BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

TÍTULO DE LA TESIS

Dípteros necrófagos asociados a la descomposición de cerdo doméstico (*Sus scrofa domesticus* Linneo, 1758) y su importancia para determinar el intervalo postmortem en caso de sobredosis de diazepam

Tesis que para obtener el título de

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:
IRIS MORALES ORTIZ

DIRECTOR: DC. JOSÉ LINO ZUMAQUERO RÍOS

NOVIEMBRE 2015

Agradecimientos

- *Al Instituto de Ecología INECOL.*
- *Al Laboratorio de parásitos y vectores de la Escuela de Biología de la BUAP.*
- *A la Vicerectoria de investigación y estudios de posgrado.*
- *Escuela Biología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitir formar parte de proyectos no financiados.*
- *En general al cuerpo académico y administrativo de la escuela de Biología de la Buap.*
- *A los directivos del parque estatal "Flor del Bosque" por permitirme realizar el trabajo de campo en sus instalaciones.*

Gracias eternas al Dr. Zumaquero, por su paciencia, por guiarme en este camino, por los conocimientos adquiridos, la ayuda tanto profesional como personal. Gracias "doc" por el apoyo a pesar de las demoras, y gracias por no rendirse conmigo. Gracias por mostrarme lo pequeños que somos al lado de los inmensos bichos con los que convivimos todos los días.

Gracias al Dr. Roberto Flores, por mis primeros encuentros con la muerte y por introducirme en el fantástico mundo de los escuadrones de la muerte, la entomología forense, identificación y montaje de insectos.

Gracias al Dr. César Sandoval, por sus enseñanzas de identificación y montaje del mundo de los "sin huesitos" por el tiempo invertido en mí.

Gracias al Dr. Sergio Ibáñez Bernal, quien me dio la oportunidad de aprender un poquito de lo que él sabe.

DEDICATORIAS

A mis padres, quienes han estado conmigo siempre, por el amor que me dan, por su apoyo incondicional y su infinita paciencia. Gracias a mi mamá, Mónica, por enseñarme y darme mis primeras nociones de una investigación, por dejarme crecer y ayudarme a creer en mí. Gracias a mi papá, Arturo, por enseñarme a ser una buena persona, por apoyarme, regañarme y enseñarme que luchando por lo que deseamos, podemos salir adelante. Gracias a ambos por inculcarme que siempre se puede lograr más

A mis hermanos, Daniela, Mónica y Arturo por estar a mi lado en este proceso. A ellos gracias por las risas y por enseñarme a vivir. Gracias por estar conmigo en las buenas, en las malas y en las peores.

Un agradecimiento especial a mis compañeros de estudio, Jorge Ramírez y a Octavio Velázquez por el apoyo moral; a Alejandro Martínez, por el apoyo intelectual; a Heder Marquéz por el apoyo tanto intelectual como moral y por acompañarme en el final de este proceso.

El presente trabajo forma parte del proyecto “Estudios toxicológicos ambientales” del cuerpo académico de Ecotoxicología Ambiental BUAP-CA-201.

Índice

1. INTRODUCCIÓN 5

1.1 Características del modelo animal. 8

1.2 Utilización del producto tóxico. (Diazepam) 8

1.3 Descomposición cadavérica: procesos y estados. 9

2. JUSTIFICACIÓN 11

3. ANTECEDENTES 12

4. HIPÓTESIS 14

5. OBJETIVOS 14

5.1 Objetivo general 14

5.2 Objetivo particular 14

6. MATERIALES Y MÉTODOS 15

6.1 Zona de estudio 15

6.2 Procedimientos 16

6.3 Análisis estadístico 19

7. RESULTADOS 20

8. DISCUSIÓN 26

9. CONCLUSIONES 29

10. BIBLIOGRAFÍA CITADA 30

11. ANEXOS Y APÉNDICES 33

Anexo 1. Valores de temperatura y humedad 33

Anexo 2 34

Apéndices 35

1. INTRODUCCIÓN

La entomología forense contempla el estudio de los insectos como evidencia en investigaciones legales. Se divide en 3 grupos: a) la entomología urbana, la cual trata los procedimientos legales que involucran insectos y animales relacionados que afectan construcciones y el entorno del hombre; b) de productos almacenados: habla de procedimientos que incluyen insectos que infestan comida, como cereales y otros productos de cocina; c) médico legal, médico forense, entomología médico criminal: es la aplicación del estudio de los insectos y otros artrópodos asociados a un cadáver en descomposición en eventos que envuelven sospecha de muerte por causa no natural. (Byrd *et al*, 2000)

A esta última se le atañe el estudio de los insectos hallados sobre los cadáveres teniendo como objetivo la cronotanatología, es decir, el tiempo de muerte de un sujeto, con ayuda de diversos aspectos del entorno con respecto al deceso como pueden ser el lugar, la temperatura, la humedad y la precipitación, del mismo modo echa mano de la medicina forense, derecho forense, criminalística y criminología. (Oliva, 1997)

Esta ciencia interpreta la información que suministran los insectos como testigos indirectos de un deceso, cuando la patología clásica no provee todos los datos necesarios para resolver un caso. No es una ciencia nueva, ha existido desde el siglo XIII y se registró por primera vez en China. Sin embargo, como ciencia comenzó a ganar impulso real en los Estados Unidos en la década de 1960 cuando se volvió evidente que los insectos carroñeros poseían tasas predecibles de crecimiento y patrones de comportamiento. (Byrd *et al*, 2000)

La entomología forense es ahora un término familiar para casi todos los investigadores de muertes médico-legales, analistas de las escenas del crimen y examinadores médicos y forenses. Hoy en día, existe evidencia entomológica que está presente en escenas de muerte y casi siempre se recoge para su análisis. (Byrd *et al*, 2000). Se debe aprovechar toda la información que un grupo de

insectos de importancia forense pueda aportar, tomando en cuenta los diferentes grados de descomposición del individuo en los que van a llegando diversas familias, principalmente del orden díptera (*Calliphoridae y Sarcophagidae*) (Watson and Carlton 2003).

La entomotoxicología estudia las drogas presentes en los insectos que se alimentan del cadáver e investiga los efectos de las sustancias toxicas en el desarrollo de los mismos, con tal finalidad, se debe observar el ciclo vital de los insectos.

Los insectos son los primeros organismos en colonizar un cuerpo en descomposición, debido a que este representa una importante fuente de alimento ya que constituye al momento de la putrefacción un micro hábitat temporal y dinámico con condiciones óptimas para la vida (Gisbert & al 2004). Sobre este sustrato va ocurriendo una sucesión de diversas especies de insectos. Muchas de ellas se especializan en una etapa o grado de descomposición bien definido. Esta sucesión de especies es la principal herramienta en la determinación del *Intervalo Post Mortem* (IPM). Algo a favor en esta determinación es el corto periodo de vida de los insectos, y sus marcados estadíos en sus diversas etapas de desarrollo por lo que permiten determinar con exactitud, su edad, y por lo tanto el tiempo que llevan en el cuerpo. Para esto es necesario tener los conocimientos en cuanto a identificación de las especies y conocer los tiempos de desarrollo. La presencia de drogas en los tejidos corporales puede afectar el desarrollo de larvas de moscas necrófagas que se alimentan del cuerpo. (Byrd *et al*, 2000)

Los dípteros son uno de los órdenes de insectos de mayor importancia forense, están asociados a materia orgánica en descomposición, otros son depredadores o parásitos de otros insectos, hay muchas familias asociadas a la descomposición y la importancia que tienen para definir IPM suele variar de un caso a otro. Tienen gran importancia médica ya que pueden explotar diversas fuentes nutricionales según su fase de desarrollo, causar daño a la salud humana.(Oliva, 1997)

La metamorfosis completa de la mosca consta de cuatro estadios bien definidos: El huevo es seguido por un período larval de intensa actividad alimenticia, con posterior ingreso a uno de inmovilidad (pupa), período en el cual se desarrollan las características del adulto, quien surge pasadas una o dos semanas. Se sabe que en su hábitat se pueden encontrar organismos de la misma especie en diferentes estadíos de desarrollo, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, mientras que en su fase adulta algunos presentan preferencias omnívoras, durante la fase de larvas presentan una conducta necrófaga, y gracias a esto se consideran degradadores de restos de plantas y animales. (Oliva, 1997)

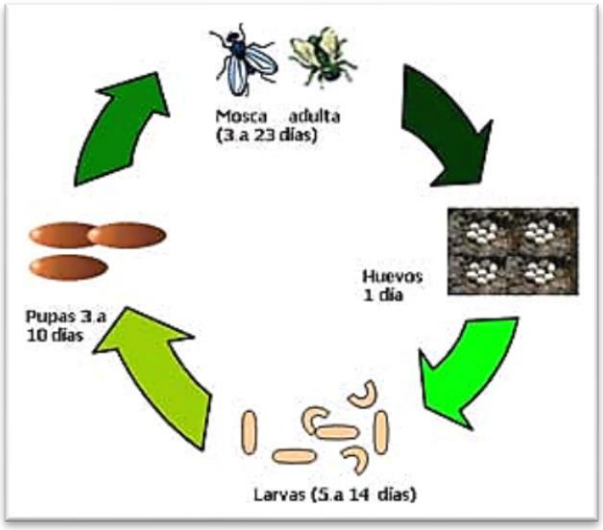


Fig. 1 Ciclo de vida de la mosca (Calliphoridae)

Los dípteros sarcosaprófagos se alimentan durante su fase larvaria, principalmente de materia orgánica en descomposición, en este caso los residuos químicos de un cadáver, así como sustancias tóxicas que este contenga que pasaran a formar parte del organismo consumidor, esto podría afectar su ciclo de vida, alterando de esta manera los datos que permitan establecer el tiempo de muerte entre otras variables. (Gisbert *et al,* 2004).

1.1 Características del modelo animal.

Sus scrofa domesticus (Linneo, 1758)

Los cerdos domésticos tienen una piel gruesa escasamente cubierta por pelo grueso, en ocasiones presentan una crin y pelos en la punta de la cola. Su cabeza es larga y puntiaguda, cuello corto y cuerpo robusto en forma de barril. Pueden vivir en una gran variedad de hábitats aunque prefieren zonas con vegetación para cubrirse y no demasiado cálidos y áridos o fríos. (Conabio 2010)

Debido a su parecido respecto al humano el cerdo (*Sus scrofa domesticus* L 1758), representa un modelo animal viable para el proyecto además que su utilización ha sido recomendada por asociaciones de entomólogos forenses (Catts *et al*, 1992) (Watson & Carlton, 2003) (García Rojo, 2004).

1.2 Utilización del producto tóxico. (Diazepam)

Las benzodiacepinas son un grupo de fármacos que producen aletargamiento en las funciones nerviosas, por lo que producen relajación o sensación de calma. Se utilizan para tratar cuadros de pánico, contracturas musculares, síntomas de nerviosismo, insomnio, ansiedad, y convulsiones; constituyen uno de los grupos de medicamentos más prescritos en la práctica médica (Bruntan *et al* 1974). Son bastante seguros cuya utilización prolongada presenta riesgo de tolerancia y dependencia. Por eso se recomienda que cualquier actividad encaminada a fomentar el uso racional de benzodiazepinas informar a los pacientes del riesgo que conlleva el abuso de las mismas (Raisman, s.f). Facilitan la transmisión gabaérgica y disminuyen el recambio de algunos neurotransmisores como noradrenalina, serotonina, acetilcolina y dopamina, lo que contribuye a su efecto sedativo y ansiolítico. (Good, 1990)

Su nombre proviene principalmente de la estructura de su anillo heterocíclico principal, el cual consiste en un núcleo 1,4-benzodiazepina (fig. 2), además de algunas características comunes que aparecen en la mayoría de estos compuestos tales como sustituyentes en la posición 7 (cloro, bromo o nitro), sustituyentes arilo en la posición 5 (fenilo, fenilo sustituido en 2, o 2piridilo), un sustituyente alquilo en la posición 1 y una función carbonílica en 2. Y algunas otras

presentan anillos fusionados al sistema de 1,4-benzodiacepina. (Bruntan *et al*, 1974)

.

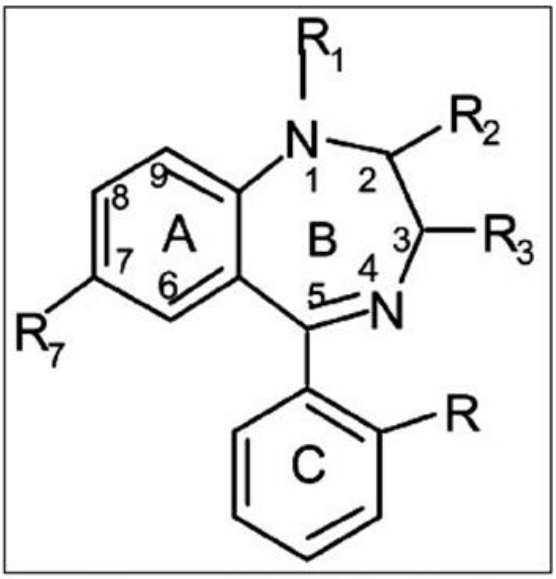


Fig. 2 Estructura química de las benzodiacepinas

El diazepam es un ansiolítico benzodiazepínico de acción prolongada. Actúa incrementando la actividad del ácido gamma-aminobutírico (GABA), un neurotransmisor inhibidor que se encuentra en el cerebro, al facilitar su unión con el receptor GABA-érgico. Posee actividad hipnótica, anticonvulsivante, sedante, relajante muscular y amnésica. (Psicofarmacología s.f)

1.3 Descomposición cadavérica: procesos y estados.

Un cuerpo al descomponerse se identifica por una destrucción de tejidos mediante procesos de autolisis y descomposición asociada a microorganismos como bacterias y hongos, conforme estos procesos van sucediendo en un tiempo que varía de acuerdo al clima, ubicación, humedad, etcétera. (Flores-Perez, 2009)

Se observan estados de descomposición que se caracterizan por la aparición de diferentes procesos químicos, de distintas especies de insectos asociadas a cada estado:

- **Estado fresco**: esta fase inicial desde el momento en el que muere el individuo y termina cuando éste comienza a hincharse lo cual es provocado por las fermentaciones anaeróbicas de los microorganismos digestivos, se caracteriza por un periodo cromático que se distinguen por la aparición de una mancha verdosa en el abdomen indicando el inicio de la muerte celular, no se percibe olor, y no hay cambios notables en la morfología del individuo.(Tullis and Goff, 1987) (Flores-Perez, 2009)

- **Estado hinchado:** comprende desde que se hincha el cadáver hasta que pierde la cubierta orgánica y se produce la salida de gases al medio, perdiéndose la apariencia voluminosa. Debido a la presión ejercida, se produce la salida de líquidos, de heces y mucosas por el ano y rotura de piel en las zonas de mayor tirantez, generalmente en la zona abdominal. .(Tullis and Goff, 1987) (Flores-Perez, 2009)

- **Estado de descomposición activa:** Se inicia con la salida de gases y el consumo extendido de todos los tejidos blandos por larvas necrófagas de dípteros y finaliza cuando la última larva de los dípteros abandona el recurso para migrar y pupar. (Tullis and Goff, 1987) (Flores-Perez, 2009)

- **Estado de descomposición avanzada:** Esta fase comprende desde que desaparecen las larvas de los dípteros consumidores del cadáver hasta el final del estudio.(Tullis and Goff, 1987) (Flores-Perez, 2009)

2. JUSTIFICACIÓN

Debido a la preocupación en el aumento de las muertes por suicidio por sobredosis de agentes tóxicos, y la dificultad de establecer un tiempo de muerte preciso, debido a las condiciones que el agente intoxicante causa en el organismo al momento de la muerte, se manifiesta la necesidad de realizar este trabajo, tomando como agente tóxico el Diazepam pues a pesar de requerir receta médica, pacientes con trastornos psicóticos pueden tener fácil acceso a este producto.

El incremento del número de casos de jóvenes intoxicados y fallecidos bajo el efecto de barbitúricos, en el estado de Puebla, justifica ampliamente a generar herramientas que coadyuven científicamente a aportar pruebas que unidas a otras pruebas periciales contribuyan a un adecuado diagnóstico de las causas y efectos del fallecimiento.

Este trabajo se enmarca en un proceso entomológico para determinar la llegada desde el momento del fallecimiento a la rigidez cadavérica de dípteros que permitan en un breve lapso de tiempo y conociendo su ciclo biológico y metabolismo, aportar pruebas que faciliten una identificación oportuna del tiempo de fallecimiento y las causas del mismo.

Los estudios de entomología forense se han generalizado en todo el país, sin embargo, es escaza la realización de experimentos con drogas que han sido utilizadas en dosis elevadas por parte de occisos e intoxicados.

3. ANTECEDENTES

En China se tiene uno de los primeros registros de un caso resuelto con la entomología forense en el siglo XIII en un manual de Medicina Legal, acerca del homicidio donde apareció muerto un labrador degollado por una hoz. Para resolver el caso hicieron que todos los labradores de la zona que podrían encontrarse relacionados con el muerto, dejaran sus hoces en el suelo y al aire libre, observaron que solo a una de ellas acudían moscas que se posaban sobre su hoja, lo que llevó a la conclusión que el dueño de dicha hoz debía ser el asesino, ya que las moscas eran atraídas por los restos de sangre que habían quedado adheridos al "arma homicida" (Tullis and Goff, 1987) (Castillo-Miralbes 2002) (García-Sánchez 2006) (Flores-Perez, 2009).

En 1886 Francia, se difunde la Entomología forense, cuando sus tribunales solicitaron la colaboración de los naturalistas para fijar la fecha de la muerte de individuos cuyos cadáveres habían sido ocultados y posteriormente descubiertos por la policía. Las primeras referencias aparecen en Anales de Higiene y Medicina Legal. En 1894 el entomólogo Pierre Mégnin del Muséumi National d'Histoire Naturelle de París publica su obra "Lafaune des cadavres: Applicatión de Ventomologie á la Médicine légale" (Byrd *et al*, 2000).

Generalmente cuando se habla de estudios de entomología forense inmediatamente se piensa en un estudio de los patrones de sucesión de la entomofauna asociada a los cadáveres, así como los procesos de descomposición en las diferentes situaciones, ambientes y regiones del planeta. En casi todos los casos se trata de trabajos en los que se controlan y miden fenómenos ambientales, como la humedad, radiación solar y especialmente las temperaturas del medio y las de los cadáveres (Castillo-Miralbes, 2002).

Se han publicado diversos trabajos en esta línea de investigación a nivel internacional. En Aragón (España), se realizó el estudio de un conjunto de artrópodos que acuden a los cadáveres de mamíferos expuestos al aire libre,

combinando conocimientos entomológicos y ciencias médicas, con carácter legal. Se planteó como objetivo principal conocer a fondo el proceso de descomposición de cadáveres de vertebrados estudiando la sucesión de la entomofauna asociada a la carroña, así como los desarrollos larvarios de los dípteros necrófagos y sus competencias inter e intraespecíficas en este particular medio, buscó las relaciones o dependencias entre éstos y el proceso de descomposición y las condiciones atmosféricas. Para ello realizó un seguimiento pormenorizado de la evolución de 16 restos de lechones distribuidos en dos estaciones situadas en condiciones de insolación y en ambiente de sombra, durante las cuatro estaciones del año. (Castillo-Miralbes, 2002)

En Puerto Rico se llevó a cabo un estudio de distribución temporal, cuantitativa y cualitativa de insectos que participaron en la descomposición del cerdo *Sus scrofa domesticus* bajo condiciones de sol, sombra parcial y sombra total, tomó muestras de insectos (adultos e inmaduros) en tres cerdos, junto con datos de humedad relativa, temperatura ambiental, corporal y de las masas larvales. Identificó los estados de descomposición fresco, hinchado, activo, activo avanzado y esquelético; así obtuvo un patrón en la sucesión de la entomofauna que demostró que esta herramienta puede utilizarse para la resolución de casos forenses. (Guarin-Vargas, 2005).

En Guatemala se hizo una descripción sobre la entomología forense y su importancia en el proceso criminal donde trata de manera conjunta las contribuciones tanto de la medicina legal como del derecho penal, dando sustento a que las investigaciones criminales pueden echar mano de esta ciencia y de esta manera aporta definición más amplia acerca de lo que atañe en general a la entomología forense. (García-Sánchez, 2006)

En Colombia realizó la caracterización de la entomofauna de importancia forense presente en la descomposición de dos cerdos (*Sus scrofa*), utilizados como sujeto de muestreo y control respectivamente. Gracias a este trabajo se fortalecen las bases para investigaciones futuras aportando información

complementaria acerca de la fauna cadavérica y a estudios comparativos con otras regiones. (Salazar-Ortega, 2008)

Existe una comparación entre el auge de la entomología forense en México y otros países de América Latina, si bien este solo es un estudio comparativo, deja relucir que en nuestro país no se le ha dado el auge necesario a la entomología forense, a diferencia de otros países como Argentina en donde se han destinado recursos para mejorar esta área de estudio y se ha utilizado como herramienta formal en casos de actos criminales (Corona-Pacheco, 2008)

Se realizó un estudio por un periodo de dos años, en el cual sugiere la utilización de insectos, tanto del orden díptera como del orden coleóptera, para la determinación del Intervalo Postmortem. Siendo esta investigación la primera en utilizar como biomodelo a *Sus scrofa* en el estado de México. (Flores-Pérez, 2009)

4. HIPÓTESIS

El cadáver sacrificado de cerdo (*Sus scrofa domesticus)* sacrificado por diazepam recibirá las mismas especies de dípteros durante las diferentes estados de descomposición que el cadáver sacrificado por asfixia.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Analizar la entomofauna de dípteros que arriban ante la rigidez cadavérica en los ejemplares muertos por sobredosis de diazepam y por asfixia mecánica.

5.2 Objetivo particular

- Determinar las especies de dípteros que arriban a los cadáveres de cerdo, en condiciones de laboratorio.
- Analizar las diferencias que se presentan en las especies de dípteros que arriban en cerdo sacrificados mediante asfixia mecánica y mediante sobredosis de diazepam.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Zona de estudio

En este estudio las se realizó en el Parque estatal “Flor del bosque”, ubicado en el municipo de Amozoc que se localiza en la parte central del estado de Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18º 00' 30" y 97º 59' 18" de latitud norte y los meridianos 19º 12' 12" y 98º 08' 42" de longitud occidental. Limita al norte con el municipio de Puebla y Tepatlaxco de Hidalgo, al sur con Cuautinchán, al oriente con los municipios de Tepatlaxco y Acajete y al poniente con el municipio de Puebla. (Fig. 3).

Con clima templado subhúmedo con lluvias en verano que se presenta en una franja latitudinal del sur del municipio predominando en las primeras estribaciones de la Malinche y el clima semifrío subhúmedo con lluvias en verano presentándose en las zonas más altas del volcán la Malinche, excluyendo la cumbre que presenta clima frío. (Amozoc, 2014)

Este parque es un área protegida que alberga tanto especies animales como vegetales originarias de la zona y cuenta con 669 hectáreas de terreno y es uno de los últimos reductos de aire puro de la ciudad de Puebla. Se encuentran cuatro tipos de vegetación: el bosque de encino, bosque de eucalipto, el matorral espinoso y pastizal. (Gobierno del estado, 2011) (Fig. 4)

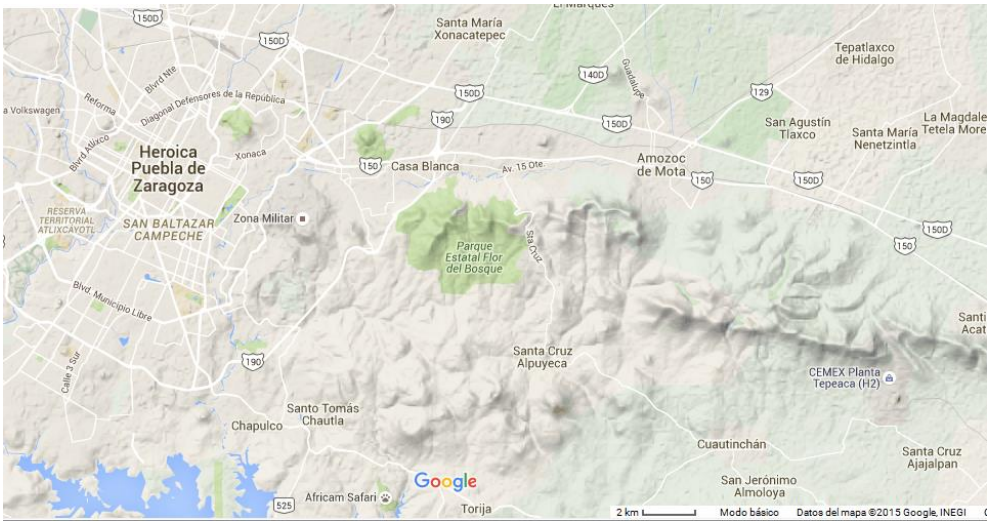


Fig. 3. Mapa de localización de Amozoc.

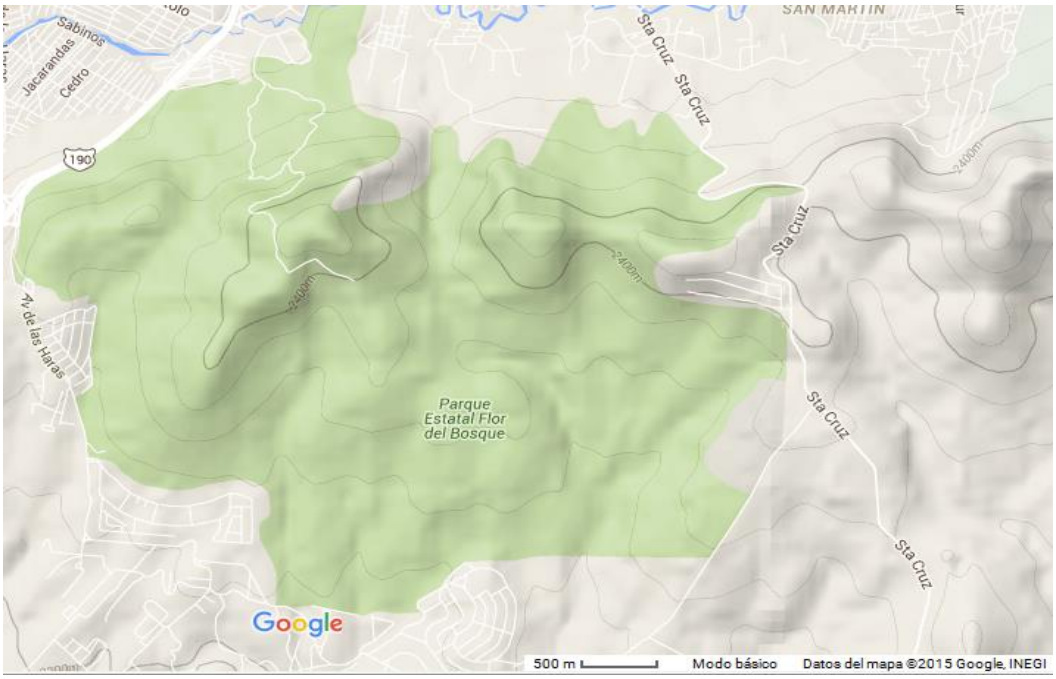


Fig. 4 Ubicación del parque estatal “Flor del bosque”

6.2 Procedimientos

El presente estudio se llevó a cabo en los meses de Julio caracterizado por lluvias y temporadas calurosas.

Se efectuó con dos cerdos (*Sus scrofa*) de aproximadamente 8 kg. Los cuales se identificaron como **a) Testigo** (cerdo A), que se sacrificó por medio de asfixia dentro de una cámara de CO2, (este método no genera ningún tipo de traumatismo percutáneo moretones que pueda alterar la sucesión de insectos); y **b) el vehículo** (cerdo D) al que se le aplicó una dosis de 40mg de diazepam directamente al corazón.

Ambos fueron sacrificados en la zona de estudio y con ayuda del personal del Bioterio de la BUAP “Claude Bernard”.

Una vez hechos los sacrificios, fueron depositados al interior de una jaula metálica (cada uno) basada en el modelo de Schoenly (Centeno & al, 2000) (Fig. 5) con modificaciones que se hacen por facilidad de traslado de la misma.

Esta tiene dos cubiertas de alambre, una que le de soporte con alambre tejido hexagonal de una pulgada de abertura, y la otra con tela tipo mosquitero, (adaptada tanto para proteger animales vertebrados carroñeros como para el trampeo de insectos), se hicieron 4 orificios, los cuales funcionaron como entrada; en la parte superior de la jaula se adaptó a modo de trampa un envase de plástico de 4 Lts. Adherido a una tela de malla (trycot), las dimensiones de la jaula serán de 150 x 100 x 50 cm (fig.2), la eficacia de la trampa en los estudios de fauna sarcosaprófaga ha sido recientemente demostrada. (Flores-Perez 2009)

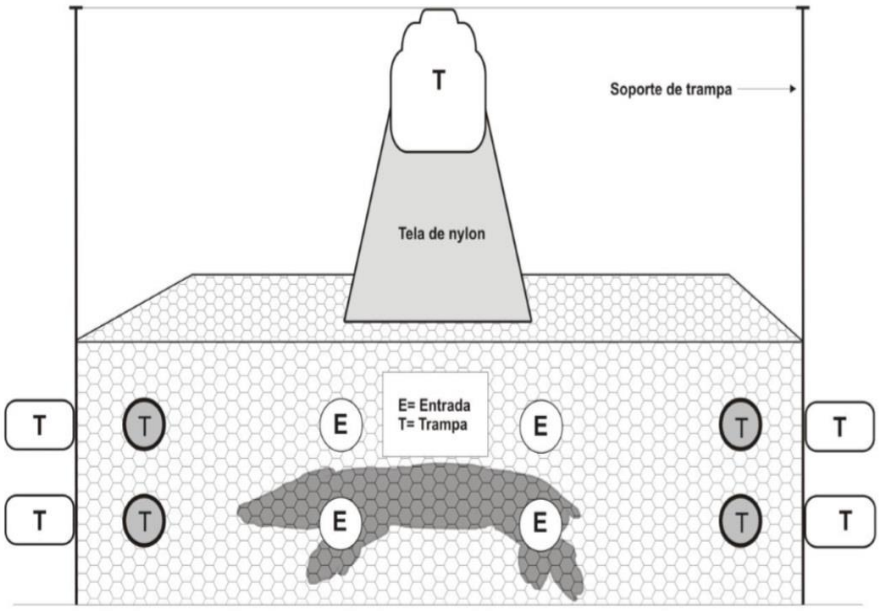


Fig. 5. Diseño de la jaula (Modelo de Schoenly) T=trampa, E=entrada

Una vez que los ejemplares se colocaron dentro de las jaulas, se procedió a realizar los muestreos los cuales se realizaron por un periodo de 30 días; que consistieron en la colecta de dípteros adultos con frascos adaptados en la jaula

(Trampas), mientras que los huevos y estadíos juveniles se colectaron de manera directa con pinzas entomológicas.

Las primeras 2 semanas, se hicieron los muestreos diarios, entre las 12:00 y las 16:00hrs. Después de ese periodo los muestreos fueron espaciados, intercalando los días de colecta, en los mismos horarios.

La colecta incluyó huevos, estadios juveniles y adultos del orden Díptera.

Los adultos fueron colectados con pinzas, de las trampas adaptadas en la jaula y fijados en alcohol al 70% debidamente rotulados, llevándose al laboratorio para su identificación y montaje; las larvas se colectaron con ayuda de pinzas entomológicas, los individuos se colectaron de las zonas del cuerpo donde se agrupan para alimentarse como la cabeza, tórax-abdomen, ano y extremidades; las larvas se colocaron en frascos de 25 ml. y fijados en alcohol al 70% con una previa fijación en agua a 90°C por cinco minutos como mínimo.

Los huevos que se colectaron se trasladaron al laboratorio para esperar su eclosión y comenzar con la cría de larvas. Durante los días de colecta se determinaron los fenómenos de descomposición y sus respectivas características, y se asociaron con cada uno de los estados biológicos de las especies con las fases de descomposición del cadáver.

Se observó y se anotó el tiempo que llevó el desarrollo de los individuos en sus diferentes estadíos para hacer una comparación del IPM (Intervalo PostMortem) en cuanto al desarrollo de los individuos encontrados en ambos cuerpos.

Para identificación taxonómica se utilizó la clave de Whitworth, 2006 para individuos adultos hasta el nivel de especie.

Es necesario añadir que los ejemplares colectados fueron trasladados al Instituto de ecología y sistemática de Xalapa, Veracruz para ser determinados con el apoyo de expertos. Los ejemplares determinados se depositaron en la colección entomológica de la Escuela de Biología de la BUAP.

6.3 Análisis estadístico

Se realizó un listado del número de individuos por especie.

Con el índice de Shannon se determinó la abundancia y riqueza de especies de dípteros utilizando el programa Excel (Microsoft Office 2010 ®)

Usando el programa Excel (Microsoft Office 2010 ®), se hizo una comparación de presencia de las especies colectadas en ambos cerdos.

7. RESULTADOS

Una vez concluidos los análisis correspondientes se determinaron en su totalidad los dípteros colectados que arribaron en ambos cerdos.

Durante los 30 días en los que se llevó a cabo el estudio, se colectaron un total de 997 adultos y 175 larvas en el Cerdo D (Diazepam) y 601 adultos y 160 larvas en el Cerdo A (asfixiado). (Tabla 1)

Posteriormente las larvas colectadas se metieron en cámaras de crianza donde se terminó su ciclo de vida y en estado adulto llevar a cabo la determinación de los individuos, danto un total de 1042 individuos en el Cerdo D y 1109 individuos en el cerdo A.

Todos los individuos colectados son pertenecientes al Orden Díptera, divididos en 4 familias*:* Calliphoridae con 4 géneros y 9 especies; Muscidae con una especie; Sarcophagidae con una especie*,* Piophilidae con una especie.

Los géneros más frecuentes de dípteros encontrados en ambos cadáveres fueron de la familia Calliphoridae: *Cochliomyia* (Townsend, 1915)*, Chrysomya* (Robineau-Desvoidy, 1830)*, Lucilia* (Robineau-Desvoidy, 1830) y *Phormia* (Robineau-Desvoidy, 1830); y de la familia Sarcophagidae: *Sarcophaga spp.*

Los cadáveres pasaron por los diferentes estados de descomposición con duraciones distintas entre ellos, cada uno de los estados de descomposición presentó diferencias en el arribo de los individuo como se muestra en las Tablas 2 y 3.

Tabla 1. Número de dípteros colectados en los cerdo A (Asfixiado), Cerdo D (Diazepam)

Tratamiento	Dípteros adultos	Dípteros juveniles
CERDO A	601	160
CERDO D	997	175

Tabla 3. Estados de descomposición cadavérica del cerdo asfixiado expuesto de julio a agosto de 2011. (Fresco [Fr], Hinchado [H], Descomposición activa [D. Act], descomposición avanzada [D.Av], Restos secos [R. secos]) (Presencia-Ausencia)

Cerdo A

Géneros y especies	**Estados de descomposición (Días de duración)**				
	Fresco (2 días)	**Hinchado** (4 días)	**Desc. Act** (8 días)	**Desc. Av** (4 días)	**Restos Secos** (12 días)
Lucilia sericata	1	1	1	1	1
Lucilia cuprina	1	1	0	0	0
Lucilia mexicana	1	1	1	1	1
Lucilia eximia	1	1	0	0	0
Chrysomya rufifacies	1	1	1	1	1
Chrysomya megacephala	1	1	1	1	1
Cochliomyia hominivorax	1	1	1	0	0
Cochliomyia macellaria	1	1	1	0	0
Phormia Regina	0	0	1	1	1
Musca spp	0	0	1	1	1
Sarcophaga spp	0	0	1	1	1
Piophilidae spp	0	0	1	1	1

Durante el período de colecta se registró por cada día el número de individuos abarcando el tiempo en el que estuvieron activos, registrándose 30 días de actividad, cabe señalar que las lluvias de la temporada impidieron la colecta, en algunos días.

Tabla 4. Estados de descomposición cadavérica del cerdo con diazepam expuesto de julio a agosto de 2011. (Fresco [Fr], Hinchado [H], Descomposición activa [D. Act], descomposición avanzada [D.Av], Restos secos [R. secos]) (Presencia-Ausencia)

Cerdo D

Géneros y especies	**Estados de descomposición (Días de duración)**				
	Fresco (2 días)	**Hinchado** (3 días)	**Desc. Act** (10 días)	**Desc. Av** (6 días)	**Restos Secos** (9 días)
Lucilia sericata	1	0	0	0	0
Lucilia cuprina	1	1	0	0	0
Lucilia mexicana	1	1	1	1	1
Lucilia eximia	1	0	0	1	0
Chrysomya rufifacies	1	1	1	1	1
Chrysomya megacephala	1	1	1	1	0
Cochliomyia hominivorax	1	1	1	1	0
Cochliomyia macellaria	1	1	1	1	1
Phormia Regina	0	0	0	0	0
Musca spp	0	1	0	1	1
Sarcophaga spp	0	1	1	1	0
Piophilidae spp	0	1	1	0	0

Se llevó a cabo una comparación de los individuos colectados por día de esta manera se ilustra la diferencia en la llegada y estancia de las especies de Dípteros para ambos cerdos, evidenciando las diferencias en la duración del tiempo de descomposición.

Considerando al Cerdo A como control y observando que hay una diferencia mínima en la presencia de individuos por el total de especies encontradas. Tomando en cuenta que solo hubo 18 días de actividad en el Cerdo A en comparación de los 30 días de actividad del Cerdo D. Figuras 6 y 7

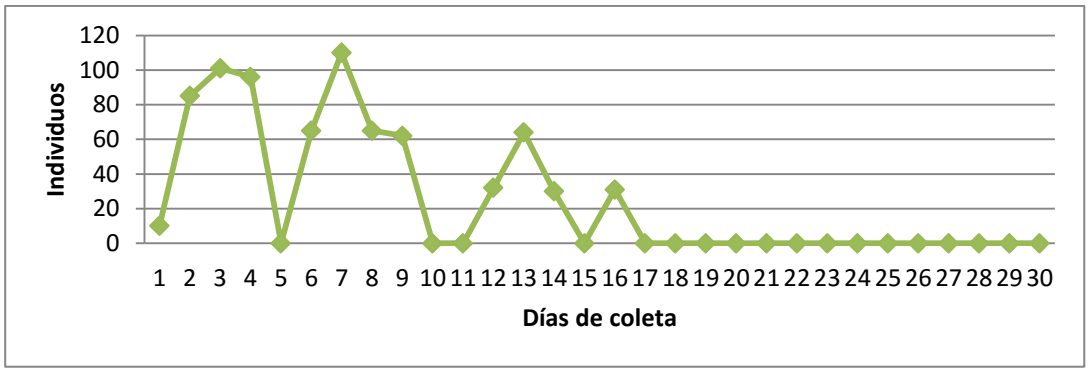


Fig.6 Número total de dípteros colectado por día en el cerdo asfixiado durante el período experimental de 30 días

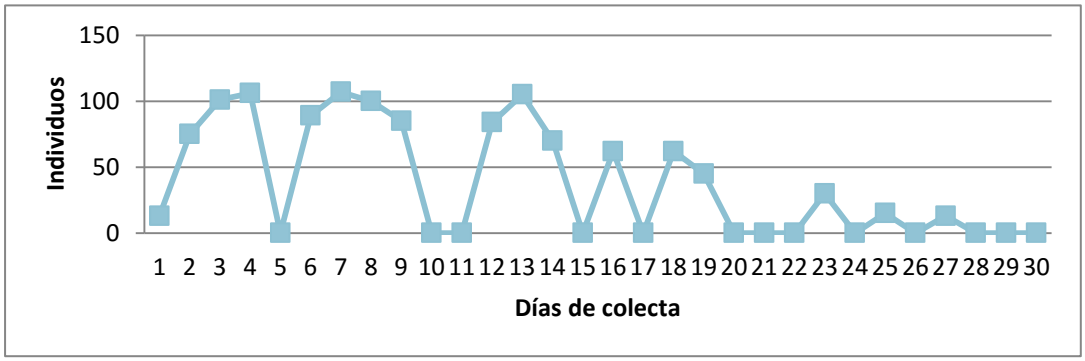


Fig.7 Número total de dípteros colectado por día en el cerdo asfixiado durante el período experimental de 30 días

Se muestra una diferencia entre el número total de individuos por especie colectados en ambos cerdos (A y D), puesto que los individuos del cerdo A solo se colectaron hasta el día 16 de muestreo, mientras que la colecta de los individuos del cerdo D se extendió hasta el día 29 de la investigación. Teniendo una diferencia de 411 individuos colectados en cerdo D.

Se obtuvó un mayor porcentaje de individuos para las especies: *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1843), *Cochlyomya hominivorax* (Coquerel, 1858), *Cochlyomya macellaria* (Fabricius, 1775).

En estas cuatro especies se encontró mayor número de individuos en el Cerdo A, apreciando una diferencia en el número de individuos de *C. macellaria* y *C. megacephala.* . Figura 8

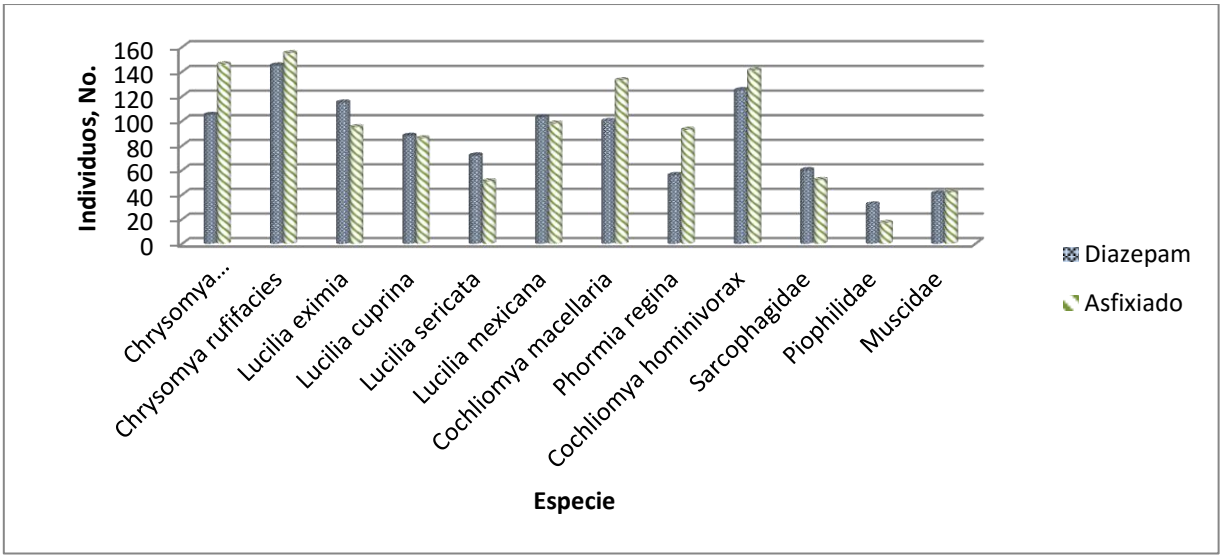


Fig. 8 Presencia del total de individuos por especie colectados durante el período de estudio, en ambos grupos.

De acuerdo con el índice de Shannon para conocer la diversidad de especies encontradas en ambos cerdos se obtuvo una diversidad de H'= 2.39; para el caso de del cerdo muerto por sobredosis mostró un valor de H'=2.406; mientras que para el cerdo asfixiado el índice fue H'= 2.362 lo que se considera como una alta diversidad de especies presas. (Tabla 4)

Tabla 4. Índice de Shannon por categorías

ÍNDICE DE SHANNON

$$H' = -\sum_{i=1}^{S}(p_i \times \log_2 p_i)$$

Diazepam	2.406
Asfixiado	2.362
Total	2.39

En el anexo uno se presentan las tablas de los valores por día de la temperatura, humedad, punto de rocío y velocidad del viento del área de la reserva de Flor del Bosque, datos obtenidos de la estación meterorologica de la BUAP (RAMM11: Flor del Bosque). Empezando por el 23 de Julio del 2011 que se toma como inicio del proyecto, y hasta el día 9 de agosto del 2011 debido a una pérdida de datos, en la estacion meteorológica.

8. DISCUSIÓN

La llegada de varios dípteros de forma temprana a los cadáveres es un resultado esperado, algunos autores como Velázquez y Col. (2011) hicieron énfasis en la llegada del orden Coleóptera, orden más abundante de la clase insecta, pero que obviamente los caracteres morfológicos de su vuelo los hacen más lentos que en el caso de del orden Díptera, aspecto que hasta el momento no había sido considerado en los estudios que nos anteceden con el uso del diazepam. Durante el presente estudio arribaron un número similar de organismos a los notificados en otros trabajos.(Velázquez Coutiño 2011).

Sin ser parte de los objetivos principales es evidente que la llegada de dípteros es mucho más temprano que en el caso de los coleópteros.

La evidencia de llegada y el desarrollo de los estadios larvarios de forma abrupta soportan lo anteriormente señalado, pues como se observa en la tabla, las primeras larvas colectadas corresponden con el orden Díptera, sin embargo, al no ser objetivo medular de este trabajo sino de otro estudio, los coleópteros fueron colectados para otra investigación componente del mismo proyecto con una diferencia de llegada de más de 48 hrs (comunicación personal).

Las variaciones en la descomposición coinciden con otros estudios y en este estudio en particular se corresponden con la causa de muerte. Calle Dávila (2009) al investigar el efecto del diazepam y de un organofosforado sobre un modelo diferente, conejo cuy (*Cavia porcellus*), mostraron resultados similares a los nuestros evidenciando que los Dípteros parecen ser un buen indicador a tomar en consideración en estos tipos de estudios de entomología forense. De igual forma la estancia de éstos en los cadáveres y el desarrollo holometabólico de los mismos retarda su estancia sobre los cadáveres, aspecto de utilidad para la interpretación y valoración del tiempo de muerte. Otra observación importante en la presente investigación va dirigida a la demora de formación de pupas en los cadáveres de los cerdos, que como se muestra con relación al control fue más

demorada; este aspecto es coincidente con los resultados obtenidos por Calle Dávila (2009) en conejos tratados de forma experimental con organofosforados y con diazepam, en los cuales, en los intoxicados con los productos, se obtuvo la pupa 7 días después que en el conejo control, probablemente las larvas fueron afectadas por las sustancias, conforme a Martínez (2006) quien reporta el retraso de 24 horas por plaguicidas en el desarrollo de la entomofauna necrófaga. En el cadáver con órganofosforados, muchas larvas murieron y pocas lograron concluir con su desarrollo.

La entomofauna de Dípteros fue abundante, los resultados demuestran que varias especies arribaron al cadáver, sin embargo, en la investigación llevada a cabo con otro modelo (conejos) no existe coincidencia con las especies. Lo que es evidente, debido a las transiciones de las variables abióticas y por supuesto bióticas, ya que las condiciones ambientales de esta zona no coinciden con la zona del estudio. Este trabajo es quizá el primero que se realiza bajo estas condiciones y como modelo, pues otros han trabajo con organismos de experimentación no cercanos a los caracteres de *Sus scrofa,* considerado como el modelo más parecido morfofisiológicamente al humano.(Shean & al, 1993) (García-Rojo, 2004).

Un resultado interesante y no formulado como objetivo del trabajo es el obtenido con las variaciones de descomposición del modelo utilizado, en el cual, en una zona con una humedad relativa alta y bajo las mismas condiciones de altura y humedad, se obtuvo una descomposición acelerada en el cerdo con diazepam a diferencia del cerdo control que llegó al estado de descomposición avanzada con una semana de diferencia más tarde, lo que se refleja en la ausencia de dípteros en todos sus estadios y que se muestra en los resultados.

En un estudio llevado a cabo en áreas templadas por Leccese, (2004) se evidenció la presencia de la familia Sarcophagidae durante las primeras etapas de descomposición. En este estudio, la presentación de los sarcofágidos se dio de

manera similar, solo que con un día de anticipación y su estancia se prolongó hasta el estado de descomposición avanzada en contraste con Calle Dávila (2009), donde se presentaron al segundo día y se mantuvieron en estado fresco, enfisematoso y colicuativo y en contraposición con Carvallo (2004), quien reporta la presencia de sarcofágidos a partir del quinto día. En el estado de descomposición activa, la presencia de dípteros se redujo considerablemente discrepando con los datos de Centeno (2002).

En los dos cadáveres que se estudiaron en esta investigación se encontró que *Chrysomya ruffifacies* fue la especie más abundante. En estudios similares realizados por Calle Dávila (2009) notifican a *Musca doméstica* como la especie más abundante. Sin embargo, tomando en consideración aspectos etológicos, es necesario aclarar que la misma es una especie oportunista y no trasciende su importancia desde el punto de vista forense; por otra parte se requiere considerar que la misma, es cosmopolita, asociada a las áreas urbanas.

A esta le siguen como especies representativas *Chrysomya megacephala* en el cerdo A, y *Cochliomya hominivorax* en el cerdo D, datos que no concuerdan con los presentados por Calle Dávila (2009), lo cual, pudiera deberse a las diferencias en las condiciones biogeográficas bajo las que se realizó la investigación. No obstante, Flores Pérez (2009) reporta que *Chrysomya ruffifacies* junto con *Lucilia eximia* y *Cochliomya macellaria* fueron las especies más representativas en la investigación realizado con un modelo animal igual al nuestro *(Sus scrofa).*

9. CONCLUSIONES

- Se logró determinar la entomofauna de dípteros que arriban en los primeros momentos tras la rigidez cadavérica durante el periodo de lluvia.

- De igual forma, se lograron colectar un total de 2151 ejemplares de dípteros que pudieran ser referencia para trabajos futuros de ensayo.

- Existen diferencias en el tiempo arribo y permanencia de especies, entre los cerdos asfixiados y muerte por sobredosis de diazepam.

- El número de individuos fue similar para ambos ensayos.

- Se determinó una riqueza de especies que coincide con las características de la zona de estudio dada su conservación moderada.

10. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Alcalá D., Yánez S.,2006. *Miasis furuncular causada por Dermatobia hominis*. Rev Cent Dermatol Pascua;15(1):23
- Byrd, J.H. and J. L. Castner. 2000. *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations.* CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.
- Castillo-Miralbes M., 2002. *Estudio de la Entomofauna Asociada a Cadáveres en el Alto Aragón España*. Monografías S. E. A. Vol. 6 Primera edición. España. Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA).
- Catts, E.O. & M.L. Goff, 1992. *Forensic entomology in criminal investigations. Annual Review of Entomology*, Standford.
- Centeno, N. D, Maldonado M, Oliva A. 2000, *Preliminary foundings of necrophagous Fauna on domestic pig in Argentina*. *En: Abstracts of the XXI International Congress of Entomology,* 2000, 2:758. Abstracts 3005. [online]
- Corona Pacheco, C., 2008. *El estado de arte de la entomología forense en México a diferencia de otros países de Latinoamérica*. Universidad Micohoacana de San Nicolas Hidalgo. Facultad de Biología. Michoacan, México.
- Flores Pérez, L. R., 2009, *Sucesión de entomofauna cadavérica utilizando como biomodelo cerdo blanco, Sus scrofa L.,* Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco.
- García Sánchez, J. A., 2006 *Necesidad de la aplicación de la entomología forense dentro del proceso penal guatemalteco*". Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de ciencias jurídicas y sociales. Guatemala
- García-Rojo A.M., 2004. *Estudio de la sucesión de insectos en cadáveres* en Alcalá de Henares (Comunidad Autonoma de Madrid) utilizando cerdos domésticos como modelos animales. [Online] Boln. S.E.A., nº 34 (2004) : 263 – 269.
- Gisbert, Calabuig, E.Villanueva Cañadas, 6ª ed. Medicina Legal y toxicología, 2004.

- Guarín Vargas Edwin. Insectos de Importancia Forense Asociados a la Descomposición Cadavérica del Cerdo *Sus Domesticus*, Expuesto a Sol, Sombra Total y Sombra Parcial, En Mayagüez, Puerto Rico. 2005
- Ayuntamiento de Amozoc. *Amozoc*. 2014. Recuperado el 06 de agosto de 2014 de http://www.amozoc.gob.mx/
- *Psicofarmacologia s.f.* Recuperado el 16 de julio de 2011 de http://psicofarmacologia.info/ansioliticos.html
- Raisman J.S., Gonzalez A.M. (s.f.) *Hipertextos del Área de Biología.* Recuperado el 16 de Julio de 2011 de http://www.biologia.edu.ar/farmacologia/clas4to%5Cbenzodia_2002.PDF
- Conabio (S.f.) Recuperado el 20 de agosto de 2014 de http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Susscrofa_domestica_00.pdf
- Parque Estatal Flor del bosque. (2011-2017) Gobierno del estado de Puebla®. Recuperado el 02 de febrero de 2012 de http://www.flordelbosque.pue.gob.mx/
- L.J., Dusci, S. M., Good, R.W., Hall, and K. F., Ilett, 1990. *Excretion of diazepam and its metabolites in human milk during withdrawal from combination high dose diazepam and oxazepam*. US National Library of MedicineNational Institutes of Health. Jan;29(1):123-6.
- L. S. Goodman, A. Gilman, 4ed 1974. Bases farmacológicas de la terapéutica.
- Oliva, A., 1997. *Insectos de interés forense de Buenos Aires (Argentina). Primera lista ilustrada y datos bionómicos.* Revista Mus. arg. Cs nat., Ent., 7(2): 13-59.
- Salazar-Ortega J., 2008. *Estudio de la Entomofauna Sucesional Asociada a la descomposición de un Cadáver de Cerdo Doméstico (Sus scrofa) en condiciones de campo.* Vol. 3 No. 1
- Tullis, K. & Goff, M. L. 1987. *Arthropod succession in exposed carrion in a tropical rainforest on O'ahu Island, Hawaii*. J. Med. Entomol., 24: 332-339.

- Watson, E.J. & Carlton. 2003. *Spring succession of necrophagous insects on wildlife cacasses in Louisiana.* J. Med. Entomol. 40: 338-347
- Whitworth T. 2006. *KEYS TO GENERA AND SPECIES OF BLOW FLIES (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) OF AMERICA NORTH OF MEXICO*. Proc. Entomol. Soc. Wash 108(3): 689- 725

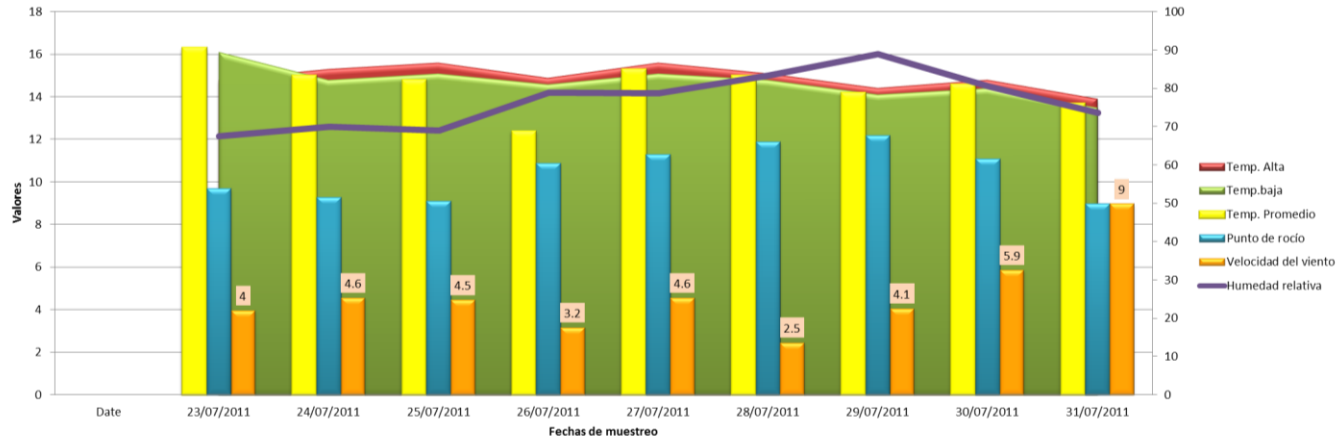
- Velázquez Coutiño J. Octavio. 2011 *Sucesión de insectos sarcosaprofagos que participan en la degradación del cerdo doméstico (Sus scrofa) en el parque del bicentenario, San Francisco Totimehuacan, Puebla.* Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Escuela de biología.

- SHEAN, B.S., MESSINGER, L., and PApo WORTH, M., "Observations of Differenfial De· compositian on Sun Exposed v. Shadad Pig Carricn in Coastal Washington State," Journal of Forensic Sciences, JFSCA, Val. 38, N" 4, July 1993, pp. 938-949.

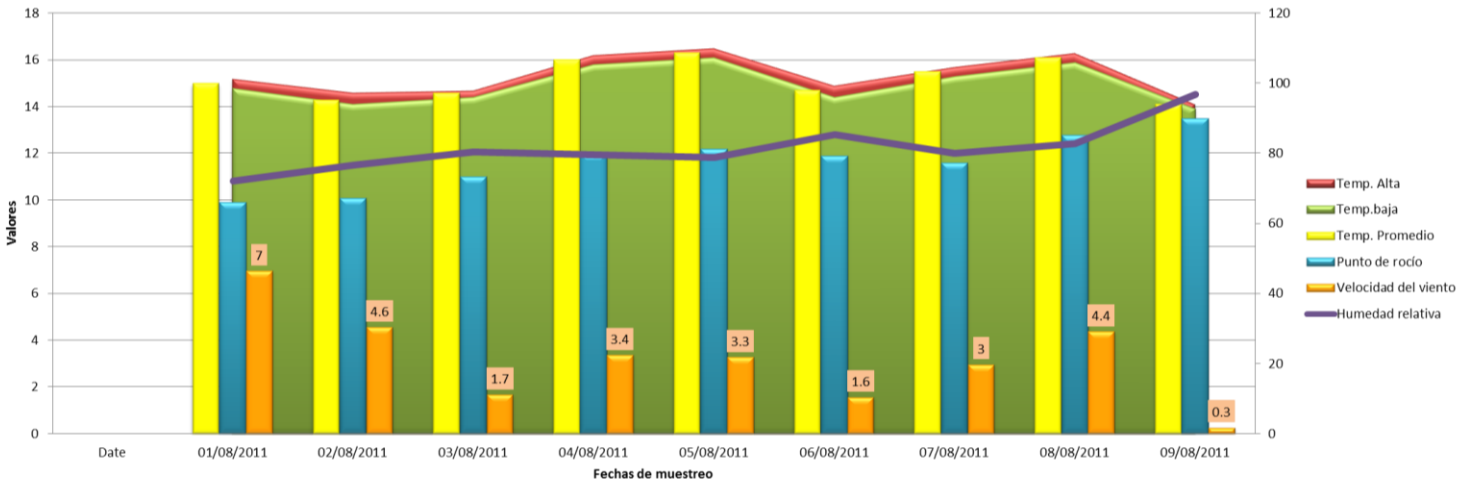
11. ANEXOS Y APÉNDICES

Anexo 1. Valores de temperatura y humedad

Gráficas de los promedios de Valores Climáticos de los meses de Julio y Agosto



Julio del 2011



Agosto del 2011

Anexo 2.

Imágenes

Cerdo A (Sacrificado por asfixia mecánica)

Cerdo D. (Sacrificado por sobredosis de Diazepam)

Apéndices

Crianza de larvas

La crianza de las larvas de moscas necrófagas es simple. Para su manejo adecuado es necesario conocer el ciclo evolutivo de la especie, así como de sus necesidades de alimentación, temperatura y humedad

La cámara de cultivo de larvas se hace con tarros de plástico de tapa hermética. Se corta un espacio al centro de la tapa el que se cubre con una tela fina que permita la oxigenación. El tarro se llena hasta la mitad con aserrín fino o arena. En el interior, un trozo de hígado que sirve de sustrato sobre el cual se depositan los huevos recién puestos por las moscas. Al nacer las larvas, ingieren hígado y pasan por sus tres estadios larvarios antes de introducirse en el aserrín o arena a pupar. Los adultos emergen luego de las pupas y los tarros se dejan en las jaulas para aumentar su población

El ciclo de vida de las larvas de primer, segundo y tercer instar se completa criándolas a una temperatura de 32-37 ºC (89-98 ºF) y humedad relativa del 80-90%.