTCTTTACCAACATTTATTT
TGATTAnnnnnnn

CPL1417

nnnnTTTTGGTGCATGAGCAGGAATAGTGGGAACATCATTAAAGAATTCTTATTC
GAGCTGAACTTGGTCATCCAGGTGCTTTAATTGGTGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTTACTGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT

AATCGGGGGATTTCGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCACCAGATA
TAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTACCCCAGCTTTAA
CACTATTATTAGTTAGAAGTATAGTTGAAAATGGAGCTGGAACAGGTTGAACT
GTTTACCCCCGCTATCAGCAGGAATTGCTCATGGTGGGGCTTCAGTTGATTT
AGCAATTTTTCTTTACATCTTGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAAT
TTTATTACAACAGTAATTAATATGCGATCTACAGGAATTACATTAGACCGAATA
CCATTATTTGTATGATCTGTTGTTACTGCTTTATTACTGTTACTTTCTTTAC
CCGTATTAGCCGGTGCTATTACGATACTTTTAACGGATCGAAATTTAATACAT
CCTTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGACCCGATTCTTTACCAACATTTATTT
TGATTAnnnnnnnn

CPL1748

nnnnnnnnGTGCATGAGCAGGAATAGTGGGAACATCATTAAAGAATTCTTATTCG
AGCTGAACTTGGTCATCCAGGTGCTTTAATTGGTGATGACCAAATTTATAATGT
AATTGTTACTGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAA
TCGGGGGATTTCGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCACCAGATATA
GCTTTCCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTACCCCAGCTTTAACA
CTATTATTAGTTAGAAGTATAGTTGAAAATGGAGCTGGAACAGGTTGAACTGTT
TACCCCCGCTATCAGCAGGAATTGCTCATGGTGGGGCTTCAGTTGATTTAG
CAATTTTTCTTTACATCTTGCTGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAATTT
TATTACAACAGTAATTAATATGCGATCTACAGGAATTACATTAGACCGAATACC
ATTATTTGTATGATCTGTTGTTACTGCTTTATTACTGTTACTTTCTTTACCC
GTATTAGCCGGTGCTATTACGATACTTTTAACGGATCGAAATTTAATACATCC
TTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCGATTCTTTACCAACATTTATTTTG
ATTTTTTGGTCA

CPL1430

nnnnATTCGGAGCTTGAGCAGGAATAGTGGGAACATCTCTAAGAATTTTAATTC
GAGCAGAACTAGGACATCCAGGAGCTCTAATTGGAGATGACCAAATTTATAAT
GTTATTGTTACTGCTCATGCTTTCATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGACTCGTTCCATTAATATTAGGAGCACCTGATAT
AGCTTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGACTGCTACCCCCTTCTTTAAC
ACTTTTGTTAGTAAGAAGAATAGTTGAAAATGGAGCTGGAACCTGGATGAACAG
TTTATCCTCCATTATCTTCAATTACCGCTCATGGAGGAGCTTCAGTTGATTTAG
CAATTTTTCTCTTCATCTCGCAGGTATTTCTTCTATTTTAGGAGCTGTAAATTT
TATTACAACAATTATTAATATACGTTCAACAGGAATTACTTTGACCGAATACC
CTTATTTGTTTGATCAGTTTTTATTACAGCTTTTTTACTATTATTATCTTTACCAG
TTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTTCTTT

TTTCGACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCTATTCTTTACCAACACTTATTTTGAT
TTnnnnnnnn

CPL1433

nnnnATTCGGAGCTTGAGCAGGAATAGTGGGAACATCTCTAAGAATTTTAATTC
GAGCAGAACTAGGACACCCAGGAGCTCTAATTGGAGATGACCAAATTTATAAT
GTTATTGTTACTGCTCATGCTTTCATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGACTCGTTCCATTAATATTAGGAGCACCTGATAT
AGCTTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGACTGCTACCCCCTTCTTTAAC
ACTTTTGTTAGTAAGAAGAATAGTTGAAAATGGAGCTGGAAGTGGATGAACAG
TTTATCCTCCATTATCTTCAATTACCGCTCATGGAGGAGCTTCAGTTGATTTAG
CAATTTTTCTCTTCATCTCGCAGGTATTTCTTCTATTTTAGGAGCTGTAAATTT
TATTACAACAATTATTAATATACGTTCAACAGGGATTACTTTGACCGAATACC
CTTATTTGTTTGATCAGTTTTTATTACAGCTTTTTTACTGTTATTATCTTTACCAG
TTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTTCTTT
TTTCGACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCTATTCTTTACCAACACTTATTTTGAT
TTnnnnnnnn

CPL1432

nnnnCTTnGGAGCTTGAGCCGGnATAGTAGGAACATCTCTAAGAATTTTAATTC
GAGCTGAATTAGGACACCCGGGAGCTTTAATTGGAGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTAACAGCTCATGCTTTTTGTTATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTA
TAATTGGTGGATTTGGAAACTGACTAGTCCCATAATATTAGGAGCACCAGAT
ATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGTTTTTACTATTGCCTCCCTCTCTTA
CACTATTATTAATTAGTTCTATAGTAGAAAACGGAGCTGGTACAGGTTGAACG
GTTTACCCTCCATTATCATCTGGAATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTAGATTTA
GCAATTTTTCTTTACACTTAGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCTGTAAATT
TCATTACTACTGTTATTAATATACGATCTACAGGAATTACATTTGATCGAATACC
TTTATTTGTATGATCAGTAGTAATTACAGCCTTATTACTTCTATTATCTTTACCT
GTTTTAGCAGGAGCAATTACTATACTATTAACAGATCGAAATCTTAATACTTCT
TTCTTTGACCCTGCTGGTGGAGGAGACCCTATTCTTTACCAACATTTATTTGA
TTTnnnnnnnn

CPL1447

nnnnTTTCGGAGCTTGAGCCGGAATAGTAGGAACATCTCTAAGAATTTTAATTC
GAGCAGAACTGGGACACCCAGGAGCTTTGATTGGAGACGATCAAATTTATAAT
GTAATTGTAACAGCTCATGCTTTTATCATAATTTTTTTCATAGTAATACCAATTA
TAATCGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATACTTGGAGCTCCTGATA

TAGCTTTCCCCCGAATAAATAATATAAGTTTTGACTTCTCCCCCAGCCTTAT
CCCTTTTATTAGTAAGTAGTATAGTGGAAAATGGAGCCGGAACAGGGTGAACA
GTTTATCCTCCCCTATCCGCAGGAATCGCTCATGGAGGAGCTTCAGTAGATTT
AGCAATTTTTTCTTTGCACCTTGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGTGCAGTAAAT
TTTATTACAACAGTAATTAATATACGTTCTTCAGGAATTACACTTGACCGAATA
CCTTTATTTGTTTGATCAGTTGTAATTACAGCATTACTTCTTCTTTTATCTTTGC
CAGTATTAGCAGGAGCTATTACTATATTATTAAGTATCGAAATCTAAATACTT
CATTCTTTGACCCCGCTGGAGGAGGAGACCCTATTCTTTACCAACATTTATTTT
GATTTnnnnnnnn

CPL1746

nnnnnnnnnnnnCATGAGCAGGAATAGTGGGTACATCATTAGAATTCTTATTCGA
GCTGAACTTGGACATCCGGGAGCTTTAATTGGTGTGACCAAATTTATAATGT
AATTGTAACGCACATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAA
TTGGTGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATACTTGGGGCCCCTGATATAG
CTTTTCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTACCTCCAGCTTTAACATT
ATTATTAGTTAGAAGTATAGTTGAAAATGGAGCTGGAACAGGTTGAACTGTTTA
CCCACCTCTATCTGCTGGGATTGCACATGGAGGTGCATCAGTTGATTTAGCAA
TTTTTTCTTTACATCTTGCAGGAATTTCTCAATTCTAGGAGCTGTAAATTTTAT
TACAACAGTAATTAATATACGATCTACAGGAATTTCACTTGATCGAATACCCTT
ATTTGTTTGATCTGTTGTAATTACTGCACTTTTACTTTTACTTTCTTTACCAGTTT
TAGCTGGAGCTATTACAATACTTCTAACTGATCGAAATTTAAATACATCACTCT
TTGACCCAGCAnGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTnTGATTTTT
TGGTCC

CPL1747

nnnnnnnnnnnnnnGAGCAGGAATAGTCGGGACATCTCTAAGAATTTTAATCCGA
GCAGAATTAGGACATCCCGGAGCATTAAATTGGTGTGACCAAATTTATAATGT
CATTGTTACTGCCCATGCTTTTGTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATAATAA
TTGGGGGATTCGGGAACTGACTGGTACCTCTAATACTTGGAGCCCCAGATAT
AGCTTTCCCACGAATGAATAATATAAGTTTTTGACTTCTCCCTCCTGCTCTATC
TCTTTTATTAGTTAGAAGAATAGTTGAAAACGGAGCTGGAACAGGGTGAACAG
TTTACCCACCCCTCTCAGCTGGAATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTAGATTTA
GCTATTTTTTCTTTGCATTTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGGGCAGTAAATT
TTATTACTACAGTAATTAACATACGATCAACAGGAATTACCTTTGATCGAATAC
CTTTATTTGTATGATCTGTAATAATTACTGCCTTTCTTTTATTACTTTCTCTCCCT
GTTTTAGCCGGAGCTATTACTATATTATTGACAGATCGAAATTTAAATACTTCC
TTTTTTGACCCCGCCGGAGGAGGTGACCCAATTCTTTACCAACATTTATTTTGA
TTTTTTGGTCA

Familia Fanniidae

CPL1435

TTATTTTTGGAGCTTGATCAGGAATAATCGGAACATCTCTAAGAATTTTAATTC
GAGCTGAACTTGGACATCCTGGAGCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAT
GTAATTGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAGTAATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTCGGTAATTGACTTGTTCCCTTAATACTAGGAGCACCAGATAT
AGCTTTCCCACGAATAAATAATATAAGTTTCTGATTACTTCCTCCTGCTTTATCT
TTACTTTTAGTGAGCAGAATAGTTGAAAACGGAGCTGGTACTGGTTGAACTGT
TTACCCCCCTCTGTCATCTAACATTGCTCATGGAGGGGCATCGGTTGACTTAG
CAATTTTCTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCTGTAAATTT
TATTACTACAGTAATTAATATGCGATCTACTGGAATCACATTTGACCGAATACC
TTATTTGTTTGATCTGTTGTAATTACTGCTTTATTACTTTTTATTATCTCTACCTG
TACTAGCTGGTGCAATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAACACTTCTTT
CTTTGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTnnnnnn
nnnnnnnn

Familia Mesembrinellidae

CPL1740

nnnnnnnnnnnnnnnnnnGCCGGAATAATTGGAACCTCATTAAAGAATTTTAATTCGAG
CAGAATTAGGACATCCTGGAGCCTTAATTGGTGATGACCAAATTTATAATGTTA
TTGTAACAGCACACGCCTTTATTATAATTTTTTTTTATAGTAATGCCAATTATAAT
TGGAGGATTTGGAACTGATTAGTTCCCTTAATACTAGGAGCTCCAGATATAG
CATTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTCTGACTTTTACCACCTGCTTTAACTTT
ACTATTGGTCAGTAGTATAGTAGAAAATGGGGCTGGTACAGGATGAACAGTTT
ACCCACCCCTATCTTCTAATATTGCTCATGGTGGAGCTTCTGTAGATTTAGCTA
TTTTCTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTCTAGGAGCTGTAAATTTTAT
TACAACGTGAATTAATATACGATCTATTGGTATTACATTTGATCGGATACCTTTA
TTTGATGATCTGTAGTAATTACCGCTCTTTTTCTTTTACTTTCTTTACCTGTAT
TAGCAGGAGCTATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACATCATTTTT
TGACCCCGCGGGAGGAGGAGACCCAATTCTTTACCAACATTTATTTTGATTTT
TTGGTCT

Familia Micropezidae

CPL1441

nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnnATAGTTGGAACCTTCTCTAAGAATTCTAATTCGAGC
CGAATTAGGTCACCCAGGAGCCCTAATTGGAGATGATCAAATCTATAACGTTA

TTGTTACTGCTCATGCATTCATCATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTATAAT
TGGAGGATTTGGTAATTGACTTGTACCTCTTATACTAGGAGCACCTGATATAG
CATTTCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTTCCACCAGCTTTAACACT
ACTATTAGTAAGAAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGTACAGGTTGAACTGTTT
ACCCACCTCTATCTTCAGTTATTGCCCATGGAGGAGCATCAGTAGATTTAGCA
ATTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAGTATCTTCAATTCTAGGAGCAGTAAATTTTA
TCACAACAGTTATTAATATACGATCAACTGGAATTACATTAGACCGTATACCTT
TATTTGTTTGATCAGTAGTAATTACTGCATTTTTACTTTTACTTTCACTACCAGT
TCTAGCTGGAGCAATTACTATGCTTCTTACAGATCGAAATTTAAATACATCATT
CTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGACCCAATTTTATACCAACATTTATTCTGATT
TTTTGGTCA

CPL1750

nnnnnnnnnnGCTTGAGCAGGAATAGTTGGAACCTTCTCTAAGAATTCTAATTCG
AGCCGAATTAGGTCACCCAGGAGCCCTAATTGGAGATGATCAAATCTATAACG
TTATTGTTACTGCTCATGCATTCATCATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGTAATTGACTTGTACCTCTTATACTAGGAGCACCTGATAT
AGCATTTCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTTCCACCAGCTTTAAC
ACTACTATTAGTAAGAAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGTACAGGTTGAACTG
TTTACCCACCTCTATCTTCAGTTATTGCCCATGGAGGAGCATCAGTAGATTTA
GCAATTTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAGTATCTTCAATTCTAGGAGCAGTAAAT
TTTATCACAACAGTTATTAATATACGATCAACTGGAATTACATTAGACCGTATA
CCTTTATTTGTTTGATCAGTAGTAATTACTGCATTTTTACTTTTACTTTCACTAC
CAGTTCTAGCTGGAGCAATTACTATGCTTCTTACAGATCGAAATTTAAATACAT
CATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGACCCAATTTTATACCAACATTTATTCT
GATTTTTTGGTCC

CPL1751

nnnnnnnnnGGAGCTTGAGCAGGAATAGTTGGAACCTTCTCTAAGAATTCTAATTCG
AGCCGAATTAGGTCACCCAGGAGCCCTAATTGGAGATGATCAAATCTATAACG
TTATTGTTACTGCTCATGCATTCATCATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGTAATTGACTTGTACCTCTTATACTAGGAGCACCTGATAT
AGCATTTCACGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTTCCACCAGCTTTAAC
ACTACTATTAGTAAGAAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGTACAGGTTGAACTG
TTTACCCACCTCTATCTTCAGTTATTGCCCATGGAGGAGCATCAGTAGATTTA
GCAATTTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAGTATCTTCAATTCTAGGAGCAGTAAAT
TTTATCACAACAGTTATCAATATACGATCAACTGGAATTACATTAGACCGTATA
CCTTTATTTGTTTGATCAGTAGTAATTACTGCATTTTTACTTTTACTTTCACTAC
CAGTTCTAGCTGGAGCAATTACTATGCTTCTTACAGATCGAAATTTAAATACAT

CATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGACCCAATTTTATACCAACATTTATTCT
GATTTATTGGCCA

CPL1752

nnnnnnnnGGAGCCTGAGCAGGTATAGTGGGAACCTTCTCTTAGAATCCTAATTC
GAGCTGAATTAGGACACCCAGGAGCCCTAATTGGAGATGACCAAATTTATAAT
GTTATTGTTACTGCACACGCATTTATTATAATTTTCTTCATAGTAATACCAATTA
TAATTGGAGGATTCGGAACTGATTAGTACCTTTAATATTAGGAGCCCCCGAT
ATAGCCTTCCCACGAATAAATAATATAAGCTTCTGACTACTACCTCCAGCCTTA
ACTTTATTACTGGTAAGCAGTATAGTAGAAAATGGGGCTGGGACAGGTTGAAC
AGTATACCCCCCTCTATCTTCAGTTATCGCTCACGGAGGAGCCTCAGTAGACT
TAGCAATCTTCTCTTTACATTTAGCAGGAGTATCATCAATTTTAGGGGCAGTAA
ATTCATTACTACTGTGATTAATATACGATCAACAGGAATTACATTAGACCGAA
TACCTCTATTTGTTTGATCAGTAGTAATTACTGCTTTTCTTACTGCTCCTTTCTTT
ACCAGTCCTAGCCGGAGCAATTACATACnTTTTAACAGACCGTAATTTAAATAC
ATCATTTTTTGGATCCTGCAGGAGGAGGAGACCCTATTCTTTACnAACATTTATT
CTGATTTTATTAGTA

Familia Milichiidae

CPL1427

nnnTCTTTGGAGCTTGAGCAGGAATAGTGGGTACATCCCTTAGAATTTTAATTC
GAGCAGAATTAGGACATCCTGGTGCATTAATTGGTGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTAACAGCCCATGCATTCGTCATAATTTTTTTTTATAGTAATACCTATTA
TAATTGGAGGATTTGGAAATTGACTAGTACCCCTAATACTAGGAGCCCCTGAT
ATAGCATTTCCTCGAATAAATAATATGAGATTTTGATTATTACCCCATCTTTAA
CTCTTCTCCTTGTAAGAAGTATAGTAGAAAACGGAGCTGGTACAGGATGAACA
GTTTACCCTCCCCTATCATCAGTAATCGCCCATGGAGGGGCATCTGTTGATTT
GGCTATTTTTTTCATTACATTTAGCCGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAAT
TTTATTACTACAGTAATTAATATACGAGCTACTGGAATTTTCATTGACCGAATA
CCTTTATTTGTATGAGCTGTTGTATTAACAGCTTTATTATTATTATCACTTC
CTGTTTTAGCCGGAGCTATTACTATATTATTAACAGATCGTAATTTAAATACTTC
ATTCTTTGATCCTGCAGGAGGAGGAGACCCTATTTTATATCAACACTTATTCnn
nnnnnnnnnnnnnn

CPL1431

nnnTATTTGGAGCTTGAGCAGGAATAGTGGGTACATCCCTTAGAATTTTAATTC
GAGCAGAATTAGGACATCCTGGTGCATTAATTGGTGATGACCAAATTTATAAT

GTAATTGTAACAGCCCATGCATTCGTCATAATTTTTTTTTATAGTAATACCTATTA
TAATTGGAGGATTTGGAAATTGACTAGTACCCCTAATACTAGGAGCCCCTGAT
ATAGCATTTCCTCGAATAAATAATATGAGATTTTGATTATTACCCCATCTTTAA
CTCTTCTCCTTGTAAGAAGTATAGTAGAAAACGGAGCTGGTACAGGATGAACA
GTTTACCCTCCCCTATCATCAGTAATCGCCCATGGAGGGGCATCTGTTGATTT
GGCTATTTTTTCATTACATTTAGCCGGAATTTCTTCAATTTTAGGAGCTGTAAT
TTTATTACTACAGTAATTAATATACGAGCTACTGGAATTTCAATTGACCGAATA
CCTTTATTTGTATGAGCTGTTGTATTAACAGCTTTATTATTATTATTATCACTTC
CTGTTTTAGCCGGAGCTATTACTATATTATTAACAGATCGTAATTTAAATACTTC
ATTCTTTGATCCTGCAGGAGGAGGAGACCCTATTTTATATCAACACTTATTCnn
nnnnnnnnnnnn

Familia Muscidae

CPL1755

nnnnnnTGGATGCTTGATCTGGAATAGTAGGTACTTCTTTAAGTATTTTAATTCG
AGCTGAACTAGGGCACCCCTGGAGCTTTAATTGGAGACGACCAAATTTATAACG
TAATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAGTTATACCAATTATA
ATTGGAGGGTTCGGAAACTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCTGATAT
AGCCTTTCCTCGAATAAATAATATGAGATTTTGACTTCTCCCCCCTGCTCTTAC
TCTCCTACTAGTCAGTAGTATAGTGGAAAATGGAGCTGGTACTGGTTGAACAG
TTTACCCTCCACTTTCATCTAATGCAGCTCATGGTGGAGCTTCTGTAGATTTAG
CTATTTTTTCTTGCATTTAGCTGGAATCTCTTCTATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACAGTAATTAATATACGTTCTACAGGAATTACATTTGACCGAATACC
TTTATTCGTTTGATCTGTAGTAATTACTGCTCTACTTCTTTTACTATCTTTACCA
GTATTAGCCGGGGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCA
TTTTTTGACCCGGCAGGTGGAGGAGACCCCATTTTATACCAACATTTATTTTGA
TTTTTTGGTCA

CPL1756

nnnnnnnnnnGTGCTTGATCTGGAATAGTAGGTACTTCTTTAAGTATTTTAATTCGA
GCTGAACTAGGGCACCCCTGGAGCTTTAATTGGAGACGACCAAATTTATAACGT
AATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAA
TTGGAGGGTTCGGAAACTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCTGATATA
GCCTTTCCTCGAATAAATAATATGAGATTTTGACTTCTCCCCCCTGCTCTTACT
CTCCTACTAGTCAGTAGTATAGTGGAAAATGGAGCTGGTACTGGTTGAACAGT
TTACCCTCCACTTTCATCTAATGCAGCTCATGGTGGAGCTTCTGTAGATTTAG
CTATTTTTTCTTGCATTTAGCTGGAATCTCTTCTATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACGGTAATTAATATACGTTCTACAGGAATTACATTTGACCGAATACC

TTTATTCGTTTGATCTGTAGTAATTACTGCTCTACTTCTTTTACTATCTTTACCA
GTATTAGCCGGGGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCA
TTTTTTGACCCGGGCGGTGGAGGAGACCCCATTTTATACCAACATTTATTTTG
AATTTGAATAAn

CPL1757

nnnnnnnGGTGCTTGATCTGGAATAGTAGGTACTTCTTTAAGTATTTTAATTG
AGCTGAACTAGGGCACCCCTGGAGCTTTAATTGGAGACGACCAAATTTATAACG
TAATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATA
ATTGGAGGGTTCGGAAACTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCTGATAT
AGCCTTTCCTCGAATAAATAATATGAGATTTTGACTTCTCCCCCCTGCTCTTAC
TCTCCTACTAGTCAGTAGTATAGTGGAAAATGGAGCTGGTACTGGTTGAACAG
TTTACCCTCCACTTTCATCTAATGCAGCTCATGGTGGAGCTTCTGTAGATTTAG
CTATTTTTTTCCTTGCATTTAGCTGGAATCTCTTCTATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACAGTAATTAATATACGTTCTACAGGAATTACATTTGACCGAATACC
TTTATTCGTTTGATCTGTAGTAATTACTGCTCTACTTCTTTTACTATCTTTACCA
GTATTAGCCGGGnCTATnACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCAT
TTTTTGACCCGGCAGGTGGAGGAGACCCCATTTTATACCAACATTTATTnTGAT
TTTTTGGTCA

CPL1758

nnnnnnTTGGTGCTTGATCTGGAATAGTAGGTACTTCTTTAAGTATTTTAATTG
AGCTGAACTAGGGCACCCCTGGAGCTTTAATTGGAGACGACCAAATTTATAACG
TAATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATA
ATTGGAGGGTTCGGAAACTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCTGATAT
AGCCTTTCCTCGAATAAATAATATGAGATTTTGACTTCTCCCCCCTGCTCTTAC
TCTCCTACTAGTCAGTAGTATAGTGGAAAATGGAGCTGGTACTGGTTGAACAG
TTTACCCTCCACTTTCATCTAATGCAGCTCATGGTGGAGCTTCTGTAGATTTAG
CTATTTTTTTCCTTGCATTTAGCTGGAATCTCTTCTATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACAGTAATTAATATACGTTCTACAGGAATTACATTTGACCGAATACC
TTTATTCGTTTGATCTGTAGTAATTACTGCTCTACTTCTTTTACTATCTTTACCA
GTATTAGCCGGGGCTATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCA
TTTTTTGACCCGGCAGGTGGAGGAGACCCCATTTTATACCAACATTTATTTTGA
TTTTTTGGTCT

Familia Neriidae

CPL1759

TTTTTCTCTACATCTAGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCTGTAAATTTTCATT
ACAACAATTATTAATATACGATCATCTGGAATTACTTTTGACCGAATACCTTTAT
TTGTTTGATCTGTTGGAATTACTGCATTATTACTTCTTTCATTACCTGTATT
AGCAGGAGCTATTACAATACTATTGACTGACCGAAATTTTAATACTTCATTCTT
TGACCCAGCAGGAGGAGGTGATCCAATTTTATACCAACATTTATTCTGATTTnn
nnnnnn

CPL1762

nnnnnnTTGGAGCATGAGCCGGATAGTCGGTACATCTCTTAGAATCATAATTC
GAGCAGAATTAGGTCATCCTGGGGCTTTAATTGGTGATGATCAAATTTATAAT
GTAATTGTAAGTCCCATGCATTTATTATAATTTTTTTTTATAGTAATACCTATTAT
AATAGGTGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATACTAGGAGCTCCTGATAT
AGCTTTTCCCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTACTACCTCCTTCTCTTAC
GCTATTGTTAGCTAGAAGTATAGTAGAAAATGGAGCAGGTACAGGTTGAACTG
TTACCCTCCTTTATCCGCCAGTATTGCCCATAGAGGTGCTTCAGTTGATTTAG
CTATTTTTTCATTACATTTAGCAGGGGTATCATCAATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACAATTATTAATATACGATCTTCTGGAATTACATTTGATCGAATACCT
TTATTTGTCTGATCGGTTGGAATTACAGCCTTACTTCTATTATTATCTTTACCTG
TTTTAGCAGGAGCTATCACTATACTTTTAACAGACCGAACTTTGATACTTCAT
TCTTTGATCCAGCAGGTGGAGGGGATCCTATTTTATACCAACACTTATATTGAT
TTTTTGGCCC

CPL1763

nnnnnnTTGGGGCCTGAGCTGGAATAGTAGGAACATCTTTAAGTATTATAATTC
GAGCTGAATTAGGGCACCCCGGTGCTTTAATTGGTGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTTACTGCCCATGCATTTATTATAATTTTTTTTTATAGTAATACCTATTAT
AATAGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTAATATTAGGGGCACCTGATAT
GGCTTTTCCGCGAATAAATAATATAAGTTTTTTGAATACTTCCCCCTTCTCTAAC
TCTTTTATTAGCAAGAAGTATAGTAGAAAATGGAGCCGGAAGTGGTTGAACAG
TTTATCCACCCCTATCTTCTAGAATTGCCCATAGAGGAGCTTCAGTCGATTTAG
CAATTTTTTCATTACATCTTGCCGGAATTTCTTCTATTCTTGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACAATTATTAATATACGATCTACAGGAATTACTTTTGATCGAATACCT
TTATTTGTATGATCAGTGGGTATTACTGCTCTTTTATTATTACTTTCACTACCTG
TTCTAGCGGGTGCTATTACTATACTATTAACAGACCGAAATTTAATACATCAT
TCTTTGATCCTGCGGGAGGGGGAGATCCGATTCTATATCAACATCTATGTTGA
TTTTTTGGTCA

CPL1764

nnnnnnnnnnAGCCTGAGCAGGAATAGTGGGAACTCATTAAAGTATCATAATTTCG
AGCTGAATTAGGACATCCTGGTGCATTAATTGGTGATGATCAAATTTATAATGT
AATTGTTACCGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTGATACCTATTATA
ATAGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATA
GCCTTTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTACTTTTACCTCCTTCATTAACAC
TACTATTAGCAAGTAGTATAGTAGAAAATGGTGCTGGGACAGGTTGAACAGTT
TACCCACCTCTTTCTGCAAATATTGCTCATAGAGGAGCTTCAGTCGATTTAGCT
ATTTTTTCACTTCATTTAGCTGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCTGTAAATTTTA
TTACAACAATCATTAAATATACGATCATCAGGAATTAATTTTATGATCGAATACCTTT
ATTTGTATGATCTGTTGGAATTACAGCTCTTCTTTTATTACTTTTCTCTACCAGTA
TTAGCTGGAGCTATTACTATATACTAACAGACCGAAATTTTAATACATCATTCT
TTGATCCAGCTGGAGGTGGAGATCCTATTTTATATnCACATTTATTnTGATTTTT
GGTCAC

Familia Sarcophagidae

CPL1424

nnnnnnnnGGAGCTTGATCCGGAATAGTAGGAACTTCATTAAAGAATTCTTATTTCG
AGCTGAATTAGGACATCCAGGTGCACTTATTGGTGACGATCAAATTTATAATG
TAATCGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTCTTCATGGTAATACCTATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGACTAGTTCCAATTATACTTGGAGCACCAGATAT
AGCTTTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTACTTTCTCCTCCAGCTTTAACA
TTACTACTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGTTGAACTGT
TTACCCTCCTTTATCTTCTAATATTGCCCATGGAGGAGCATCTGTTGATTTAGC
AATTTTCTCTCTTCACTTAGCTGGAATTTTACTATTTTAGGAGCAGTAAATTTT
ATTACTACAGTAATTAATATACGATCTACAGGTATTACTTTTATGATCGAATACCTT
TATTTGTTTATGATCTGTAATAATTACTGCTTTATTATTACTTCTTTCTTTACCTGTA
CTTGCTGGTGCAATTACTATATTATTAATGATCGAAATATTAATACTTCATTCT
TTGATCCTGCAGGAGGAGGAGATCCAATTCTATACCAACACTTATTCTGAnnnn
nnnnnnn

CPL1425

nnnnnnnnGGAGCATGAGCTGGAATAGTAGGAACATCTCTTAGAATTCTTATTTCG
AGCAGAATTAGGACACCCAGGTGCACTAATTGGAGATGATCAAATTTATAACG
TAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATTATA
ATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCAATTATACTAGGAGCCCCTGATATA
GCCTTTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTACTTTTACCTCCAGCATTAACTT
TACTTCTTGTAAGTAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTT
TACCCTCCTTTATCATCTAATATTGCCCATGGAGGAGCATCTGTTGATTTAGCA

ATTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAATTCCTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTA
TACTACAGTTATTAATATACGATCTACAGGAATCACATTTGACCGAATACCTT
TATTTGTTTGATCTGTAGTAATTACAGCTTTACTATTACTTTCTTTACCAGT
ACTTGCTGGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAATACTTCATTC
TTTGATCCAGCAGGAGGAGACCCTATTTTATACCAACATTTATTCTGAnnn
nnnnnnnn

CPL1765

nnnnnnCTGGAGCATGAGCTGGAATAGTAGGAACATCTCTTAGAATTCTTATTC
GAGCAGAATTAGGACACCCAGGTGCACTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAC
GTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCAATTATACTGGGAGCCCCTGATA
TAGCCTTTCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCTCCAGCATTAAAC
CTTACTTCTTGTAAGTAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTG
TTTACCCTCCTTTATCATCTAATATTGCCCATGGAGGAGCATCTGTTGATTTAG
CAATTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TACTACTACAGTTATTAATATACGATCTACAGGAATCACATTTGACCGAATACC
TTTATTTGTTTGATCTGTAGTAATTACAGCTTTACTATTACTTTCTTTACCA
GTACTTGCTGGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAATACTTCA
TTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGACCCTATTTTATACCAACATTTATTCTGA
TTTTTTGGTCA

CPL1766

nnnnnTTTGGAGCATGAGCTGGAATAGTAGGAACATCTCTTAGAATTCTTATTC
GAGCAGAATTAGGACACCCAGGTGCACTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAC
GTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCAATTATACTAGGAGCCCCTGATAT
AGCCTTTCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACCCCAGCATTAAAC
CTTACTTCTTGTAAGTAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTG
TTTACCCTCCTTTATCATCTAATATTGCCCATGGAGGAGCATCTGTTGATTTAG
CAATTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCAGTAAACTT
TACTACTACAGTTATTAATATACGATCTACAGGAATCACATTTGACCGAATACC
TTTATTTGTTTGATCTGTAGTAATTACAGCTTTACTATTACTTTCTTTACCA
GTACTTGCTGGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAATACTTCA
TTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGACCCTATTTTATACCAACATTTATTCTGA
TTATTAGGTCA

CPL1767

nnnTCTTTGGAGCATGAGCTGGAATAGTAGGAACATCTCTTAGAATTCTTATTC
GAGCAGAATTAGGACACCCAGGTGCACTAATTGGAGATGATCAAATTTATAAC
GTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCAATTATACTAGGAGCCCCTGATAT
AGCCTTTCCCTCGAATAAATAATAAGTTTTTGGACTTTTACCTCCAGCATTAAAC
CTTACTTCTTGTAAGTAGAATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTG
TTTACCCTCCTTTATCATCTAATATTGCCCATGGAGGAGCATCTGTTGATTTAG
CAATTTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTT
TATTACTACAGTTATTAATATACGATCTACAGGAATCACATTTGACCGAATACC
TTTATTTGTTTGATCTGTAGTAATTACAGCTTTACTATTACTTCTTTCTTTACCA
GTACTTGCTGGAGCAATTACTATATTATTAAGTACCGAAATATTAATACTTCA
TTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGACCCTATTTTATACCAACATTTATTCTGA
TTTTTTGGCTT

CPL1426

nnnnnnnnGGAGCATGAGCCGGTATAGTAGGAACTTCTCTAAGAATTCTTATTCG
AGCAGAACTTGGACATCCAGGAGCATTAAATTGGAGATGATCAAATTTATAATG
TAATTGTTACAGCCCATGCTTTTATTATGATTTTCTTTATAGTAATACCAATTAT
AATTGGAGGGTTCGAAATTGACTAGTTCCAATTATACTAGGAGCCCCTGATA
TAGCTTTCCACGAATAAATAATAAGTTTCTGACTTTTACCTCCAGCCTTAA
CTTTACTTCTAGTAAGAAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACT
GTTTACCCACCTTTATCTTCTAATATTGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTA
GCTATTTTTTCTCTTCACTTAGCAGGAATTTATCAATTTTAGGAGCAGTAAATT
TTATTACAACGTAAATTAATATACGATCAACAGGAATTACTTTTGACCGAATAC
CTTTATTCGTGTGATCTGTTGTAATTACAGCTTTATTATTACTTCTCTCATTACC
TGTTCTTGCTGGAGCAATCACTATATTACTAACCGATCGAAATATTAATACTTC
ATTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGGAGACCCAATTCTTTATCAACATTTATTTT
GAnnnnnnnnnnn

CPL1436

nnnnnnnnGGAGCTTGAGCCGGAATAGTCGGAACCTTCTCTTAGAATCCTAATTC
GAGCAGAATTAGGTCATCCAGGTGCCTTAATTGGTGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTGTATAATTTTCTTCATAGTAATACCAATTA
TAATTGGGGGATTTGGAACTGATTAGTCCCTCTTATATTAGGTGCTCCTGATA
TAGCATTCCCTCGAATAAATAATAAGATTTTGGACTACTCCCCCTTCTTAA
CCCTTCTTCTAGTAAGAAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACCTGGATGAACA
GTTTATCCTCCCTTATCATCTGTTATCGCCACGGAGGAGCATCTGTTGATCT
AGCTATTTTTTCACTTCATTTAGCTGGTGTATCCTCAATTTTAGGTGCAGTAAA
TTTTATTACAACAGTAATTAATATACGATCTACAGGAATTACCTTTGACCGAATA

GTTACAGCCCATGCCTTTATTATAATTTTCTTTATAGTAATGCCATTATAATTG
GAGGATTTGGAAATTGATTAGTACCAATTATACTTGGAGCTCCAGATATAGCAT
TTCCACGAATAAATAATATAAGTTTTTGGACTTTTACCACCAGCTTTAACCTTACT
TCTAGTAAGTAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTGTTTATC
CTCCCCTGTCTTCTAATATCGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGACTTAGCAATTT
TCTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTCTTCAATTCTAGGAGCAGTAAATTTTATTAC
TACAGTAATTAATATACGATCTTCGGGAATTACATTTGACCGAATACCTTTATT
CGTTTGATCTGTAGTAATTACAGCTTTATTACTTCTCTCATTACCTGTACTT
GCTGGAGCAATTACTATATTATTAACGATCGAAATATCA_nTACATCATTTTTTG
ATCCAGCGGGAGGAGGAGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTCTGATTTTTTG
GTCA

CPL1769

nnnnCTTTGGAGCTTGAGCTGGGATAGTAGGAACTTCTTTAAGAATTTTAATTC
GAGCAGAATTAGGACACCCAGGAGCACTAATTGGTGATGATCAAATCTATAAT
GTAATTGTTACAGCTCATGCTTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTAATACCAATTAT
AATTGGAGGATTTGGAACTGGTTAGTTCCAATTATGCTAGGAGCTCCAGATA
TAGCTTTCCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGGACTTCTTCCTCCTGCATTAAC
TCTTTTACTAGTAAGCAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGAACAGGATGAACTG
TTTACCCTCCCCTATCATCTAATATTGCTCATGGAGGAGCTTCAGTTGATTTAG
CAATTTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAATTTTATCAATTTTAGGGGCCGTAAATTT
TATTACAACAGTAATTAATATACGATCAACAGGTATTACTTTTGATCGAATACC
CTTATTTGTTTGATCTGTAGTAATTACAGCATTATTACTACTTTCTTTGCCA
GTATTAGCAGGAGCTATTACTATATTATTAACGGATCGAAATATTAATACTTCA
TTTTTTGACCCTGCCGGAGGAGGAGATCCAATTCTTTATCAACACTTATTTTGA
TTTTTTGTAGT

Familia Sphaeroceridae

CPL1743

nnnnnnCGGTGCATGAGCTGGAATAGTAGGAACATCTTTAAGAATTTTAATTCG
AGCTGAATTAGGTCACCCAGGAGCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATGT
AATTGTAACGACATGCTTTTGTAAATGATTTTTTTCATGGTAATACCTATTATA
ATTGGTGGTTTTGGTAATTGATTAGTTCTTTAATATTAGGAGCTCCTGATATA
GCCTTCCCACGAATAAATAATATAAGATTTTGGATTATTACCTCCATCTTTAATTT
TACTATTAGTAAGCAGTATAGTAGAAAACGGAGCTGGAACGTTGAAACAGTT
TACCCTCCCCTTTCTTCAGTGATCGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGACTTGGC
AATTTTTTCTCTTCATTTAGCGGGAATTTCTTCCATCCTAGGAGCAGTAAATTTT
ATTACTACTGTAATTAATATACAATCTTCAGGAATTACCTTCGATCGAATACCT

CTTTTTGTATGATCTGTAATAATTACAGCATTACTACTGTTATTATCATTACCTG
TTTTAGCTGGAGCAATCACAATACTACTAACAGATCGAAATTTAAATACATCAT
TTTTTGATCCGGCAGGAGGAGGTGATCCAATTTTATACCAACATTTATTTTGAT
TTTTGTTCG

CPL1429

nnnnnnnnGGAGCCTGAGCAGGGATAGTGGGAACCTTCATTAAGAATCCTAATTC
GAGCTGAATTAGGACATCCAGGAGCTTTAATTGGAGATGACCAAATTTATAAT
GTAATTGTTACAGCTCACGCTTTTGTAAATAATTTTTTTCATAGTTATACCAATTA
TAATTGGGGGGTTTTGGAAATTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCTCCCGATA
TAGCTTTCCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGACTGCTGCCTCCTTCTCTTA
CTTTATTATTAGTGAGCAGTATAGTGGAAAATGGAGCTGGGACAGGTTGAACT
GTATACCCTCCCCTATCTTCTGGTATTGCTCATGGAGGGGCTTCAGTTGATTT
AGCAATTTTTTCTTTACATTTAGCTGGAATTTCTCTATTTTAGGAGCAGTAAAT
TTTATTACTACTGTAATTAATATACGATCTACAGGAATTACTTTTGACCGAATAC
CTTTATTTGTATGATCAGTAGTAATTACAGCTTTACTTTTATTATTATCTTTACCA
GTATTAGCAGGAGCTATTACTATACTCTTAACAGATCGAAATTTAAATACATCA
TTTTTCGACCCTGCAGGAGGAGGGGATCCGATTCTTTACCAACATTTATTTnnn
nnnnnnnnnnnn

