

CIENCIA FORENSE

Revista Aragonesa de Medicina Legal

N^o 8

Año

2006

Monográfico:

Entomología forense

Artículos originales

INSTITUCIÓN «FERNANDO EL CATÓLICO»

Excma. Diputación de Zaragoza

La versión original y completa de esta obra debe consultarse en:
<https://ifc.dpz.es/publicaciones/ebooks/id/2657>



Esta obra está sujeta a la licencia CC BY-NC-ND 4.0 Internacional de Creative Commons que determina lo siguiente:

- BY (Reconocimiento): Debe reconocer adecuadamente la autoría, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo de cualquier manera razonable, pero no de una manera que sugiera que tiene el apoyo del licenciador o lo recibe por el uso que hace.
- NC (No comercial): La explotación de la obra queda limitada a usos no comerciales.
- ND (Sin obras derivadas): La autorización para explotar la obra no incluye la transformación para crear una obra derivada.

Para ver una copia de esta licencia, visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>.

CIENCIA FORENSE

Revista Aragonesa
de Medicina Legal

NÚM. 8

CIENCIA FORENSE

Revista Aragonesa
de Medicina Legal

NÚM. 8



INSTITUCIÓN «FERNANDO EL CATÓLICO» (C. S. I. C.)

Excma. Diputación de Zaragoza

Zaragoza, 2006

Publicación número 2.703
de la
INSTITUCIÓN «FERNANDO EL CATÓLICO»
(Excma. Diputación de Zaragoza)
Plaza de España, 2
50071 ZARAGOZA (España)
Tff.: [34] 976 28 88 78/79 - Fax: [34] 976 28 88 69
ifc@dpz.es
<http://ifc.dpz.es>

FICHA CATALOGRÁFICA

CIENCIA FORENSE. Revista Aragonesa de Medicina Legal. N^o 1
(1999).- Zaragoza: Institución «Fernando el Católico»,
1999.- 24 cm

Anual

ISSN: 1575-6793

I. Institución «Fernando el Católico», ed.

340.6(460.22)

Toda correspondencia, peticiones de envío, canje, etcétera, deben dirigirse a la Institución «Fernando el Católico». Las normas de presentación de originales se encuentran al final de la revista.

La Revista *CIENCIA FORENSE* no se identifica con las opiniones o juicios que los autores exponen en uso de la libertad intelectual que cordialmente se les brinda.

Diseño de cubierta: José Luis Cano.

© Los autores.

© De la presente edición: Institución «Fernando el Católico».

ISSN: 1575-6793

Depósito Legal: Z-879/99

Impresión: Imprenta Provincial. Zaragoza

IMPRESO EN ESPAÑA - UNIÓN EUROPEA

CIENCIA FORENSE
REVISTA ARAGONESA DE MEDICINA LEGAL

Directora

MARÍA BEGOÑA MARTÍNEZ-JARRETA
Catedrática de Medicina Legal y Forense
Universidad de Zaragoza (ESPAÑA)

Coordinadora

MARÍA CASTELLANO ARROYO
Catedrática de Medicina Legal y Forense
Universidad de Granada (ESPAÑA)

Secretario

JOSÉ ASO ESCARIO
Médico Forense
Profesor Asociado de la Cátedra de Medicina Legal y Forense
Universidad de Zaragoza (ESPAÑA)

Coordinación del presente número

MARÍA DOLORES GARCÍA GARCÍA
Profesora titular de Zoología
Facultad de Biología
Universidad de Murcia (ESPAÑA)

Comité de Redacción

ARMANDO BARREDA HERNÁNDEZ
Magistrado-Juez del Juzgado de lo Penal n.º 6
de Zaragoza

JUAN ANTONIO COBO PLANAS
Director de la Clínica Médico-Forense
de Zaragoza

ANA FERRER DUFOL
Jefe de Sección del Servicio de Medicina Legal y Toxicología
Hospital Clínico Universitario
Profesora Asociada
Universidad de Zaragoza

RAFAEL HINOJAL FONSECA
Catedrático de Medicina Legal y Forense
Universidad de Oviedo

FABRICIO GONZÁLEZ-ANDRADE
Médico. Laboratorio de Genética de la Cruz Roja Ecuatoriana
DIAGEN, Diagnóstico e Identificación Genética. Quito (ECUADOR)

LUIS PASTOR EIXARCH
Magistrado. Zaragoza

Consejo Asesor

- DR. JOSÉ MARÍA ABENZA ROJO
Médico Forense. Madrid
- DR. BRUCE BUDOWLE
Chief. Senior Scientist. FBI Washington D.C. (USA)
- PROF. A. CARRACEDO ÁLVAREZ
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Santiago
- PROF. J. CASTILLA GOZALO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Málaga
- PROF. L. CONCEIRO CARRO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Santiago
- PROF. J. CORBELLÀ CORBELLÀ
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Barcelona
- PROF. N. DUARTE VIEIRA
Catedrático de Medicina Forense. Director del Instituto de Medicina Legal
Universidad de Coimbra
- DR. SERGIO GALLEGO Riestra
Inspector de Sanidad. Asturias
- PROF.^a MARINA GISBERT GRIFO
Profesora Titular de Medicina Legal y Forense
UNIVERSIDAD DE VALENCIA
- PROF. C. HERNÁNDEZ CUETO
Profesor Titular de Medicina Legal y Forense. Universidad de Granada
- PROF. E. HUGUET RAMIA
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Barcelona
- PROF. A. LUNA MALDONADO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Murcia
- PROF. J. B. MARTÍ-LLORET
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Alicante
- PROF. L. FRONTELA CARRERAS
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Sevilla
- PROF. M. LÓPEZ RIVADULLA
Catedrático de Toxicología. Universidad de Santiago
- PROF. P. MARTÍNEZ BAZA
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Valladolid
- PROF. R. MUÑOZ GARRIDO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Salamanca
- PROF. V. MOYA PUEYO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad Complutense de Madrid
- PROF. DR. D. EDUARDO OSUNA CARRILLO DE ALBORNOZ
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Murcia
- DR. M. REPETTO JIMÉNEZ
Ex Director del Instituto Nacional de Toxicología. Departamento de Sevilla
- PROF. M. RODRÍGUEZ PAZOS
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Barcelona
- PROF. C. ROMEO CASABONA
Catedrático de Derecho y Genoma Humano. Universidad de Deusto
- PROF. J. L. ROMERO PALANCO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Cádiz
- DR. JAVIER SÁNCHEZ CARO
Subdirector Gral. de la Asesoría Jurídica del Insalud. Madrid
- DR. M. SANCHO RUIZ
Director del Instituto Nacional de Toxicología. Departamento de Madrid
- PROF.^a AURORA VALENZUELA GARACH
Catedrática de Medicina Legal y Forense. Universidad de Granada
- PROF. J. L. VALVERDE VILLARREAL
Director del Instituto Nacional de Toxicología. Departamento de Barcelona
- PROF. J. D. VILLALÁIN BLANCO
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Valencia
- PROF. E. VILLANUEVA CAÑADAS
Catedrático de Medicina Legal y Forense. Universidad de Granada

ÍNDICE

REVISIONES

LUNA MALDONADO, A.; GARCÍA GARCÍA, M. ^a D.: La enseñanza de la entomología forense. La realidad española	11
ARNALDOS, M. ^a I.; LUNA, A.; PRESA, J. J.; LÓPEZ-GALLEGO, E.; GARCÍA GARCÍA, M. D.: Entomología Forense en España: hacia una buena práctica profesional	17
PASQUERAULT, Th.; VINCENT, B.; DOUREL, L.; CHAUVET, B.; GAUDRY, E.: Los muestreos entomológicos: de la escena del crimen a la peritación	39
GARCÍA-ROJO, A. M. ^a , HONORATO, L.: La Entomología forense y la práctica policial en España: estimación del intervalo <i>post-mortem</i> en un cadáver hallado en el interior de una arqueta en la Comunidad de Madrid	57
ARNALDOS, M. ^a I.; PRADO E CASTRO, C.; PRESA, J. J.; LÓPEZ-GALLEGO, E.; GARCÍA GARCÍA, M. ^a D.: Importancia de los estudios regionales de fauna sarcosaprófaga. Aplicación a la práctica forense	63
ROMERO PALANCO, J. L.; MUNGÍA GIRÓN, F.; GAMERO LUCAS, J.: Entomología cadavérica en la provincia de Cádiz (S. de España)	83
PANCORBO, M. M. de; RAMOS, R.; SALOÑA, M.; SÁNCHEZ, P.: Entomología molecular forense	107

ARTÍCULOS ORIGINALES

GONZÁLEZ-ANDRADE, F.; SÁNCHEZ, D.; MARTÍNEZ-JARRETA, B.: El mestizaje genético en Ecuador y su aplicación médico forense	133
--	-----

NORMAS DE PUBLICACIÓN	155
-----------------------------	-----

REVISIONES

LA ENSEÑANZA DE LA ENTOMOLOGÍA FORENSE. LA REALIDAD ESPAÑOLA

AURELIO LUNA MALDONADO¹ Y MARÍA DOLORES GARCÍA GARCÍA²

Resumen: La formación actual en entomología forense en nuestro país requiere implicar en los proyectos docentes a los grupos con las suficientes solvencia y capacidad científica para dar una respuesta adecuada; esto nos obliga en nuestro país a la formación de consorcios docentes, no sólo entre diferentes universidades sino entre las diferentes instituciones que participan en la actividad pericial práctica. Proponemos la constitución de una institución europea que centralice y coordine las actividades formativas en Entomología Forense y que establezca los criterios mínimos de calidad exigibles para la acreditación de cursos que estén reconocidos en toda la Unión Europea.

Palabras clave: Entomología Forense, formación docente, institución europea.

Abstract: The present education in Forensic Entomology in Spain needs to implicate in teaching projects the groups with enough reliability and scientific capacity in order to answer properly. This need obliges to constitute teaching consortiums between different universities as well as between the different institutions involved in the actual expertise practice. We propose the constitution of an european institution to centralize and coordinate the teaching activities in Forensic Entomology. It should establish the minimum quality standards to be required to do credit to courses recognized by the European Union.

Key words: Forensic Entomology, teaching activities, european coordinating institution.

¹ Cátedra de Medicina Legal y Forense, Universidad de Murcia.

² Área de Zoología. Departamento de Zoología y Antropología Física. Universidad de Murcia.

Hoy en día nadie discute el concepto de interdisciplinariedad de las Ciencias Forenses, es más, suele ser uno de los ejemplos paradigmáticos de la complementariedad de las distintas áreas de conocimiento orientadas a un objetivo común, en este caso el auxilio a la administración de la justicia mediante el aporte de evidencias que permiten la reconstrucción de unos hechos objeto de litigio.

Basta realizar un breve recorrido sobre la oferta formativa en las Ciencias Forenses para darnos cuenta del éxito de nuestra disciplina, donde las posibilidades de formación desbordan con mucho las expectativas más optimistas, y es en el análisis de nuestra realidad desde donde se hace necesaria una reflexión crítica sobre la misma.

No queremos entrar en el debate de la orientación exigible a una oferta formativa; desde nuestra perspectiva personal resulta evidente que la formación orientada a la resolución de problemas es el eje que debe vertebrar la docencia en las Ciencias Forenses. Conceptos como el de competencia y rendimiento forman parte de la estructuración de los objetivos de cualquier proyecto docente. La educación basada en competencias exige previamente la definición de las mismas y para ello existen diferentes modelos para definir competencias; no es el momento de entrar en ellos pero sí consideramos necesario recordar que, detrás de estos modelos, subyace una ideología y que, al establecer el perfil competencial, estamos transmitiendo un concepto determinado de una disciplina que no es neutro y que debe definirse en aras de la claridad y honestidad de los planteamientos.

Sin embargo existe una serie de incertidumbres que plantean zonas de sombra en la formación de nuestros especialistas; la tentación de convertirnos en una moderna versión de Leonardo de Vinci, con un amplio repertorio de capacidades, y deslizarnos hacia una categoría especial de supuestos expertos en todo es una tentación que con más frecuencia de lo debido cristaliza en nuestra actividad cotidiana.

Muchas son las posibilidades que tenemos en nuestra materia y en todas existe una serie de riesgos:

Saber mucho de una parcela muy concreta.

Saber algo de una disciplina muy amplia.

Saber un poco de muchas cosas.

Es evidente que la formación generalista amplia nos ofrece un observatorio privilegiado para integrar en un marco de referencia común los distintos conocimientos, pero en la confrontación entre la profundidad de los conocimientos y la amplitud y dispersión de los mismos encontrar la siempre fácil postura ecléctica del término medio no resuelve el problema. Situaciones complejas pueden requerir de unos conocimientos muy especializados al alcance de pocas personas, mientras que una situación intermedia puede resolverse por un profesional medianamente especializado.

Nuestra especialidad requiere el trabajo en equipo, hoy en día resultaría ridículo, cuando menos, que un profesional diera respuesta a todos los posibles problemas; la necesidad de centros donde diferentes profesionales dan respuesta a los problemas no la discute nadie. Y es en este contexto desde donde se debe analizar una propuesta de formación que puede estructurarse en tres niveles:

- a) Formación básica que se puede dividir en
 - Información general dirigida a otros especialistas.
 - Información básica como requisito previo a la formación especializada.
- b) Formación especializada dirigida a la capacitación de los especialistas en Entomología Forense.
- c) Formación especializada dirigida a la capacitación específica en campos muy concretos para especialistas previamente formados.

Esto nos exige delimitar no sólo el contenido de la propuesta formativa, es decir ¿qué?, sino también ¿a quién?, ¿cómo? y ¿dónde?

Es posible, en un repaso apresurado a la abundante oferta formativa en entomología forense, detectar una serie de problemas:

1. Inadecuada selección de las personas a las que van dirigidos.
2. Ausencia de certificación o de acreditación por parte de organismos solventes e independientes de los cursos.
3. Contenidos orientados más a la información que a la capacitación, etc.

Resulta necesario reflexionar sobre la necesidad de que la formación esté acreditada y certificada por organismos que ofrezcan una garantía de imparcialidad y de solvencia científica; es evidente que la centralización en las sociedades científicas supone una serie de riesgos de todos conocidos, pero la ausencia de las sociedades no es admisible, pueden y deben asumir la responsabilidad; sin embargo debe existir una serie de cautelas que impidan que bajo las premisas de la calidad necesaria puedan deslizarse sistemas de privilegio o de control de ciertos grupos de poder (existen ejemplos en otras áreas).

Por otro lado existe un hecho esencial que si no lo tenemos en cuenta corremos el riesgo de perdernos en una serie de reflexiones teóricas más o menos brillantes pero profundamente inútiles, nos referimos a las relaciones entre el mercado de trabajo y los programas de formación. En este terreno nuestro país presenta un modelo manifiestamente imperfecto. Los Institutos de Medicina Legal no han podido adaptarse a una realidad de interdisciplinariedad; esperemos que sea posible una redefinición funcional que permita una integración efectiva de una serie de profesionales que enriquezcan con sus conocimientos el abordaje de los problemas periciales reales.

Es evidente que el modelo actualmente vigente no es coincidente con la mayoría de los países europeos; sin caer en el tópico fácil del lema «Spain is different», debiéramos reflexionar sobre nuestra realidad y sus causas, pero parafraseando a Kipling «eso es otra historia».

Para responder a las preguntas anteriormente formuladas: ¿qué?, ¿a quién?, ¿cómo? y ¿dónde? vamos a intentar ofrecer de forma resumida nuestras opiniones.

En primer lugar se trata de preguntas interrelacionadas entre sí, ya que el contenido docente está vinculado a quien va dirigido; no es lo mismo una información dirigida a los cuerpos policiales, a los especialistas en medicina legal o a un biólogo especialista en entomología forense. Es evidente que la formación básica de partida condiciona la formación posterior; desde nuestra perspectiva no hay duda que un entomólogo forense debe proceder de la biología y de la entomología como formación previa básica que permite afrontar una especialización adecuada.

En el Proyecto Tuning, Lowyck (2002) (1) aborda diferentes problemas con una orientación basada en el «estado de la práctica» y ha argumentado sobre algunas implicaciones y retos para los estudios de educación superior. Aunque se reconoce la importancia del «estado de la práctica» de los programas de estudios, restringirse a ella implicaría caer en la trampa de centrarse en el desarrollo de soluciones de problemas que en tiempos de cambio acelerado, aunque dichas soluciones pueden ser válidas para estos problemas, serán inadecuadas cuando se apliquen, ya que los problemas en sí mismos han cambiado o han desaparecido. La frase de JUDGE (1990) (2) «la educación de un docente es más un producto de la historia que de la lógica», cobra totalmente sentido si la aplicamos a nuestra disciplina, la evolución histórica vinculada en sus inicios a la Medicina Legal ha introducido algunos elementos de distorsión que todavía persisten, sobre todo en el área mediterránea. Considerando este hecho debemos adoptar una perspectiva más innovadora y basada en la investigación. Queremos subrayar esta afirmación, no es admisible una docencia sin una investigación que la revitalice, ya que la creación de conocimientos y la transmisión de los mismos son dos caras de un mismo proceso, y nos delimita la docencia de calidad de la simple divulgación científica. Pensamos que la universidad necesita integrarse funcionalmente en los institutos de Medicina Legal para establecer un proceso de diálogo continuo con los problemas y plantear las respuestas educativas más adecuadas a la realidad asistencial.

Estructurar unos contenidos docentes y su metodología plantea el reto de implicar en proyectos de colaboración a los grupos con la suficiente solvencia y capacidad científica para dar una respuesta adecuada; esto nos obliga en nuestro país a la formación de consorcios docentes, no sólo entre diferentes universidades sino entre las diferentes instituciones que participan en la actividad pericial práctica. De otra parte, el espacio común

europeo no puede ser sólo una frase o una coartada para justificar determinadas posiciones; como una realidad actual nos debe servir de referencia y de marco conceptual para la organización de las actividades de formación profesional que deberían cumplir unos criterios de acreditación y certificación válidos para toda la Unión Europea. Proponemos la constitución de una institución que centralice y coordine las actividades formativas en Entomología Forense y que establezca los criterios mínimos de calidad exigibles para la acreditación de cursos que estén reconocidos en toda la Unión Europea.

El eje principal de la educación por competencias es el ejercicio entendido como «la expresión concreta de los recursos que pone en juego el individuo cuando lleva a cabo una actividad, y que pone el énfasis en el uso o manejo que el sujeto debe hacer de lo que sabe, no del conocimiento aislado, en condiciones en las que el desempeño sea relevante» (Malpica, 1996 (3)). Desde esta perspectiva, lo importante no es la posesión de determinados conocimientos, sino el uso que se haga de ellos. Este criterio obliga a las instituciones educativas a replantear lo que comúnmente han considerado como formación. Desde esta perspectiva, el establecer si un individuo es competente o no exige tener presente el marco del ejercicio profesional o las condiciones reales en las que tiene lugar más que el cumplimiento formal de una serie de objetivos de aprendizaje que pueden no tener que ver con la realidad.

Hoy en día asistimos a un uso desmedido de conceptos como la «transversalidad» en los contenidos didácticos que, en muchos casos, esconde una falta de claridad en los objetivos educativos. Es evidente que en la entomología forense los contenidos deben orientarse al desarrollo de los diferentes niveles de competencias profesionales.

El modelo de competencias profesionales integrales establece tres niveles, las competencias básicas, las genéricas y las específicas.

Las *competencias básicas* son las capacidades intelectuales indispensables para el aprendizaje de una profesión; en ellas se encuentran las competencias cognitivas, técnicas y metodológicas, muchas de las cuales son adquiridas en los niveles educativos previos.

Las *competencias genéricas* son la base común de la profesión o se refieren a las situaciones concretas de la práctica profesional que requieren de respuestas complejas.

Las *competencias específicas* son la base particular del ejercicio profesional y están vinculadas a condiciones específicas de ejecución.

Las competencias se pueden desglosar en *unidades de competencia*, definidas dentro de la integración de conocimientos teóricos y prácticos que describen acciones específicas a alcanzar, las cuales deben ser identificables en su ejecución. Las unidades de competencia tienen un significado global y se les puede percibir en los resultados, lo que hace que su estruc-

turación sea similar a lo que comúnmente se conoce como objetivos; sin embargo, no hacen referencia solamente a las acciones y a las condiciones de ejecución, sino que su diseño también incluye criterios y evidencias de conocimiento y de desempeño (Iberfop-Oei, 1998 (4)).

Los contenidos deben responder a unas necesidades definidas por el nivel profesional y, en este punto, asistencia, investigación y docencia deben configurar una unidad funcional más que un «ménage à trois», donde la universidad debe estar presente junto al resto de los profesionales.

La realidad no nos permite ser optimistas a corto plazo; estamos ante un futuro imperfecto, que define no un tiempo verbal sino un horizonte inmediato; la fórmula mágica es trabajo en equipo, reparto de responsabilidades y claridad de ideas.

La colaboración entre distintas universidades y otras instituciones deben pasar del mundo de los deseos al mundo real y sólo así podremos aproximar nuestra realidad española a la del resto de la Unión Europea y la de los países situados en la vanguardia de la formación. Eso debe ser nuestra tarea y nuestro desafío.

BIBLIOGRAFÍA

1. LOWYCK, J. Teaching methods, knowledge, technology and assessment: an interlinked field? Paper presented at The Tuning Project, line 4: Tuning Educational Structures in Europe. [WWW document] from <http://www.relint.deusto.es/TuningProject/index.htm>.
2. JUDGE, H. (1990). The Education of Teachers in England and Wales. In: Gumbert, E. (ed.). Fit to Teach. Teacher Education in International Perspective. Atlanta: Georgia State University (7-30).
3. MALPICA, MARÍA DEL CARMEN, El punto de vista pedagógico, en Argüelles, A., (comp.), Competencia laboral y educación basada en normas de competencia, Limusa-sep-cncccl-conalep, México, 1996. pp. 123-140.
4. MARTÍN DE LAS HERAS S, VALENZUELA A, VILLANUEVA E, MARQUÉS T, EXPÓSITO N, BOHOYO JM. Methods for identification of 28 burn victims following a 1996 bus accident in Spain. J Forensic Sci 1999, 44(2): 428-431.
5. IBERFOP-OEI, Programa Iberoamericano para el diseño de la formación profesional, «Metodología para definir competencias», cinter/oit, Madrid, 1998.

ENTOMOLOGÍA FORENSE EN ESPAÑA: HACIA UNA BUENA PRÁCTICA PROFESIONAL

M^a ISABEL ARNALDOS¹, AURELIO LUNA², JUAN JOSÉ PRESA³,
ELENA LÓPEZ-GALLEGO⁴ Y M^a DOLORES GARCÍA¹

Resumen: La Entomología es una ciencia de uso potencial en múltiples aspectos de interés humano. Uno de los aspectos aplicados es la Entomología Forense, de creciente interés en su aplicabilidad a procesos de índole judicial. Al igual que en las demás investigaciones forenses, el procedimiento riguroso resulta fundamental en la práctica de esta disciplina. En este caso, la intervención de un entomólogo profesional sería deseable para evitar cualquier error derivado de la falta de entrenamiento adecuado del personal implicado en la investigación. Dado que el concurso de este tipo de profesionales no es habitual en una investigación forense in situ, se revisan diversos aspectos procedimentales de interés. Se hace hincapié en la necesidad de una información completa acerca de la escena forense, en la recolección de evidencias, tanto en cuanto a su cantidad como a la representatividad de lo recogido y el registro escrupuloso de la procedencia de las mismas, en los métodos de mantenimiento y manipulación de las evidencias y en la necesidad de un etiquetado correcto y completo. Para ilustrar la importancia de todo ello, se anotan los principales errores detectados a la hora de la puesta en práctica de la disciplina. Por último, se presenta un formulario cuya cumplimentación normalizará la recogida de información y muestras de las evidencias, fundamentales para su posterior tratamiento y estudio por parte del perito entomólogo.

Palabras clave: Entomología Forense, procedimiento, errores, formulario.

¹ Profesora Titular de Zoología. Departamento de Zoología y Antropología Física. Universidad de Murcia. UMU.

² Catedrático de Medicina Legal y Forense. Departamento de Ciencias Sociosanitarias. Universidad de Murcia. UMU.

³ Catedrático de Zoología. Departamento de Zoología y Antropología Física. Universidad de Murcia. UMU.

⁴ Licenciada en Biología. Universidad de Murcia. UMU.

Abstract: Entomology is a science useful in different aspects of human interest. Forensic Entomology is one of its applied aspects, of growing interest in legal processes. The procedure is a fundamental point in Forensic Entomology practice. It would be desirable that a professional entomologist take part of the investigation process in order to avoid any mistake derived of the lack of trained people but, because it is not usual in the in situ investigations, we revise several interesting procedure aspects. We remark the necessity of complete information about the forensic scene, the collect of representative evidence in quantity and quality and the record of samples origin, as well as the keeping and handling of evidence and the need of a correct and complete labelling. To illustrate it, we give the main detected errors when practicing Forensic Entomology. At last, we present a form to be filled during the investigations in order to normalize the collecting of information and the evidence sampling, both fundamental for the later treatment and study by the entomologist.

Key words: Forensic Entomology, procedure, errors, form.

INTRODUCCIÓN

La Entomología es una ciencia biológica emanada de la disciplina genérica Zoología cuyo objeto de estudio, siguiendo el concepto aristoteliano, son los artrópodos. Una de sus vertientes aplicadas es la Entomología Forense, que trata cualquier aspecto relacionado con los insectos y otros artrópodos que afecte o involucre aspectos de índole legal.

Los artrópodos presentan una enorme diversidad biológica y adaptativa, y se encuentran presentes en todos los ambientes del planeta. Por ello se relacionan e interfieren con los humanos en distintos ámbitos de interés aplicado. El que nos ocupa, la relación de los artrópodos con procesos legales, esto es, la Entomología Forense, resulta de aplicación a la hora de datar un fallecimiento, de valorar una muerte súbita, evaluar el lugar de un fallecimiento, de detectar tóxicos y estupefacientes en el cuerpo, de las circunstancias perimortem, de casos de malos tratos y abandonos, de miasis, de alergias profesionales y parasitosis ilusorias, origen geográfico de estupefacientes,... El conjunto de los aspectos de aplicación de esta ciencia se engloban en tres: entomología urbana, entomología de los productos almacenados y bienes de consumo y entomología médico-legal. Aunque los tres aspectos forman parte de la Entomología Forense, se suele identificar más con tal denominación a la Entomología médico-legal, también denominada médico-forense o médico-criminal. Es, fundamentalmente, a ésta a la que vamos a referirnos en adelante.

I. IMPORTANCIA DEL PROCEDIMIENTO

En relación con una investigación forense, sea de la naturaleza que sea, resulta una obviedad comentar, tan siquiera, la importancia trascendental de los procedimientos seguidos, cuánto más si a un suceso violento o sospechoso de criminalidad se refiere. Sin embargo, la procedimental es una de las cuestiones sobre las que descansa la eficacia de una investigación y la viabilidad de sus resultados. En el caso de la labor de los peritos médicos, los ajenos a tal profesión tenemos la idea de que los procedimientos y rutinas habrán de estar sólidamente instalados y asumidos. Sin embargo, Concheiro Carro (1999) (1), comenta ampliamente la labor del médico perito y pone de manifiesto defectos e insuficiencias en la investigación médico-legal. Para los entomólogos, cuya función no está reconocida de oficio en los procedimientos forenses, no deja de sorprender tal circunstancia y llega a constituir un triste consuelo cuando se considera la precariedad, la voluntariedad de carácter aficionado y la condición esporádica de la práctica entomológica en las investigaciones forenses.

En relación con la Entomología Forense, debemos tener en cuenta que las conclusiones derivadas de su aplicación se van a fundamentar en dos cuestiones diferentes; una de ellas es la fauna artropodiana, en su conjunto, que se halla instalada sobre el cadáver o en relación con él, o presente en el escenario forense, del tipo que sea; la otra es el grado de desarrollo de aquellos elementos faunísticos más relevantes para determinar el intervalo *postmortem*. En cualquiera de los casos, nos encontramos con indicios y evidencias de carácter biológico y perecedero, a las que el paso del tiempo afecta en gran medida, hasta causar su destrucción, y cuyas características deben ser preservadas en su integridad.

El estudio de los artrópodos asociados a un cuerpo para determinar el intervalo *postmortem* es aceptado por los tribunales de justicia de todo el mundo, y ha sido empleado desde hace más de 20 años en Norteamérica en la rutina de las investigaciones por homicidio. Las víctimas de un homicidio pueden aparecer en ambientes y situaciones enormemente diversos; a veces son abandonadas en zonas remotas con el ánimo de que no sean descubiertas. Por ello, no es infrecuente que sean descubiertas tiempo después del fallecimiento, lo que hace que la estimación del intervalo *postmortem* sea muy difícil sin el concurso de la evidencia entomológica. (Vanlaerhoven y Anderson, 1996 (2)).

Si el intervalo *postmortem* puede ser deducido a partir de la colonización de un cadáver por parte de los artrópodos, sería deseable que alguien con experiencia en la ciencia concreta pudiera estar presente en el escenario forense. Como apuntan Klotzbach *et al.* (2004) (3), en caso de que el entomólogo no pueda estar presente (como suele ocurrir en España), es necesaria una información completa acerca de tal escenario y sus características ambientales debido a la enorme influencia que los factores ambientales tienen sobre la fauna artropodiana. Estos autores enfatizan la necesi-

dad de que el personal de presencia usual en el escenario forense (policías, patólogos, otro personal...) haya recibido formación adecuada en Entomología Forense. Sin embargo, y como fue propuesto por Schoenly *et al.* (1991) (4), entre otros, el equipo de profesionales a participar en el escenario forense, o el procedimiento de la autopsia, debería contar con un entomólogo forense, especialista que puede favorecer en gran medida la investigación. Ésta es la situación más deseable; sin embargo, debemos aceptar la realidad y esperar que, como mínimo, el personal destinado a la investigación de un escenario forense tenga una preparación adecuada para desarrollar su cometido en todos los aspectos posibles.

Pero, desgraciadamente, cuando el entomólogo no se encuentra en la escena forense o en la autopsia y no puede ser él mismo el que haga la recogida de las evidencias entomológicas, ésta, en la mayoría de los casos, es realizada por profesionales formados en áreas de conocimiento totalmente diferentes a la entomología que utilizan protocolos y procedimientos muy diferentes y, por otro lado, no están entrenados, específicamente para la localización de evidencias materiales tan particulares. Estos procedimientos utilizados, además, no son necesariamente adecuados para la recogida y conservación de las evidencias entomológicas en perfecto estado.

El aspecto central del uso de los artrópodos como indicadores en el ámbito forense radica en el reconocimiento adecuado de las especies implicadas y en la recogida, conservación y envío de sus muestras (Haskell *et al.*, 2001 (5)). Los dos últimos puntos son de especial relevancia, pues la identificación de los ejemplares al nivel específico sólo se puede alcanzar si los caracteres morfológicos de índole taxonómica se han conservado adecuadamente. Además de la obvia necesidad de experiencia en la recogida de muestras y, lo que es más importante, sin producir contaminación del escenario forense, la identificación de potenciales evidencias en el conjunto del escenario es de trascendental importancia. Se espera que quien examina el escenario filtre sin pérdida de evidencias de valor el resto de las cosas. No deben producirse errores por parte de los investigadores y hay que tener en cuenta que los resultados potenciales del análisis científico dependen de la bondad del material que se provea, esto es, de las evidencias aportadas. El papel del entomólogo, teniendo en cuenta lo comentado, es importante, pues al estar entrenado en la búsqueda de evidencias muy pequeñas, fácilmente ignorables y pasables por alto, es capaz de encontrar, además de las evidencias entomológicas, otros tipos de evidencias físicas (HASKELL *et al.*, 2001 (5)).

II. SOBRE LA RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE EVIDENCIAS ENTOMOLÓGICAS

En el propio ámbito médico se reconoce como fundamental la recogida de evidencias. Así Concheiro Carro (1999)(1) afirma que «los mayores y más graves problemas, durante el examen del lugar del hecho, se derivan

de una insuficiente y poco profesional recogida de indicios». Esto mismo es lo que constituye motivo de preocupación entre los entomólogos forenses, al igual que el mantenimiento de la cadena de custodia. En el ámbito de la Entomología Forense existe gran preocupación por los aspectos metodológicos y de procedimiento a aplicar y su estandarización, a fin de que los resultados obtenidos sean contrastables por otros investigadores y no exista asomo de duda sobre su validez a la hora de ser admitidos ante un tribunal de justicia. Se ha hecho hincapié en el establecimiento de criterios de calidad para que esto sea admitido sin problemas en los tribunales de justicia. De hecho, en los procesos judiciales, la mayoría de los ataques contra la utilidad y fiabilidad de las evidencias entomológicas y sus conclusiones se centran en los fallos de la persona o personas implicadas en realizar los procedimientos adecuados en la recogida, conservación y análisis de las evidencias (Greenberg y Kunich, 2002 (6); Sekar, 2004 (7)). El modo en que se recojan las evidencias, su cantidad y la rapidez y diligencia con que se procesen y envíen al laboratorio entomológico serán fundamentales cara a un informe pericial de calidad.

Sobre estos aspectos existe bibliografía previa. De ella merecen citarse obras generales, como las debidas a Catts y Haskell (1990) (8) o BYRD y Castner (2001) (9), donde, en los distintos capítulos, debidos a diferentes especialistas, se recogen aspectos diversos en relación con la Entomología Forense, incluyendo sugerencias de procedimiento tanto en relación con cadáveres hallados en tierra firme como con los hallados en medio acuático. Sobre procedimiento tratan también Lord y Burger (1983) (10), o Benecke (2004) (11), quien incluye las «10 reglas de oro» para la recogida de evidencias, de gran utilidad por su sencillez y facilidad de recuerdo y aplicación, o, para el ámbito español, Arnaldos *et al.* (2001) (12), quienes aportaron una propuesta de formulario para cumplimentar durante la investigación. Interés han suscitado, igualmente, los aspectos relacionados con los mejores métodos y medios de conservación y fijación de las evidencias entomológicas (Lord y Burger, 1983 (10); Tantawi y Greenberg, 1993 (13); Adams y Hall, 2003 (14)).

Siguiendo esta corriente de influencia, muy recientemente la European Association for Forensic Entomology, a través de su directiva, ha propuesto un protocolo (Amendt *et al.* 2006 (15)) para ser puesto en práctica en su área de influencia. Este protocolo determina unos principios (estándares) de obligado cumplimiento para los laboratorios de entomología forense y los profesionales dedicados a ella, así como recomendaciones (líneas básicas) a seguir, de manera que cualquiera de ellos pueda ser sometido con éxito a una posible auditoría.

Las muestras deben ser suficientemente representativas, tanto en cantidad como en calidad, de la fauna en relación con el cadáver y de la existente en sus inmediaciones. Para ello se debe prospectar no sólo el cadáver sino el espacio circundante, aplicándose todas aquellas técnicas de muestreo de artrópodos que sean precisas. Sin lugar a dudas, y habida

cuenta de la estrecha dependencia entre el metabolismo artropodiano y las variables ambientales, en particular la temperatura y la humedad, estas variables deben ser registradas tanto en el momento de la captura de la muestra como en distintos momentos del día, a fin de valorar las posibles variaciones de las mismas. También es estrecha la relación entre los artrópodos y el medio ambiente, tanto si se trata de un ambiente de tipo silvestre como si está modificado por acción humana. Todas las características del lugar en que se ha encontrado, así como las que afectan específicamente al cuerpo (enterramiento, ocultación,...) deben ser reseñadas y registradas con la máxima fidelidad posible. De singular importancia es la recogida de las muestras con identificación precisa del lugar de procedencia en el cuerpo, así como la recogida de doble muestra (para conservar y para mantener viva) en el caso de ejemplares juveniles de artrópodos. La conservación es importante, habiendo de emplear etanol de 70º en lugar de cualquier otro conservante. Las larvas deben ser muertas en agua a punto de hervir por un periodo de unos tres minutos para, a continuación, ser conservadas en etanol de 70º. Cualquier otro tratamiento provoca alteraciones en las proporciones corporales de la larva, lo que puede conducir a errores de interpretación de su edad a partir de su longitud, como demostraron Tantawi y Greenberg (1993) (13) y Adams y Hall (2003) (14). Una parte de la muestra de larvas debe ser mantenida con sustrato alimenticio, en condiciones conocidas, para tratar de conseguir adultos a partir de ellas y poder obtener una identificación específica más fiable que la derivada del estudio de las larvas y poder estimar la edad de las larvas de procedencia. El sustrato alimenticio resulta importante a la hora de considerar la tasa de desarrollo larvario. Así, hay que conocer la parte del cuerpo de la que proceden para proveerlas de sustrato alimenticio similar y evitar sesgos en la estimación que, según Kaneshrajah y Turner (2004) (16), pueden alcanzar un error de hasta 2 días en la estimación del intervalo *postmortem*. Además, no debe olvidarse que hay que recoger evidencias entomológicas tras el levantamiento del cadáver, pues parte de la fauna puede haber quedado *in situ*.

Tratamientos particulares, además de los de tipo general, han de aplicarse en el caso de tratarse de restos enterrados, donde hay que prestar atención a tomar adecuadas muestras de suelo, o de restos hallados en estructuras cerradas, donde, entre otras, las condiciones de aislamiento y climatización del interior, así como el régimen de insolación y, en consecuencia las temperaturas del interior de la estructura, deben ser objeto de especial atención. Tratamientos particulares, también, han de aplicarse a restos hallados en ambientes acuáticos. En este caso, la recogida de evidencias ha de ser extremadamente cuidadosa, pues hay que tener en cuenta que la fauna artropodiana acuática es difícilmente reconocible como tal en muchos casos y el personal sin cualificación en entomología puede obviar las evidencias por falta de reconocimiento.

Durante el procedimiento de la autopsia también debería estar presente un entomólogo forense pero, de no poder ser así, es el médico quien

debe poder proporcionar las evidencias necesarias. Al igual que en el escenario forense, se deben registrar las variables ambientales; en este caso se trata de la temperatura a la que ha sido conservado el cadáver hasta realizarse la autopsia y la de las masas de larvas, si éstas existen. Se debe inspeccionar concienzudamente la bolsa en que haya sido transportado, así como sus ropas, en especial las zonas de pliegues, las zonas húmedas,... La búsqueda de evidencias entomológicas no debe restringirse a la fauna presuntamente sarcosaprófaga, sino que debe ampliarse a la búsqueda de ectoparásitos bien en la ropa, bien en el pelo o en los folículos (Haskell *et al.* 2001 (15)).

III. ERRORES DETECTADOS EN LA PRÁCTICA

La importancia de estos procedimientos, excesivamente condensados y simplificados en las líneas previas, puede comprobarse fácilmente. Hay referencias publicadas acerca de conclusiones inciertas en un informe pericial como consecuencia de haberse ignorado las particularidades ambientales de ciertas partes del cuerpo de las que se habían recogido larvas. Por ejemplo, Klotzbach *et al.* (2004) (3) refieren un caso en que las conclusiones no fueron fiables porque no se informó de que la cabeza, lugar del que se habían recogido las larvas para la estimación del intervalo *postmortem*, había estado cubierta por una chaqueta de cuero, lo que había elevado la temperatura ambiente a la que habían estado sometidas dichas larvas. Sekar (2004) (12), refiere otro caso en el que hubo errores encadenados, sin el concurso de un entomólogo forense, como la no recogida de las temperaturas en el escenario, o las incorrectas recogida y conservación de larvas, o la ausencia de contacto con el especialista entomólogo y la demora en remitirle las muestras.

Todos estos hechos hacen que consideremos de especial interés revisar los errores detectados en las muestras procedentes de casos forenses remitidos a nuestro laboratorio en relación con la recogida, el tratamiento y la remisión de las evidencias entomológicas. Estas muestras fueron obtenidas de casos reales en los que el material entomológico fue recogido en la escena forense o durante el procedimiento de autopsia.

Errores en el procedimiento previo:

Los principales errores en el procedimiento previo encontrados en nuestros casos forenses hacen referencia, fundamentalmente, a una escasa e inadecuada observación de la escena forense. Así, a la hora de la evaluación de las evidencias suministradas, no se cuenta con las anotaciones e indicaciones adecuadas sobre las distintas circunstancias en relación con la escena e, incluso, en la mayoría de los casos sin el adecuado registro gráfico. Entre otras, las indicaciones acerca de las condiciones climáticas del momento e, incluso, de las particularidades relativas a la insolación del cadáver, por ejemplo, son ignoradas de modo general. Todos estos aspec-

tos, deben ser registrados por escrito, pero algunos de ellos, además, pueden ser fácilmente registrables, por ejemplo, con una cámara de vídeo.

Errores en la recogida de evidencias entomológicas:

Los principales errores detectados se refieren a la representatividad de la muestra entomológica recogida en cuanto a su calidad, su cantidad o su procedencia.

En cuanto a la calidad de la muestra recogida el principal problema es que no suele ser representativa de las diferentes especies presentes en la escena ya que sólo se tiende a recoger aquellos artrópodos que son más abundantes o más fáciles de capturar. Esto es achacable a la falta de formación entomológica del personal encargado de la prospección del escenario que hace que carezcan de los conocimientos necesarios para diferenciar las distintas especies. Hay especies que pueden parecer iguales a simple vista, pero no lo son en realidad, y, si no se recogen, abocan a la consiguiente pérdida de información.

Los errores en cuanto a la cantidad de la muestra inciden en que, en la mayoría de las ocasiones, la muestra recogida no es representativa de la abundancia de cada una de las especies. Muy frecuentemente se obtienen simplemente comentarios acerca de la «abundancia» de determinados ejemplares, según el criterio personal del observador, pero no se aportan más evidencias que eso. Para la obtención de conclusiones por parte del entomólogo forense, es tan importante el carácter cualitativo de la muestra (las especies que aparecen y las que no aparecen) como, por supuesto, su abundancia relativa.

En relación con la procedencia de la muestra, los errores inciden mayoritariamente en la recogida de ejemplares a partir de una sola zona del cuerpo. En ocasiones se justifica con la aseveración de que «en todas partes había lo mismo». A tenor de lo expuesto acerca de la calidad de la muestra recogida, tal aseveración carece de validez; no puede justificarse porque los artrópodos parezcan iguales. Error frecuente es la revisión parcial de la escena forense, olvidando observarla en su totalidad. Otro error de posibles consecuencias importantes es la reunión de muestras artropodianas procedentes de varias zonas del cuerpo en un mismo recipiente.

Errores en cuanto al tratamiento y remisión de las muestras entomológicas:

En el tratamiento de las evidencias entomológicas, los principales fallos detectados se centran en las sustancias fijadoras y conservantes utilizados, en la no recogida y conservación de ejemplares vivos de larvas y huevos, en el tiempo de remisión de la muestra al laboratorio y en el etiquetado de las muestras.

Hemos encontrado de manera muy frecuente que la conservación y fijación de las evidencias entomológicas se ha realizado en sustancias no

adecuadas, como etanol absoluto, formol..., que alteran los caracteres morfológicos de las evidencias entomológicas y, en ocasiones, conducen a una conservación inadecuada de los ejemplares, que resultan inservibles al cabo de un tiempo. Hay que tener en cuenta que los caracteres morfológicos que el entomólogo necesita estudiar para la correcta identificación de larvas y adultos son, en la mayoría de los casos, muy delicados y lábiles.

El mismo problema nos encontramos cuando el material se ha fijado en sustancias no adecuadas que alteran el tamaño de las evidencias entomológicas. Por ejemplo, se pueden recibir muestras de larvas que se han introducido directamente en etanol o en formol; este material sólo podrá servir entonces para tratar de su identificación, no para estimar una data. Ya se ha comentado que está demostrado que una mala fijación y conservación del material puede llevar a errores en la estimación de la data de incluso más de 24h (Tantawi y Greenberg, 1993 (14)).

Otro problema que nos encontramos frecuente es que no se han recogido ni mantenido ejemplares vivos de larvas y huevos para su cría en el laboratorio. Este material es de gran utilidad para el entomólogo; muchas veces es imposible la identificación precisa de los estados larvarios o ninfales de ciertos insectos de modo que, manteniendo ese material hasta adulto se puede estimar el intervalo *postmortem* a través del cálculo de la tardanza de las larvas en alcanzar el estado adulto, asegurar la correcta identificación específica o, como mínimo, confirmar la identificación efectuada previamente. En cualquier caso, la representatividad de la muestra conservada viva debe ser la misma que la que se conserve fijada.

Con el mantenimiento de este material vivo aparece otro problema añadido, la demora en su envío al laboratorio. Durante este tiempo de demora la muestra suele ser mantenida sin alimentar, suele estar encerrada en un bote hermético sin ventilación (con lo que la mayoría o la totalidad de los ejemplares muere) y no se mantiene registro, al menos, de las condiciones ambientales de mantenimiento de esas evidencias. Para mantener la muestra en condiciones adecuadas hasta su llegada al laboratorio, debe situarse en un recipiente bien ventilado (cubierto con gasa densa, tul,...) y proveerla de sustrato alimenticio de carácter temporal, que puede consistir en higaditos de ave, comida para animales (perros, gatos),... Algunos profesionales obvian este aspecto, recomendando incluso que no se provea de alimento a la muestra viva, pero nosotros consideramos sumamente importante garantizar las condiciones de la muestra y evitar eventuales comportamientos de depredación entre los individuos y alteraciones en el crecimiento larvario como consecuencia de la falta de sustrato alimenticio.

Además, no se suele prestar demasiada atención a la procedencia exacta de la muestra viva, esto es, el tipo de tejido u órgano del que se estaba alimentando. Esto se ha manifestado últimamente de singular importancia pues, como ya se ha comentado, Adams y Hall (2003) (14) han demostrado

que al menos ciertas especies presentan un crecimiento diferencial según el tejido corporal del que se alimenten. Por ello, tras la llegada al laboratorio, hay que sustituir el sustrato alimenticio temporal por el definitivo, que habrá de coincidir en naturaleza (músculo, vísceras,...) con el sustrato en el que se encontraba en el cuerpo. En estas condiciones, adecuadas, procede entonces continuar la cría en laboratorio para obtener adultos y, además, poder estimar el intervalo *postmortem*.

Por último hay que hacer mención de los errores referidos al etiquetado de las muestras recogidas. Lo más frecuente es no etiquetar todas las muestras entomológicas recogidas y no reseñar todos los datos necesarios en la etiqueta que se incorpora a la muestra. Un problema muy extendido deriva de escribir las etiquetas con bolígrafo, rotulador.... de modo que, en contacto con las sustancias conservantes, los trazos desaparecen inmediatamente, resultando completamente ilegibles y, en consecuencia, inútiles. Las etiquetas deben escribirse con lápiz de grafito; una etiqueta se ha de fijar en el exterior del recipiente y, en todos los casos, otra etiqueta, idéntica a la anterior, debe incluirse en el interior del recipiente. De este modo, siempre habrá seguridad de que al menos una de ellas, generalmente la interior, llega al laboratorio en condiciones adecuadas.

En la etiqueta se debe reflejar la referencia del caso forense, el topónimo del lugar de hallazgo del cuerpo, la fecha, la hora y el nombre de la persona que hace la recogida (persona de contacto). Además, es necesario reseñar la zona concreta del cuerpo del que se ha recogido cada muestra.

En la metodología de trabajo de la entomología forense sería deseable la adopción de unos métodos y técnicas comunes y estandarizados para todos los laboratorios a nivel mundial. Ya se han comentado los esfuerzos que se están realizando por distintos laboratorios e investigadores para el establecimiento de procedimientos comunes en este campo. En ese sentido, siguiendo las directrices generales básicas comúnmente aceptadas en el ámbito de la entomología forense y, adaptándonos a las peculiaridades del sistema judicial español y haciendo uso de nuestra experiencia previa (Arnaldos *et al.* 2001 (12), 2004 (17), 2004 (18), 2005 (19), García *et al.* 2004 (20)) proponemos un nuevo formulario de trabajo que consideramos habrá de facilitar la labor del profesional que actúe en el escenario forense, estandarizando las anotaciones precisas y la toma de muestras, dejando a su libre iniciativa sólo cuestiones complementarias. En él podrán reflejarse todas las situaciones que se presenten en el escenario forense. Este formulario tiene su origen en el propuesto con anterioridad (Arnaldos *et al.* 2001 (12)), del que la puesta en práctica ha permitido ponderar su efectividad. El actual se ha elaborado a partir de esta experiencia y siempre teniendo en cuenta que, durante el estudio de la escena forense, la rapidez y simplificación de los procedimientos es fundamental. En él se ha tratado de que la toma de datos y registro de las muestras entomológicas sea más rápida y fácil y se evite la pérdida y olvido de datos esenciales para la correcta evaluación de las evidencias.

FORMULARIO DE RECOGIDA DE EVIDENCIAS ENTOMOLÓGICAS

CASO FORENSE N°: _____ JUZGADO: _____

AUTOPSIA: N° referencia: _____ Médico que la realiza: _____

MUESTRA REMITIDA POR: _____ Fecha: _____

MUESTRA ENTREGADA POR: _____ Fecha y Firma: _____

CADÁVER

Identificación: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Otros: _____

LOCALIZACIÓN

Población: _____ Provincia: _____

Topónimo exacto: _____

Posición del cadáver:

Decúbito prono: _____ Decúbito supino: _____ Decúbito lateral: _____

derecho: _____

izquierdo: _____

En otra posición: _____ Describir: _____

Esquema de la posición del cadáver:



Ubicación del cadáver:

Exterior: _____

Interior de vivienda: _____ Ventanas: _____ n°: _____

abiertas: _____
cerradas: _____
Otros: _____
En vivienda semiderruida: _____
Techo: _____
completo: _____
semiderruido: _____
Paredes: _____
completas: _____
semiderruidas: _____
Interior de vehículo: _____
Ventanas: _____ n ^o : _____
abiertas _____
cerradas _____
Otras aberturas: _____
Motor en funcionamiento: _____
Al abrigo de vegetación: _____
Tipo de vegetación:
árboles: _____
arbustos: _____
otros: _____

A resguardo por otras causas: _____
Causas naturales: _____
Derrumbe: _____
Corrimiento tierras: _____
Vegetación caída: _____
Otros: _____ especificar tipo: _____

Tipo de cobertura:
Suelo: _____
Vegetal (ramas, hojas, algas): _____
Plástico: _____
Tejidos: _____ especificar el tipo: _____
Otro tipo de cobertura: _____ especificar/describir: _____

Maniobras de ocultación: _____
Enterramiento artificial: _____
Envuelto: _____ tipo de envoltorio: _____
Otros: _____ especificar tipo: _____

Tipo de cobertura:

Suelo: _____

Vegetal (ramas, hojas, algas): _____

Plástico: _____

Tejidos: _____ especificar el tipo: _____

Otro tipo de cobertura: _____ especificar/describir: _____

Varado en la costa: _____

Ventilación: _____ mucha: _____ poca: _____

En otro tipo de ubicación: _____ especificar cuál: _____

Disposición del cadáver:

Enterramiento: NO ☐ SÍ ☐

Cobertura: NO ☐ SÍ ☐

Características de enterramiento y cobertura:

Cobertura completa: _____

Cobertura parcial: _____ Indicar partes del cuerpo cubiertas: _____

Enterramiento completo: _____

superficial: _____

profundo: _____ a _____ cm.

Enterramiento parcial: _____

Semienterrado 2/3: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

Semienterrado __: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

Semienterrado 1/3: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

Solamente enterradas ciertas zonas del cuerpo: _____ especificar
cuáles: _____

Sumergido: NO ☐ SÍ ☐

Agua dulce: _____

Lugar: Río: _____ Remanso: _____ Ribera: _____ Poza: _____

Estanque: _____

Otros: _____ especificar/describir: _____

Agua marina: _____

Lugar: Playa: _____ Acantilado: _____ Cueva: _____ Otros: _____

especificar/describir: _____

Sumergido en otro medio: _____ especificar/describir: _____

Características de la inmersión:

Sumergido completamente: _____ profundidad: _____

Sumergido parcialmente: _____

2/3: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

_: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

1/3: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

solamente sumergidas ciertas zonas del cuerpo: _____

especificar cuáles: _____

Vestidos: NO ☐ SÍ ☐

Características:

Vestido totalmente: _____

Vestido parcialmente: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

Vestiduras rotas: _____ zonas del cadáver al descubierto: _____

Otros: _____ especificar/describir: _____

Insolación del cadáver: NO ☐ SÍ ☐ Hora de la observación «in situ»: _____

Zonas del cadáver insoladas en el momento de la recogida:

Todo: _____

Nada: _____

Parcialmente: _____ especificar cuáles: _____

Alteraciones del cadáver y/o entorno (heridas apreciables, actividad de carroñeros,...):

DATOS AMBIENTALES

Hora de registro: _____

Tª ambiente: _____ Tª superficie suelo: _____

Tª superficie del cuerpo: _____ Tª zona de contacto cuerpo-superficie: _____

En caso de imposibilidad de registro, Tª estimada: _____

DATOS DERIVADOS DE LA AUTOPSIA

Causas de la muerte: Natural: _____ Violenta: _____

Hora de la autopsia: _____

Tiempo de permanencia en cámara frigorífica: _____

Tª cámara frigorífica: _____

Lesiones:

SÍ ☐ NO ☐ Tipo y localización en el cadáver:

Masa de larvas:

SÍ ☐ NO ☐ Número y localización en el cadáver:

Temperatura masa de larvas: _____ Hora de registro: _____

Otros datos derivados de la autopsia:

Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:	Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:
Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:	Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:
Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:	Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:
Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:	Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:
Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:	Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:
Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:	Muestra n ^o : Zona de procedencia: VIVA Alimentada con: FIJADA Conservante:

Realizar tantas copias como sea necesario

TIPO, CONDICIÓN Y ABUNDANCIA DE LA FAUNA OBSERVADA:

DURANTE LA INSPECCIÓN IN SITU DEL CADÁVER:

Arácnidos: ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

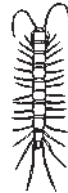


Ácaros: ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Ciempíes, milpiés (Miriápodos): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



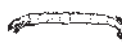
Insectos: ____

Moscas y mosquitos (Dípteros): ____

Adultos: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Larvas: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Puparios: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Escarabajos (Coleópteros): ____

Adultos: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Larvas: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Hormigas, abejas, avispas ... (Himenópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Chinches... (Heterópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Pulgones, chicharras... (Homópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Mariposas y polillas (Lepidópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Otros insectos: ____ Describir cuáles: _____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Otros artrópodos/animales: ____ Describir cuáles: _____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

DURANTE LA AUTOPSIA:

Arácnidos: ____

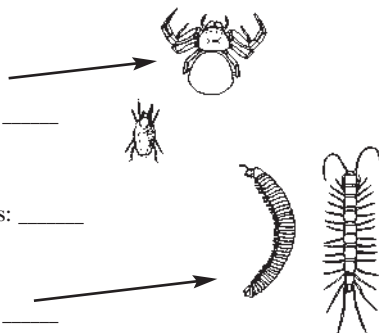
Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Ácaros: ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Ciempíes, milpiés (Miriápodos): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Insectos: ____

Moscas y mosquitos (Dípteros): ____

Adultos: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Larvas: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Puparios: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Escarabajos (Coleópteros): ____

Adultos: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Larvas: ____ Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Hormigas, abejas, avispas ... (Himenópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

Chinchas... (Heterópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Pulgonas, chicharras... (Homópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Mariposas y polillas (Lepidópteros): ____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____



Otros insectos: ____ Describir cuáles: _____

Muy abundantes: _____ Poco abundantes: _____

Otros artrópodos/animales: ____ Describir cuáles: _____

Muy abundantes: ____ Poco abundantes: ____

CROQUIS DEL LUGAR CON LA UBICACIÓN Y DISPOSICIÓN DEL CUERPO:

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for a hand-drawn sketch of the crime scene location and the position of the body.

OTRAS OBSERVACIONES:

BIBLIOGRAFÍA

1. CONCHEIRO CARRO L. Consideraciones en torno a la investigación médico-legal de la muerte en España. *Ciencia Forense*, 1999, 1: 13-22.
2. VANLAERHOVEN S, ANDERSON G. Forensic Entomology. Determining time of death in buried homicide victims using insect succession. Technical Report TR-02-96. Canadian Police Research Centre.
3. KLOTZBACH H, SCHROEDER H, AUGUSTIN C, PUESCHEL K. Information is Everything. A Case Report Demonstrating the necessity of entomological knowledge at the crime scene. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 2004, 5 (1): 19-21.
4. SCHOENLY K, GRIEST K, RHINE S. An experimental field protocol for investigating the *postmortem* interval using multidisciplinary indicators. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, 1991, 36, 5,: 1395-1415.
5. HASKELL NH, LORD WD, BYRD JH. Collection of Entomological Evidence during death investigations. En: Byrd JH, Castner JL (eds.). *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Cap. 3, pp.: 81-120. 2001. CRC Press LLC. Boca Ratón, Florida.
6. GREENBERG B, KUNICH JC. *Entomology and the Law*. Cambridge University Press. 2002. 306 pp.
7. SEKAR S. A Fly for Justice. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 2004, 5 (1): 54-57.
8. CATTS EP, HASKELL N. (eds.). *Entomology and Death, a Procedural Guide*. Clemson: Joyce's Print Shop, Inc. 1990. 182 pp.
9. BYRD JH, CASTNER JL (eds.). *Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. 2001. CRC Press LLC. Boca Ratón, Florida.
10. LORD WD, BURGER JF. Collection and Preservation of Forensically Important Entomological Materials. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, 1983, 28 (4): 936-944.
11. BENECKE M. Forensic Entomology and Corpses. En: Tsokos M. (ed.). *Forensic Pathology Review*. Vol. II. pp: 207-240. 2004. Humana Press. Totowa (N.J., USA).
12. ARNALDOS MI, ROMERA E, GARCÍA MD, LUNA A. Protocolo para la recogida, conservación y remisión de muestras entomológicas en casos forenses. *Cuadernos de Medicina Forense*, 2001 25: 65-73.
13. TANTAWI TI, GREENBERG B. The Effect of Killing and Preservative Solutions on Estimates of Maggot Age in Forensic Cases. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, 1993, 38 (3): 702-707.
14. ADAMS ZJO, HALL JR. Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on *post.mortem* larval length. *Forensic Science International*, 2003, 138: 50-61.
15. AMENDT J, CAMPOBASSO C, GAUDRY E, REITER C, LEBLANC H, HALL M. Best practice in forensic entomology. Standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine*, 2006 (en prensa).

16. KANESHRAJAH G, TURNER B. *Calliphora vicina* larvae grow at different rates on different body tissues. International Journal of Legal Medicine, 2004, 118: 242-244.
17. ARNALDOS MI, ROMERA E, GARCÍA MD, LUNA A. Aportación a la aplicación práctica de evidencias entomológicas en casos forenses en España. Revista Brasileira de Medicina Legal, 2004, 1. www.revistademedicinalegal.com.br 19/04/04.
18. ARNALDOS MI, SÁNCHEZ F, ÁLVAREZ P, GARCÍA MD. A forensic entomology case from the Southeastern Iberian Peninsula. Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology, 2004, 5 (1): 22-25.
19. ARNALDOS MI, GARCÍA MD, ROMERA E, PRESA JJ, LUNA A. Estimation of *postmortem* interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. Forensic Science International, 2005, 149: 57-65.
20. GARCÍA GARCÍA MD, ARNALDOS SANABRIA MI, ROMERA LOZANO E, LUNA MALDONADO A. La Entomología Forense en España. En: Villanueva Cañadas E (ed.). Gisbert Calabuig. Medicina Legal y Toxicología. Capítulo 21. pp: 262-273. Masson. 2004. 1394 pp.

LOS MUESTREOS ENTOMOLÓGICOS: DE LA ESCENA DEL CRIMEN A LA PERITACIÓN

THIERRY PASQUERAULT¹, BENOÎT VINCENT², LAURENT DOUREL³,
BERNARD CHAUVET⁴ Y EMMANUEL GAUDRY⁵

Resumen: La entomología forense se utiliza cada vez más en criminalística, principalmente para colaborar en la estimación del intervalo *post-mortem*.

Sin embargo, habida cuenta de la necesidad de disponer de ejemplares vivos, es una disciplina muy peculiar en la que la calidad de las muestras es primordial.

En este trabajo tratamos de describir los métodos adoptados por nosotros para la recogida de muestras entomológicas, puestos en práctica por los técnicos en identificación criminal de las unidades de investigación de la Gendarmería nacional.

Por otro lado, describimos los pasos seguidos por los muestreos entomológicos, que deben integrarse en un plan de calidad, en el seno del Instituto de investigación criminal de la Gendarmería nacional, encargada de las peritaciones entomológicas.

Así, los métodos descritos están adaptados al contexto y organización judicial franceses.

Palabras clave: Entomología forense, métodos, muestreos entomológicos, Francia.

¹ Ayudante. ² Técnico civil del Ministerio del Ejército. ³ Teniente. ⁴ Mayor. ⁵ Capitán.
Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale - Département Entomologie.

1 Bd. Th. Sueur 93111 Rosny sous Bois - France.

Te.: + 33 (0) 1 58665092

Fax: + 33 (0) 1 58665027

etm.ircgnd@gendarmerie.defense.gouv.fr

Abstract: Forensic entomology is being more and more used in criminalistic mainly to estimate the *postmortem* interval. Nevertheless, because the need to get living specimens, it is a very special discipline in which the samples quality is essential.

In this work, we will try to describe our methods for collecting entomological samples, developed by the criminal identification technics of research units of the National Gendarmerie.

On the other hand, we will describe the steps followed by the entomological samplings, which have to be integrated into a quality program, in the Institute of criminal research of the National Gendarmerie, which take care of the entomological expertise.

Thus, the described methods are adapted to the french judicial organization.

Key words: Forensic Entomology, methods, entomological samplings, France.

La entomología forense trata del empleo de los insectos, y en términos más generales de los Artrópodos, en una investigación judicial. Sin embargo, y aunque ninguna de las facetas de esta disciplina debe ser olvidada, la estimación del momento de las primeras puestas por parte de los insectos necrófagos en el cuerpo de una víctima y, por extensión, la estimación del intervalo *postmortem*, representa la aplicación principal de la entomología legal tras el descubrimiento de un cadáver.

Fundamentada en el empleo de indicios vivos, esta disciplina particular debe poder integrarse perfectamente en el conjunto de los procedimientos criminalísticos puestos en práctica tras el descubrimiento de un cuerpo

Para que pueda ser utilizada con todo el rigor necesario, la entomología forense debe recurrir a los procedimientos de toma de muestras y su tratamiento lo más rigurosos posible. Hasta ahora se han descrito diversos protocolos de actuación, especialmente por Leclercq (1978) (1), Amendt *et al.* (2006) (2), Arnaldos *et al.* (2001) (3), Catts & Goff (1992) (4), Catts & Haskell (1990) (5), Greenberg & Kunich (2002) (6) y Byrd & Castner (2001) (7).

Nos proponemos detallar los protocolos empleados en el laboratorio de entomología del Instituto de Investigación Criminal de la Gendarmería nacional. Están adaptados, por un lado, a las particularidades de los textos legislativos franceses y, por otro, a la organización de las unidades de investigación de la Gendarmería francesa. Tienen en cuenta, también, el hecho de que nuestro laboratorio criminalístico tiene competencia a

escala nacional y que, por tanto, los expertos del laboratorio no pueden estar presentes en todos los casos de descubrimiento de un cadáver en el territorio francés (Gaudry *et al.* 2001) (8).

Sin embargo, la problemática de los procedimientos de toma de muestras y de su tratamiento afecta a todos los entomólogos que trabajan en la escena del crimen o en las muestras consiguientes.

El espíritu general que prevalece en la puesta en práctica de estos procedimientos es el de crear un enfoque sistemático que garantice una trazabilidad óptima que limite los errores y permita la viabilidad de los insectos presentes en relación con el procedimiento judicial.

I. LA TOMA DE MUESTRAS EN LA ESCENA DEL CRIMEN

Para una gestión coherente de la escena del crimen conviene que la entomología forense encuentre su sitio en el proceso y coordinación del tratamiento.

Tras el descubrimiento de un cadáver, la toma de muestras entomológicas puede ser realizada al mismo tiempo que el resto de operaciones técnicas. Esto se traduce en la búsqueda de la fauna entomológica en todo momento y todo lugar tras, por ejemplo, la fase de limpieza de la zona del descubrimiento o del desenterramiento de un cuerpo. El muestreo entomológico debe integrarse en un proceso global.

Como para todas las disciplinas forenses, la calidad de la peritación va a depender en gran medida de la calidad de la toma de muestras.

El conjunto de los insectos recogidos debe ser representativo de la fauna presente en el cuerpo. Esto implica que todas las especies presentes en él deben estar representadas en los muestreos. También implica que deben recogerse los estados inmaduros de mayor edad de cada una de las especies, puesto que serán representativos de la intervención de los primeros insectos necrófagos y tendrán, por consiguiente, un interés particular para la estimación del intervalo *postmortem*.

Para el técnico en identificación criminal, lo mismo que para el experto, si es que interviene, es difícil proceder a un examen directo profundo de las muestras en la escena del crimen.

Los principios que deben aplicarse son la recogida del mayor número de ejemplares y, sobre todo, no seleccionarlos deliberadamente en función de su localización, aspecto, tamaño,...

En efecto, sólo un muestreo aleatorio puede asegurar una representatividad real de la entomofauna presente.

Vamos a abordar la naturaleza de los muestreos entomológicos, tomando como ejemplo un cadáver encontrado al aire libre. Detallaremos después las particularidades en relación con un cadáver hallado en el interior de una edificación y la toma de muestras durante la autopsia.

La búsqueda y el muestreo de la fauna entomológica debe hacerse sobre el cuerpo y en sus alrededores. Se buscarán huevos, corion, larvas de todos los estados, exuvias, ninfas, pupas y puparios, además de adultos no voladores. Deben buscarse todos los órdenes de insectos, los Dípteros, que se dedicarán principalmente a la estimación del intervalo *postmortem*, los Coleópteros, los Himenópteros, parásitos o no, etc.

En relación con los Dípteros adultos, conviene señalar que no recomendamos recogerlos en vuelo con la manga entomológica, pues consideramos que no está justificada esta dificultad adicional. En efecto, los Dípteros adultos, buscan un sustrato de puesta ¿proceden de una generación que se está desarrollando en el cuerpo o bien se encuentran allí simplemente por azar?

En cambio, puede ser interesante recoger los Dípteros adultos que están muertos sobre el cadáver, sobre todo si son muy numerosos. Una mortalidad anormal puede significar que se han esparcido productos fitosanitarios u otros productos químicos, y el investigador deberá cuestionarse esta posibilidad.

En un cadáver en un estado de descomposición temprano, se debe prestar especial atención a los orificios naturales del cuerpo y a las heridas con la finalidad de buscar puestas de insectos necrófagos. En cadáveres muy alterados, como los esqueletos, el lugar principal de búsqueda será la tierra que está bajo el cadáver y sus alrededores.

Para recoger la fauna existen diversos métodos. Las muestras pueden tomarse con una pinza o una cuchara, en función de que las larvas se encuentren aisladas o formando una masa larvaria. El punto común es el hecho de que el material que se utiliza es sencillo y de bajo coste, lo que supone una auténtica ventaja para la democratización de la disciplina, ya que la relación coste/beneficio de la investigación es muy favorable.

Dentro de esta diligencia, para facilitar el reflejo de empleo y el trabajo de muestreo, decidimos en 2003 el estudio y puesta en práctica, en las unidades de investigación de la Gendarmería nacional, de un *kit* para muestreos entomológicos de un solo uso.

Se trata de una caja de cartón con: 2 cucharas, 2 pinzas, 2 recipientes tipo vial de orina, de plástico, con las tapaderas perforadas para permitir la aireación, 2 recipientes de vidrio para las muestras fijadas en alcohol,

gasa, bolsas de precinto, una bolsa de basura, instrucciones de uso con las notificaciones de las modalidades de toma, y una hoja de formulario específico de la disciplina. En este *kit* sólo falta el alcohol, por otro lado necesario, pero se debe a razones de seguridad para el almacenamiento o para el envío por correo.

Desde hace un año, el conjunto de unidades de investigación de la Gendarmería suele disponer como mínimo de un *kit* para muestreos entomológicos. Esto representa unos 400 *kits* distribuidos por toda Francia. La experiencia muestra que este *kit* responde a lo esperado y deseado por los técnicos. Hemos observado una clara mejora de la calidad de los muestreos realizados desde el inicio de la distribución de los *kits*.

Habida cuenta de los métodos de análisis empleados por el departamento para estimar el intervalo *postmortem*, sugerimos dos tipos de muestreo según la naturaleza de los ejemplares.

Los estados inmaduros de los Dípteros se deben conservar una parte en seco (muestra viva) y una parte en etanol de 70° (muestra fijada).

Los demás artrópodos se deben fijar directamente en etanol de 70°.



Figura I. Composición de un *kit* para muestreos entomológicos.

MUESTRAS VIVAS, EN SECO

Los huevos, larvas y pupas de Dípteros se colocan en un frasco de plástico con la tapadera perforada para permitir la respiración de los ejemplares vivos. La cantidad de ejemplares debe adaptarse al recipiente para evitar una mortalidad elevada. Aunque los orificios de ventilación sean pequeños, no impiden la huida de las larvas, por lo que sugerimos que se sitúe una pieza de gasa densa entre el frasco y la tapadera. En el frasco no se incorporará nunca ningún tipo de alimento. Se puede pensar que estos inmaduros tendrán que alimentarse para sobrevivir pero la experiencia dicta que un trozo de carne en estas condiciones no se descompone con normalidad, sino que se licua y conlleva la muerte de los ejemplares. Por



Figura II. Muestra conservada en seco.

eso, a pesar de esta dieta forzada, aunque de corta duración, garantizamos la viabilidad de los ejemplares. Como este procedimiento, a pesar de todo, es delicado, le damos preferencia en términos cuantitativos en detrimento de la muestra en alcohol. Esta muestra está destinada a ser criada en el laboratorio en una cámara climatizada, por lo que la duración de la conservación en estas condiciones debe ser lo más corta posible.

MUESTRA FIJADA EN ETANOL

La muestra en alcohol sirve para fijar los estados inmaduros en el estado de desarrollo que tenían en el momento de la recogida. Para nosotros



Figura III. Muestra fijada en etanol de 70°.

corresponde a una fotografía del momento “T” de la población entomológica presente en el momento del descubrimiento.

El líquido conservante será etanol de 70º, aunque la graduación precisa no sea necesaria. La dilución ligera sirve simplemente para rebajar la graduación demasiado fuerte, que es responsable de la degradación de los tegumentos de las larvas que perjudica su posterior observación.

Todos los demás ejemplares recogidos, Dípteros adultos muertos, Coleópteros (larvas y adultos), Himenópteros y otros grupos se sumergirán directamente en una solución de etanol de 70º para matarlos y conservarlos. Así, todos los ejemplares que posean patas deben incluirse en esta solución.

MUESTRA DE TIERRA

Al finalizar el periodo en que se alimentan, las larvas de Dípteros abandonan el cuerpo para transformarse en insectos adultos en el interior de una envuelta quitinosa (pupario). Este estado pupal representa alrededor de la mitad de la vida preimaginal de los insectos.

Esta metamorfosis tiene lugar a resguardo de los predadores, de la desecación y de la luz. En el caso de un cadáver descubierto al aire libre, la metamorfosis tiene lugar en las capas más superficiales del suelo, en los primeros centímetros.

Se hace pues necesario tomar una muestra de suelo para recoger los estados pupales (o los puparios, cuando la metamorfosis se ha completado).

Consiste en extracciones bajo el cuerpo y alrededor de él realizados con una pala u otro utensilio de ese tipo. La profundidad no debe superar

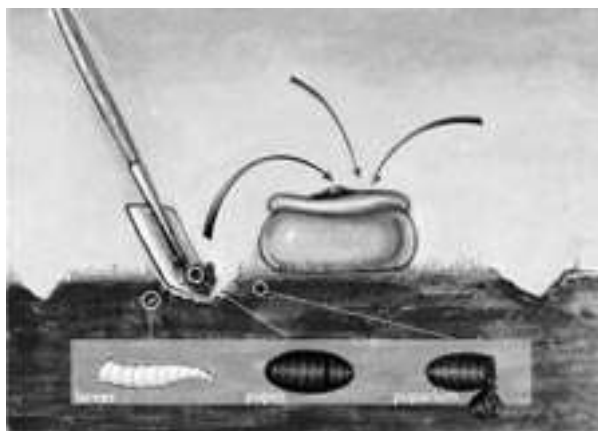


Figura IV. Muestra de tierra compuesta por múltiples extracciones.

los 15 cm. Estas extracciones no deben hacerse en un solo lugar, sino alrededor de todo el cuerpo en un radio de 2 metros, a fin de diversificar la muestra y recoger más ejemplares. Para este muestreo es preferible esperar a que acaben las operaciones de comprobación y el levantamiento del cuerpo para no comprometer la integridad de otros indicios.

Por otro lado, estas muestras permitirán recoger insectos que viven normalmente en el suelo, con independencia de la presencia del cadáver, y así completar el conocimiento de la fauna presente.

Se considera que el conjunto de las extracciones es una única y misma unidad de muestreo y, en consecuencia, debe ser conservada en un mismo recipiente.

PARTICULARIDADES DE UN MUESTREO ENTOMOLÓGICO REALIZADO EN INTERIORES

Cuando se descubre un cadáver en el interior de alguna edificación, la situación ambiental es diferente. Conviene buscar las pupas o puparios no sólo en el suelo sino, además, en los lugares oscuros (bajo los muebles, los electrodomésticos, las alfombras o tejidos dispuestos en el suelo). Esta búsqueda debe hacerse, desde luego, en la habitación en que se encuentre el cadáver, pero también conviene buscar indicios entomológicos igualmente en las habitaciones contiguas. Nos ha ocurrido encontrar una pequeña población en la habitación en la que estaba el cadáver y una población muy importante en la habitación vecina, a unos 10 metros.

LA MUESTRA ENTOMOLÓGICA TOMADA DURANTE EL PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Esta muestra no debe sustituir a las tomadas en la escena del crimen sino que es realmente complementaria.

Las condiciones de trabajo en la escena del crimen no son siempre las óptimas. Tras las operaciones de comprobación puede llegar la noche, o las condiciones climáticas pueden estropearse.

Además, pueden aparecer insectos refugiados en las cavidades del interior del cuerpo, que podrán entonces ser recogidos más fácilmente.

La recogida de muestras se hará siguiendo las mismas reglas: una parte viva y una parte en etanol de 70°.

En todos los casos las muestras se tomarán de acuerdo con el médico forense.



Figura V. Muestra precintada.

PRECINTADO DE LAS MUESTRAS ENTOMOLÓGICAS

Tras la fase de muestreo, las muestras se reagrupan para ser custodiadas y precintadas aplicándoles un lacre. De este modo las muestras precintadas se convierten en piezas de convicción cuyo destino y apertura se someten al parecer del magistrado.

En la escena del crimen se realizarán dos precintados:

- 1 para las muestras vivas y las mantenidas en etanol de 70°.
- 1 para las muestras de tierra.

Tras el procedimiento de autopsia se realizará un precintado:

- para las muestras vivas y las mantenidas en etanol de 70°.

El técnico en identificación criminal debe prestar atención a la correspondencia entre la propia naturaleza de las muestras precintadas y la descripción hecha en el procedimiento y el inventario de las piezas de convicción.

INFORMACIÓN AMBIENTAL

Aunque no forme parte directa de los muestreos, es fundamental para el técnico en identificación criminal reflejar sus observaciones en el acta de pruebas (atestado) y de la policía técnica. Estas observaciones serán muy importantes para el experto entomólogo que no ha trabajado personalmente en la escena del crimen.

Estos datos, que tratarán sobre las circunstancias y las características del lugar del descubrimiento, deberán ser todo lo precisos que sea posible.

En cuanto a los cadáveres en interiores, la atención deberá centrarse en la posición de las aberturas como ventanas, postigos, puertas y, también, en la temperatura ambiente, la calefacción en funcionamiento o no,...

Además de las informaciones reflejadas en el atestado, se harán fotos y, si se puede, vídeos, de la escena del crimen y de la autopsia de la víctima.

Deben anotarse la temperatura del aire y las condiciones climáticas desde el momento en que se accede a la escena del crimen, pero también al finalizar las operaciones.

En el *kit* de muestreo se incluye una ficha guía de las observaciones necesarias para ayudar al técnico en identificación criminal.

CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS ANTES DE SU ENVÍO AL LABORATORIO

Si las muestras no pueden ser enviadas al laboratorio en un tiempo muy breve tras el procesamiento de la escena del crimen, se hace necesario adoptar medidas de conservación que deberán permitir su almacenamiento en condiciones que alteren lo menos posible los estados inmaduros vivos.

Esta posible demora puede deberse a diversas razones.

Por un lado, la distancia entre la unidad investigadora respecto al laboratorio puede no permitir siempre el transporte inmediato de las muestras por una unidad local u otra estructura especializada. Éste es el caso de las unidades del sur de Francia, de Córcega o de los departamentos de ultramar, como las Antillas o la Guayana.

Por otro lado, desde los primeros instantes tras el descubrimiento del cuerpo se plantea el problema del marco jurídico del caso. Esta problemática está ligada a las particularidades de los textos legales franceses (procedimiento penal). Así, y para asegurar un marco legal estricto, la toma de postura de un experto y el envío de las muestras se someten previamente a la definición del marco legal de trabajo. A causa de la complejidad de ciertos casos, puede ocurrir que este marco legal evolucione durante los primeros días de investigación.

Durante este tiempo, recomendamos conservar las muestras a baja temperatura en un refrigerador entre 4 y 7°C. El interés de esta refrigeración es la de reducir la actividad fisiológica del insecto y, así, ralentizar su desarrollo. Esta demora debe ser lo más corta posible (nunca más de tres días). Se ha demostrado que la influencia en el desarrollo de los insectos es proporcional a la duración del periodo de refrigeración y a la temperatura sufrida. Esta influencia depende de la especie, de la temperatura y del estado de desarrollo en que se encontrara en el momento de la refrigeración (Myskowiak & Doums 2002) (9).

Si, por razones de tipo práctico, las muestras permanecen en una habitación a temperatura ambiente, los investigadores deben poder informar de las condiciones térmicas del local. Cuanto más alta sea la temperatura, más importante será poner a criar rápidamente los insectos para limitar las consecuencias fisiológicas debidas a la falta de sustrato alimenticio y de oxígeno y a la masificación en el recipiente.

Para conocer las condiciones de almacenamiento de las muestras, se solicita a los investigadores rellenar una ficha de seguimiento que informa especialmente de:

- lugar de almacenamiento (refrigerador,...)
- fecha y hora de inicio de almacenamiento
- fecha y hora de salida
- temperatura media durante ese periodo

Esta ficha se incluye en el *kit* de muestreo entomológico y las anotaciones serán de importancia capital a la hora del análisis.

El investigador y el magistrado deben siempre tener en cuenta toda la atención que requiere el tratamiento de estas muestras. El problema en este caso no consiste en evitar la contaminación sino en mantener los ejemplares vivos.

TRANSPORTE DE LOS PRECINTOS ENTOMOLÓGICOS

Entre el momento del muestreo y el del tratamiento de la muestra en el marco de la peritación, la fase del transporte resulta delicada. En efecto, debe ser rápida, segura y viable para los ejemplares.

Hay varias soluciones factibles. La primera, que recomendamos, es que el técnico en identificación criminal remita, personalmente, las muestras. La discusión y el intercambio de información serán siempre tremendamente constructivos y a menudo complementarios con las informaciones procedentes de las piezas de convicción o de las fotografías.

El embalaje debe adaptarse al transporte de modo que los ejemplares puedan respirar correctamente. Del mismo modo, la temperatura a que se mantengan las muestras deberá estar comprendida entre 5 y 10°C. Lo ideal es transportarlos en una nevera portátil a unos 5°C. Al igual que durante la fase de almacenamiento, se deben conocer perfectamente las condiciones de transporte.

Las condiciones de transporte deberán ser registradas en la ficha guía del *kit* de muestreos relativa al almacenamiento y transporte. Aunque a menudo sea difícil de realizar, es deseable que se controle la temperatura mediante un registrador continuo. Esta solución asegura una perfecta trazabilidad y representa un valor añadido para el experto que se haga cargo del expediente.

Si el técnico en identificación criminal no puede asegurar personalmente el transporte, éste puede ser realizado por las unidades territoriales de la Gendarmería nacional. Nuestra institución está implantada en todo el territorio nacional a través de una red muy densa. Se puede solicitar la intervención de los servicios especializados en el transporte rápido, la policía de tráfico o de intervención para este servicio.

Si el transporte no puede ser acometido por los militares de la Gendarmería, existen otras dos posibilidades.

La primera es el envío a través de los servicios de correos como un simple paquete. En este caso no se controlan ni la temperatura ni las condiciones de transporte. Esto puede tener repercusiones importantes en el trabajo subsiguiente del experto en caso de un mal funcionamiento de los servicios postales que lleve a la pérdida o al retraso del envío. Además, el técnico en identificación criminal tendrá que hacer un embalaje de las muestras que permita, a la vez, la supervivencia de los ejemplares y su estanqueidad para evitar cualquier huída, por razones sanitarias obvias.

La segunda, y esta solución representa realmente una ventaja en la cadena del peritaje, el transporte puede ser hecho por una empresa especializada en el transporte de sangre o medicamentos con destino a hospitales o laboratorios. El transporte se hace a temperatura conocida y controlada de 4°C. La emisión de un recibo acreditativo del historial de las muestras en la empresa permite conocer exactamente las condiciones de transporte. En él se reseñan fechas y horas de la recepción y de entrega de las muestras, la temperatura de depósito solicitada por el cliente y, además, un gráfico con el registro térmico continuo del recipiente. En cuanto a la trazabilidad y el control de calidad, esta modalidad de transporte es, evidentemente, la más interesante. Sin embargo, su elevado coste puede constituir un obstáculo para su utilización sistemática.

II. EL DEVENIR DE LAS MUESTRAS EN EL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN CRIMINAL DE LA GENDARMERIE NACIONAL (IRCGN)

La llegada de las muestras entomológicas comienza obligatoriamente en el Departamento de Toma de muestras-Precintado del IRCGN. Este servicio es el encargado de verificar el cumplimiento de los procedimientos de toma de las muestras y de registrar los diferentes precintos a analizar. Tras el envío de la solicitud de análisis (requerimiento a persona cualificada o mandamiento de comisión de expertos) y de las muestras, el agente encargado del análisis debe rellenar un documento que no se separará de los precintos durante todo su recorrido por el Instituto. Esta ficha lanzadera tiene un número de registro que caracteriza el procedimiento en el departamento del IRCGN encargado de la petición. A cada grupo de



Figura VI. Tratamiento de los precintos: caja de cría, bote de emergencia y recipientes con etanol de 70°.

precintos se le asocia un número. El experto, tras haber indicado estas coordenadas y la fecha, se hace responsable de los precintos enumerados en la ficha. De nuevo, se garantiza la trazabilidad de las muestras.

DESPRECINTADO Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Una vez registrados los precintos y enviados al departamento de Entomología, el experto fotografía las distintas muestras y verifica el estado de los precintos y que sean conformes a las informaciones aportadas en las etiquetas. Una vez desprecintados, el agente anota la composición de cada uno de los precintos e inicia el tratamiento de las muestras.

Los ejemplares conservados muertos en alcohol son aclarados en agua para quitarles la tierra y el exceso de materia orgánica. Si es necesario se limpiarán para facilitar la observación del mayor número de caracteres morfológicos. Los fragmentos de vegetales y de restos diversos se aíslan y tiran. Cuando hay tierra incrustada en las estructuras (lo que es frecuente en las pupas que han permanecido en tierra), los ejemplares se sitúan en una cuba de ultrasonidos para limpiarlos. El conjunto del material entomológico se introduce entonces en un recipiente de vidrio con etanol de 0°. Se debe reseñar, en cada recipiente, el número del precinto correspondiente.

Las larvas vivas, conservadas en seco, se ponen a criar para calcular las fechas de ovoposición.

Las muestras destinadas a ser criadas se sitúan en cajas de plexiglás de dimensiones 260*140*75mm, con la tapadera con orificios recubiertos de una malla metálica fina para la ventilación. Para permitir la pupación, se añade una capa de arena de unos 2 cm. El sustrato alimenticio es carne de vacuno cruda. La carne se prepara (se desgrasa y se corta) antes de incorporarla y se introduce en trozos de 40 a 50 gr. La cantidad de carne debe ser suficiente para no inducir un efecto de competencia intra o interespecífico. Los huevos o las larvas se depositan sobre el sustrato nutritivo. El



Figura VII. Cría en incubador.

conjunto se humedece con agua pulverizada. Las cajas de cría se identifican con el nombre del caso, el número de precinto, el nombre del experto y la fecha de inicio de la cría. Se rellena sistemáticamente un formulario de seguimiento de la cría conforme a los controles.

Todo lo que se está criando se sitúa en cámaras climatizadas a temperatura controlada de 24°C, humedad relativa de 70-85% y fotoperiodo de 12 horas. El número de muestras sometidas a cría en el interior de las cámaras debe adaptarse para permitir una aireación y mezcla suficiente del aire.

La temperatura de las cámaras se vigila a través de una estación independiente de control.

El material sometido a cría se controla como mínimo dos veces al día durante la semana y una vez al día los festivos. En cada control se verifican el estado de los insectos, la adecuada hidratación y la presencia de sustrato alimenticio. El control implica también la verificación de la evolución de los estados de desarrollo alcanzados por los diferentes ejemplares y asegura la recogida de los individuos emergentes. Todas las observaciones se consignan por escrito.

Tras la emergencia de los adultos, se inyecta en la caja de cría dióxido de carbono gaseoso. Este gas paraliza momentáneamente a los insectos. Éstos se recogen con ayuda de una pinza blanda y se colocan en cajas ventiladas en las que se reseñan las referencias de cría, el día y la hora de la recogida.

Los insectos se introducen en un bote con cianuro de potasio durante una hora para que mueran. Después se guardan en seco o en etanol de 70º en un recipiente que lleve las referencias del caso con el número del precinto.

Las pupas, que no se alimentan, pueden ser colocadas en el incubador directamente en cajas de plástico con arena.

Las muestras de tierra se separan para aislar los insectos o los restos que han podido dejar (principalmente puparios). Una vez separadas, las larvas y las pupas se tratan del mismo modo que en el caso de los ejemplares procedentes de las muestras en seco. Las pupas vacías se aclaran y conservan en seco o en alcohol tras ser lavadas y aclaradas. Los Dípteros adultos, los demás insectos y los restantes artrópodos se conservan en alcohol. De modo sistemático, el número de precinto se reseña en los recipientes. Las muestras de tierra, una vez separadas, se conservan en una bolsa de plástico etiquetada con el número de precinto que le corresponde.

Se registran las fechas de emergencia de los adultos procedentes de la cría. La identificación de los especímenes permite, junto con los datos de temperatura, el cálculo de la estimación de las fechas de la ovoposición.

EL NUEVO EMBALAJE DE LAS MUESTRAS

El nuevo embalaje de las muestras debe permitir el envío de los precintos y su buena conservación a largo plazo en los archivos de los tribunales. Los insectos correspondientes a las muestras son normalmente adultos. Este material entomológico se asocia a las muestras conservadas en alcohol tras su separación. Las muestras se reagrupan por número de precinto en uno o varios recipientes de vidrio con etanol de 70º. Las muestras de tierra envasadas nuevamente, tras la separación, en una bolsa de plástico, se asocian a los recipientes con los insectos que se han extraído.

Los recipientes de vidrio se sellan con papel glicerinado para evitar las pérdidas de etanol. A continuación, se colocan en sacos de plástico con cordones que se anudan a la etiqueta de precinto que le corresponde. El conjunto de las piezas de convicción se sella con lacre. La fecha de reconstitución y la firma del agente que ha efectuado el análisis figuran en el reverso de cada una de las etiquetas de precinto. En el informe pericial o en el del examen científico se describe, en un párrafo, la composición de los precintos tras su reconstitución.

Por fin, antes de abandonar el IRCGN y de ser enviadas a la unidad o magistrado correspondiente, los precintos deben pasar de nuevo por el servicio Toma de muestras-Precintado, encargado entonces de verificar el conjunto de piezas confiadas al experto a su llegada. Se emplea para ello la ficha lanzadera, donde se indica la fecha de restitución. Se verifica la

presencia del expediente de análisis y de la nota de envío. Se recomienda que el envío se haga con acuse de recibo.

En el marco de una gestión de calidad, integrada en un procedimiento cuyo fin es obtener una acreditación, todas las etapas del recorrido de las muestras dentro del Instituto son conocidas, normalizadas, verificadas y archivadas. Esta diligencia es una fase muy importante del trabajo. Responde a la optimización de las técnicas y asegura una trazabilidad indispensable, exigida por la criminalística moderna.

CONCLUSIÓN

El empleo de la entomología legal tras el descubrimiento de un cuerpo debe ser sistemático, lo mismo que un muestreo balístico o la búsqueda de huellas dactilares, tanto más cuanto que se trata de indicios vivos que cambian con el paso del tiempo. Es fundamental considerar la entomología legal como cualquier otra disciplina criminalística y no solamente como auxiliar y facultativa. Por ello se debe hacer un esfuerzo importante y constante en materia de comunicación con los investigadores y los magistrados para informarles de las posibilidades y los límites del método y desencadenar este empleo.

La puesta en práctica de procedimientos simples y eficaces, pero sin compromisos que puedan perjudicar la calidad, representa la mejor manera de integrar esta disciplina en la cadena criminalística. Su eficacia no tiene valor salvo que todos los que intervengan la comprendan y acepten. Este esfuerzo en aras de la trazabilidad supone una comodidad para el perito entomólogo forense en su trabajo pero también contribuye a su protección, al limitar y compartimentar los errores y las incertidumbres.

La problemática en relación con los muestreos es muy importante. Ha sido objeto de numerosas reflexiones. Aunque, por supuesto, no exista un procedimiento tipo, puesto que depende directamente del entorno judicial, que es específico de cada país, debe responder a los mismos fundamentos.

Para cotejar nuestras experiencias, ha habido una amplia reflexión en el seno de la Asociación Europea de Entomología Legal (www.eafe.org), de la que somos miembros desde su creación en 2002. Una síntesis de tales reflexiones ha permitido la elaboración de una manual de buenas prácticas que está actualmente en prensa.

Agradecimientos

Queremos agradecer profundamente a las Profesoras María Dolores García y María Isabel Arnaldos, de la Facultad de Biología, y Concepción Palacios, de la Facultad de Letras, de la Universidad de Murcia (España) su labor en la traducción de este artículo. Agradecemos también a Hélène Sellier sus ilustraciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. LECLERCQ M. Entomologie et médecine légale - datation de la mort Collection de Médecine Légale et de Toxicologie Médicale. 1978. Edition Masson N° 108.
2. AMENDT J, CAMPOBASSO C, GAUDRY E, REITER C, LEBLANC H, HALL M. Best practice in forensic entomology - Standards and guidelines. International Journal of Legal Medicine 2006.
3. ARNALDOS MI, ROMERA E, GARCIA MD, LUNA A. Protocolo para la recogida, conservación y remisión de muestras entomológicas en casos forenses. Cuadernos de Medicina Forense, 2001, 25: 65-73.
4. CATTS EP, GOFF L. Forensic entomology in criminal investigations. Ann. Rev. Entomol., 1992, 37: 253-272.
5. CATTS EP, HASKELL N. Entomology and death; a procedural guide. 1990. Joyce's Print Shop, Inc., Clemson, South Carolina: 182 p.
6. GREENBERG B, KUNICH JC. Entomology and the law. Flies as Forensic Indicators. 2002. Cambridge University Press.
7. BYRD J, CASTNER J. Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. 2001. CRC Press.
8. GAUDRY E, MYSKOWIAK JB, CHAUVET B, PASQUERAULT T, LEFEBVRE F, MALGORN Y. Activity of forensic entomology department of the French Gendarmerie Forensic Science International, 2001, 120: 68-71.
9. MYSKOWIAK JB, DOUMS C. Effects of refrigeration on the biometry and development of *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) and its consequences in estimations *post-mortem* interval in forensic investigations. Forensic Science International, 2002, 125, 254-261.

LA ENTOMOLOGÍA FORENSE Y LA PRÁCTICA POLICIAL EN ESPAÑA: ESTIMACIÓN DEL INTERVALO *POST-MORTEM* EN UN CADÁVER HALLADO EN EL INTERIOR DE UNA ARQUETA EN LA COMUNIDAD DE MADRID

ANA MARÍA GARCÍA-ROJO¹, LOURDES HONORATO¹

Resumen: Se presenta un asunto analizado en el laboratorio de Entomología Forense de la Comisaría General de Policía Científica (Cuerpo Nacional de Policía), en relación con el hallazgo del cadáver de una mujer en el invierno de 2005, en el interior de una arqueta cerca del aeropuerto de Barajas, en la zona Noreste de la Comunidad Autónoma de Madrid. Se estimó el intervalo *post-mortem* (IPM) mediante el cálculo de los días-grado acumulados por los dípteros de interés forense recogidos durante la práctica de la autopsia, en el Instituto Anatómico Forense de Madrid. Estos insectos presentan una temperatura mínima de desarrollo por debajo de la cual la actividad del artrópodo cesa. Es muy importante tener en cuenta esta consideración, cuando se realiza la estimación del IPM mediante el cálculo de los días-grado acumulados, en condiciones de temperaturas bajas.

Palabras claves: Entomología forense, intervalo *post-mortem*, días-grado-acumulados, temperatura.

Abstract: We explain a case analysed in the Forensic Entomology laboratory of General Department for Forensic Science, related to a dead woman's body found in an open container near Barajas airport in the northeast of the Madrid administrative region in winter, 2005. We estimated the accumulated degree days (ADDs) to the calculation of the *post-mortem* interval (PMI) for dipterans of forensic interest collected during the autopsy performance in the Mortuary located in Madrid. The former insects have a minimum threshold temperature below which the development ceases. It is outstanding to take it into account when the calculation of accumulated degree days is under low temperatures.

Key words: Forensic entomology, *post-mortem* interval, accumulated days-degree, temperature.

¹ Sección de Antropología, Comisaría General de Policía Científica, Dirección General de la Policía. Ministerio del Interior.

INTRODUCCIÓN

La Entomología Forense estudia los insectos y otros artrópodos que acuden a los cadáveres y que aportan información útil en las investigaciones policiales y judiciales, siendo la utilidad más importante en este contexto la estimación del intervalo *post-mortem* (IPM). Uno de los métodos utilizados para esta estimación es el cálculo de los denominados ADHs (horas grado acumulados) o ADDs (días grado acumulados), definidos como la cantidad de calor requerido por un organismo para completar los distintos estadios de desarrollo dentro de su ciclo vital (Greenberg 1991 (1), Goff 1993 (2)). Es el producto acumulado de tiempo y temperatura. Conociendo los umbrales de desarrollo del artrópodo y la batería de datos de las temperaturas diarias registradas, podemos calcular el tiempo mínimo de ovo/larviposición del insecto.

El objetivo de este trabajo es determinar la data de la muerte, es decir, estimar el tiempo mínimo durante el cual el cadáver ha estado expuesto a la actividad de los artrópodos de interés forense recogidos durante la práctica de la autopsia.

DESCRIPCIÓN DEL ASUNTO

El día 9 de marzo de 2005 fue hallado en avanzado estado de descomposición (figura I), el cadáver de una mujer en el interior de una arqueta situada a escasos metros del Aeropuerto de Barajas, en la zona Noreste de la Comunidad de Madrid. La desaparición de la mujer fue denunciada el 9 de diciembre de 2004.



Figura I. Interior de arqueta, lugar donde fue encontrada la víctima que se hallaba en estado de descomposición avanzado.

Al parecer la mujer, de avanzada edad, salió de su casa, se desorientó y debió caer a la arqueta de la cual no pudo salir. No se hallaron signos de muerte violenta.

MATERIAL Y MÉTODOS

La recogida de muestras entomológicas se realizó en el Instituto Anatómico Forense de Madrid durante la práctica de la autopsia el día 10 de marzo por la mañana. Las muestras vivas se introdujeron en recipientes plásticos adecuados y se etiquetaron para su traslado al laboratorio. El resto de las muestras, los adultos y el resto de las pupas, se sumergieron en frascos con alcohol, etanol al 70%.

Todas las muestras fueron trasladadas a continuación, el mismo día de la recogida, al laboratorio de Entomología Forense de la Comisaría General de Policía Científica en Madrid. Las muestras se transportaron en mano, a temperatura ambiente, por funcionarios expertos en Inspecciones oculares.

Las muestras entomológicas se acompañaron de un Acta de recogida, copia del Acta de Inspección Ocular realizada por el Grupo de Delitos Violentos de la Brigada de Policía Científica de Madrid, así como de un completo reportaje fotográfico del lugar de los hechos. Todos estos pasos de acuerdo a las normas de procedimiento interno de Policía Científica, que aseguran la cadena de custodia de las muestras.

Todas las muestras se conservaron adecuadamente conforme a protocolo de estandarización (Haskell *et al.* 1997 (3)).

Se solicitaron datos de temperatura al Instituto Nacional de Meteorología, observatorio del Aeropuerto de Madrid-Barajas, datos que fueron extrapolados al lugar donde el cadáver fue hallado, situado a escasos metros de dicha estación.

Las muestras recibidas consistieron en adultos de la especie *Nitidula flavomaculata* Rossi (Coleoptera:Nitidulidae) (figura II), y pupas cerradas de díptero de la familia Calliphoridae (figura III).



Fig. II. *Nitidula flavomaculata* Rossi
(Coleoptera:Nitidulidae)



Fig. III. Pupas cerradas
(Diptera: Calliphoridae)

Una vez en el Laboratorio las muestras vivas, las pupas, se introdujeron en recipientes plásticos que se cerraron con tapas tipo rejilla para una correcta ventilación. Cada pupa se crió por separado en un recipiente. Todos los recipientes se depositaron en la cámara de cultivo Heraeus modelo B-12, a temperatura constante de 25°C.

Así mismo, se procedió al estudio e identificación de las muestras muertas, a su etiquetado y almacenaje.

El día 23 de marzo de 2005 a las 20:00 horas emergió un adulto de díptero de la especie *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy 1830 (Diptera: Calliphoridae).

DISCUSIÓN DE LOS DATOS

Nitidula flavomaculata, pertenece a una familia de coleópteros citada como perteneciente a la comunidad de coleópteros de invierno y temperaturas frías. Estos insectos se alimentan de los fluidos y exudados de la materia orgánica en descomposición (Adair y Kondratieff, 1996 (4)). En el caso que nos ocupa, esta especie aparece asociada a cadáver expuesto en fase de putrefacción de descomposición avanzada. Este extremo coincide con las observaciones realizadas por Byrd y Castner (2001) (5). Además es compatible con los resultados obtenidos por Anderson y Vanlaerhoven (1996) (6) en los estudios realizados sobre la sucesión de insectos en cadáveres en el suroeste de la región denominada «Columbia Británica» (Canadá) y Castillo (2002) (7) en su trabajo experimental sobre la entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón.

El estadio más antiguo recogido en el cadáver corresponde a pupa (Diptera: Calliphoridae). Las unidades energéticas para que *Calliphora vicina*, complete un estadio de desarrollo dentro de su ciclo vital son expresadas como días grados acumulados ADDs, con una temperatura base de 2°C (DD-B2). Por debajo de estas temperaturas se interrumpe el desarrollo (Marchenko, 2001 (8)). De acuerdo con este mismo autor, *Calliphora vicina*, requiere 474,1 ADDs para que se complete su ciclo biológico desde huevo hasta adulto. La colonización del cuerpo muerto por el díptero de la especie *Calliphora vicina*, en el lugar en que éste fue hallado, se habría producido entre el día 31 de diciembre de 2004 y el 1 de enero de 2005.

Esta estimación inicial no correspondía con el tiempo mínimo de ovoposición del díptero en el cadáver, probablemente debido a que esta especie tiene un desarrollo más lento cuando está sometida a un régimen de temperaturas muy fluctuantes. Esto es compatible con los resultados expuestos por Anderson (2000) (9), en el trabajo realizado con cinco dípteros de interés forense, entre las que se encuentra la especie *Calliphora vicina*. El citado estudio fue desarrollado a distintas temperaturas en la región de Canadá denominada «Columbia Británica». Por lo tanto, el

cálculo de ADDs y ADHs, cuando las temperaturas han estado por debajo de 5°C puede producir un error considerable y se puede subestimar el tiempo de desarrollo calculado (Ames y Turner, 2003 (10)).

CONCLUSIÓN

Es destacable la escasa infestación de insectos en el cadáver probablemente debido a las bajas temperaturas, por debajo de 5°C la mayor parte de los días.

En el caso que nos ocupa, teniendo en cuenta el desarrollo de los insectos a esas temperaturas dadas, aportadas por el Instituto Nacional de Meteorología, observatorio del Aeropuerto de Madrid-Barajas y en ese lugar en el que el cadáver fuera encontrado; la colonización del díptero *Calliphora vicina*, se habría producido entre el 13 y el 18 de diciembre de 2004, periodo durante el cual pudo estar activo y poner huevos. La muerte precedería a la colonización del cadáver.

AGRADECIMIENTOS

Instituto Nacional de Meteorología, observatorio del Aeropuerto de Madrid-Barajas por la aportación de los datos de temperatura, fundamentales para la resolución del caso forense.

BIBLIOGRAFÍA

1. GREENBERG, B. (1991). Flies as forensic indicators. *Journal Medical Entomology* 28 (5): 565-577.
2. GOFF, M. L. (1993). Estimation of *post-mortem* interval using arthropod development and sucesional patterns. *Forensic Science Review*, 1993, 5 (81).
3. HASKELL, N H, HALL, R., CERVENKA, V J & CLARK, M A (1997). On the body: insect's life stage presence and their *post-mortem* artifacts. In W D Haglund and M A Sorg (eds), *Forensic Taphonomy: the post-mortem fate of human remains*, pp. 415-418., CRC Press, Boca Raton, 1997.
4. ADAIR, T W, KONDRATIEFF B C. The Occurrence of *Nitidula Flavomaculata* (Coleoptera: Nitidulidae) on a human corpse. *Ent. News*, 1996, 107(4): 233-236.
5. BYRD, JH AND CASTNER JL (2001). *Insects of Forensic importance. Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. CRC Press LLC, Boca Raton, 2001,

6. ANDERSON, GS & SL VAN LAERHOVEN (1996). Initial studies on insect succession on carrion in Southwestern Columbia. *Journal of Forensic Sciences*, 1996, 41 (4): 617-625.
7. CASTILLO, M. Estudio de la entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón (España). *Monografías S.E.A.*, 2002, vol 6: 94 pp.
8. MARCHENKO, MI. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. *Forensic Science Internacional*, 2001, 12: 89-109.
9. ANDERSON, G S. Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). *Journal of Forensic Sciences* 2000; 45(4):824-832.
10. C. AMES C AND B. TURNER. Low temperature episodes in development of blow-flies implications for *postmortem* interval estimation. *Medical and Veterinary Entomology* (2003) 17, 178-186.

IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS REGIONALES DE FAUNA SARCOSAPRÓFAGA. APLICACIÓN A LA PRÁCTICA FORENSE

M^a ISABEL ARNALDOS¹, CATARINA PRADO E CASTRO²,
JUAN JOSÉ PRESA³, ELENA LÓPEZ-GALLEGO⁴ Y M^a DOLORES GARCÍA¹

Resumen: Los artrópodos están asociados con la materia orgánica en descomposición de muy diversas maneras. A efectos forenses, algunas de sus especies tienen especial relevancia por asociarse con etapas concretas del proceso de la descomposición, sirviendo así para la estimación del intervalo *postmortem*. Esta estimación puede hacerse a partir de la composición de la fauna presente en el cadáver en un momento dado o a partir del grado de desarrollo de dicha fauna. Pero la fauna está condicionada por múltiples factores, entre los que se encuentran las características del área biogeográfica y las propias del ambiente particular en que se halle el cadáver. Por ello, se hace necesario el conocimiento de las faunas regionales para evitar posibles errores en la interpretación de evidencias procedentes de casos forenses reales. Para ilustrar lo anterior, se presentan aquí datos comparativos de estudios sobre fauna sarcosaprófaga llevados a cabo en distintas áreas de la Península Ibérica, donde quedan patentes las diferencias existentes en cuanto a la composición de la comunidad y las especies predominantes de los principales grupos implicados.

Palabras clave: Fauna sarcosaprófaga, estudios regionales, Península Ibérica, Díptera, Coleoptera, Hymenoptera.

Abstract: Arthropods are associated with decaying organic matter in different ways. Some species are especially relevant for forensic purposes since

¹ Profesora Titular de Zoología. Universidad de Murcia.

² Becaria de FCT. Universidad de Lisboa.

³ Catedrático de Zoología. Universidad de Murcia.

⁴ Bióloga. Universidad de Murcia.

they are associated with concrete decomposition stages being useful for the estimation of *postmortem* interval. This estimation can be done on the basis of the composition of the fauna present on the corpse in a particular time or based on the development level of this fauna. But the fauna itself is conditioned by several factors such as the characteristics of the biogeographical area and the particular environment where the corpse is found. So, a knowledge of the regional fauna is needed in order to avoid errors when evaluating entomological evidence from actual forensic cases. The above can be enlighten with comparative data from several studies conducted in different areas of the Iberian Peninsula. Comparison shows differences in the composition of the entomosarcosaprophagous community in each area and in the most relevant species of the main involved groups.

Key words: Sarcosaprophagous fauna, regional studies, Iberian Peninsula, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera.

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica en descomposición es una fuente de alimento y refugio para un gran número de artrópodos. Estos animales, asociados a la materia orgánica en descomposición en sus diferentes etapas de desarrollo, forman lo que se denomina comunidad sarcosaprófaga.

La comunidad sarcosaprófaga está formada por diferentes grupos ecológicos, que deben ser nombrados sobre la base de los hábitos alimentarios de sus miembros (Bornemissza, 1957 (1)). La denominación de los grupos tróficos por los distintos autores (Chapman & Sankey, 1955 (2), McKinnerney, 1978 (3), Jirón & Cartín, 1981 (4), Braack, 1987 (5)) es muy diversa, así hay quién los clasifica en carroñeros, predadores y parásitos; en necrófagos y necrófagos-predadores; en consumidores primarios de carroña y consumidores secundarios como predadores de los consumidores primarios e, incluso, en función del componente de la carroña del que se alimenta, en sarcófagos, coprófagos, dermatófagos, queratófagos, detritívoros, predadores y parásitos. Pero la clasificación de la fauna sarcosaprófaga más utilizada (Reed, 1958 (6), Payne, 1965 (7), Johnson, 1975 (8), Smith, 1986 (9), Leclercq & Verstraeten, 1993 (10), Leclercq, 1996 (11), Campobasso et al., 2001 (12), Goff, 2004 (13), Arnaldos et al., 2005 (14)) incluye los siguientes grupos ecológicos:

1. Especies necrófagas, las que llegan en primer lugar y se alimentan a expensas del cadáver. Aparecen según una secuencia temporal que atiende al estado químico de la descomposición. Constituyen el grupo más significativo para la datación de la muerte.
2. Especies necrófilas, las que se alimentan a expensas de los necrófagos existentes en el cadáver por predación o parasitismo.

3. Especies omnívoras, que se alimentan tanto del cadáver como de la fauna asociada (necrófagos y necrófilos).
4. Especies oportunistas, que aprovechan el cadáver como refugio, fuente de calor, etc.
5. Especies accidentales, aquellas cuya presencia en el cadáver se debe únicamente al azar.

De todo lo anterior, puede deducirse la gran variedad de grupos, y por tanto especies, que pueden presentarse en relación con un cadáver. No obstante, y a pesar que su sola presencia puede ser determinante para la obtención de conclusiones válidas a efectos forenses, no todas las especies tienen la misma importancia en la mayoría de los casos.

I. IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS DE SUCESIÓN EN ENTOMOLOGÍA FORENSE

Los artrópodos pertenecientes a la comunidad sarcosaprófaga forman una sucesión faunística temporal asociada a los distintos estados de descomposición del cuerpo. Las distintas fases de la descomposición de un cadáver, con sus consecuentes cambios físico-químicos, atraen a diferentes especies de artró por lo que hace que éstos aparezcan en la comunidad en una secuencia de colonización, también denominada sucesión sarcosaprófaga que, una vez conocida, hace que pueda ser previsible.

En los estudios de Entomología forense realizados con restos animales podemos encontrar diferentes clasificaciones de los estados de descomposición pero, en general, se pueden establecer unas etapas básicas de descomposición de un cadáver animal intacto (Early & Goff, 1986 (15), Hewadikaram & Goff, 1991 (16), Goff, 1993 (17), Tantawi *et al*; 1996 (18), entre otros...). Estas etapas de la descomposición se consideran un patrón generalizado y son fácilmente asimilables a las fases de la putrefacción humana descritas en los tratados de patología forense (Gisbert Calabuig *et al.*, 2004 (19)). A continuación se exponen, de manera muy resumida, las fases básicas de la descomposición de un cadáver animal intacto:

1. Estado fresco: se inicia en el momento de la muerte y finaliza cuando la hinchazón del cadáver es evidente.
2. Estado enfisematoso: los gases producidos por la actividad metabólica de las bacterias anaerobias causan, en primer lugar, una ligera hinchazón del abdomen y, a continuación, un evidente hinchamiento en todo el cadáver presentando éste un aspecto abombado.
3. Estado de descomposición: en esta fase se produce la rotura de la piel, permitiendo la salida de los gases y los fluidos corporales del cadáver; el cuerpo se deshinchaba por completo.
4. Estado de descomposición tardía: en esta fase la desecación del cadáver es muy evidente, los restos se van reduciendo a piel, cartílago y hueso.

5. Estado de esqueletización: este estado se alcanza cuando del cadáver sólo quedan restos de pelo y los huesos.

El reconocimiento de las especies de artrópodos implicadas en la sucesión sarcosaprófaga, con sus diferentes estados inmaduros, junto con el conocimiento de su nivel de desarrollo hace que, a partir de evidencias entomológicas encontradas en casos forenses reales, se pueda obtener todo tipo de datos acerca de la escena forense. Estos datos pueden hacer referencia tanto al momento de la muerte como a una posible manipulación y traslado del cadáver o modificaciones de la escena (Haskell *et al.*, 2001 (20)).

Pero uno de los aspectos más importantes de la Entomología forense es la estimación de los intervalos *postmortem* a partir de las evidencias entomológicas encontradas. Esta estimación se puede realizar a partir de la composición de la fauna encontrada o a partir del grado de desarrollo de la fauna instalada sobre el cadáver. Para poder evaluar cualquiera de estos supuestos, es fundamental conocer la composición faunística sarcosaprófaga del área en cuestión. Si se desconoce esta fauna, el entomólogo forense encargado de la evaluación tiene que recurrir necesariamente a la bibliografía existente. De toda ella escogerá preferentemente la perteneciente a las áreas más similares a la zona de estudio lo cual, dada la escasez de trabajos existentes, en la mayoría de los casos no es posible y se tiene, por tanto, que utilizar datos de áreas biogeográficas muy diferentes.

La composición faunística y la colonización de la carroña por los artrópodos dependen de muchos factores; uno de los más importantes es la región biogeográfica o zona bioclimática en la que se encuentran los restos. La región bioclimática define el hábitat, vegetación, tipo de suelo y las condiciones meteorológicas del área. Esto, obviamente, tiene influencia tanto en los tipos y especies de insectos presentes, como en su aparición estacional. Todos estos factores, además, afectan a la descomposición de los restos, lo cual incide en los insectos que las colonizan (Anderson, 2001 (21)). Muchas especies de insectos son relativamente cosmopolitas, pero las especies implicadas en la descomposición varían de una región a otra y, la descomposición es, en sí misma, bastante diferente en varias regiones biogeográficas (MacGregor, 1999a (22), 1999b (23) cf. Anderson, 2001 (21)). Ya efectos de la estimación del intervalo *postmortem*, a todo lo anterior hay que añadir el tiempo que tardan los adultos en localizar y acceder al cadáver, esto es, hay que conocer la pauta de colonización del cadáver, que también varía en función de la región biogeográfica, hábitat y estación del año.

Por tanto, el desconocimiento de las faunas locales y regionales, en especial en ciertas áreas biogeográficas, es preocupante a la hora de poner en práctica la Entomología forense, pues tiene como consecuencia la necesidad de recurrir a datos procedentes de la bibliografía que, en la mayoría de los casos, corresponden a áreas y hábitats muy diferentes a los de la zona a

evaluar. Para poder obtener conclusiones válidas a partir de las evidencias entomológicas, desde el punto de vista forense, el entomólogo encargado de la evaluación del caso debe tener conocimiento, por lo menos general, de la fauna sarcosaprófaga esperada y esperable en la zona en cuestión. De esta forma, el experto podrá ponderar con mayor exactitud la presencia o ausencia de determinadas especies para la obtención de conclusiones válidas a efectos forenses.

El primer paso a la hora de afrontar estudios en Entomología forense es la realización de estudios de campo de la comunidad sarcosaprófaga. Desgraciadamente, estos estudios, básicos y fundamentales, no son muy frecuentes por la dificultad y esfuerzo intrínseco que suponen pero, dada la necesidad ineludible de conocer las especies de artrópodos mejores indicadoras en cada área biogeográfica, hábitat y estación anual para la puesta en práctica de la Entomología forense, se ha observado, en los últimos años, un aumento progresivo de este tipo de trabajos en distintas áreas del planeta (Vanlaerhoven & Anderson, 1999 (24), Davis & Goff, 2000 (25), Lopes de Carvalho & Linhares, 2001 (26), Wolff et al., 2001 (27), Centeno *et al.*, 2002 (28), Archer & Elgar, 2003 (29), Bharti & Singh, 2003 (30), Battán Horenstein et al., 2005 (31), Camacho, 2005 (32), Tabor *et al.*, 2005 (33)). A pesar de que en muchos de estos trabajos sólo se ha estudiado una estación del año, resultan de gran utilidad para el entomólogo forense.

En relación con este tipo de trabajos también resulta acuciante la necesidad de unificar la metodología a utilizar (tipo de cebo utilizado, modo de captura y categorías ecológicas consideradas) para poder extrapolar los datos con la mayor fiabilidad posible.

En sustitución del cebo humano se ha utilizado gran diversidad de cebos animales: aves, ratones, impalas, elefantes, reptiles, perros, gatos, cerdos... (Arnaldos Sanabria, 2000 (34)). Para la elección del cebo hay que tener en cuenta muchos factores (Keh, 1985 (35), Payne, 1965 (7), Hewadikaram & Goff, 1991 (16), Denno & Cothram, 1975 (36), Micozzi, 1986 (37)), entre otros su accesibilidad y facilidad de manejo, su tamaño, modo de conservación hasta el momento de su utilización, presencia de éste de heridas o traumas, tipo de piel y existencia de pelos o faneras, etc ... A pesar de las muy diversas opiniones respecto a la idoneidad de un determinado modelo animal frente a otro a la hora de los estudios experimentales en Entomología forense, lo cierto es que aún no existen resultados totalmente concluyentes, aunque existe una tendencia creciente a la utilización de cerdo doméstico.

II. IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS REGIONALES SOBRE FAUNA SARCOSAPRÓFAGA

Para ilustrar los problemas antes expuestos puede tomarse, a modo de ejemplo, el caso de la Península Ibérica, área biogeográfica de característi-

cas particulares por presentar influencias ambientales de distintas áreas. Esto hace que sea el lugar de Europa con mayor diversidad entomológica donde, cada año, se descubre el mayor número de especies animales nuevas, la mayoría de ellas artrópodos. Este dato contrasta con la escasez de estudios sobre sucesión que existen en esta zona (Arnaldos Sanabria, 2000 (34), Arnaldos *et al.*, 2005 (14), Castillo Miralbés, 2002 (38) y Barros de Prado e Castro, 2005 (39)) y sorprende aún más que se publiquen en nuestro país, en revistas y libros de ámbito científico y no divulgativo, artículos (González Peña, 1997 (40), Magaña, 2001 (41)) y capítulos de libro (Reverte Coma, 1999 (42)) que bien asumen para España una sucesión faunística temporal o unos listados de especies animales pertenecientes a faunas de otras regiones, que no han sido comprobados con ningún tipo de prospección previa, bien incluyen inexactitudes manifiestas en cuanto a la biología, taxonomía y nomenclatura de los artrópodos.

Desde un punto de vista histórico, en la Península Ibérica el primer autor en referirse a la entomología con una perspectiva forense fue Graells (1886) (43), que recogió resultados de los trabajos de Mégnin (1894) (44). A principios del siglo XX, Ríos (1902 a (45) y b (46)) aporta estudios sobre la putrefacción de cadáveres y su relación con diferentes insectos. En esa misma época Lecha-Marzo (1924) (47) y Piga Pascual (1928) (48) llaman, precisamente, la atención sobre el hecho de que una causa de error en relación con la Entomología Forense es la falta de estudios regionales y locales que adecuasen los trabajos de Mégnin al biotopo y al clima locales (cf. Villalaín Blanco, 1976 (49)) resaltando lo erróneo de considerar la fauna cadavérica como única y universal.

No hay más trabajos conocidos hasta la publicación de Báguena (1952) (50) también influenciado por los trabajos de Mégnin, lo mismo que los de Domínguez Martínez y Gómez Fernández (1957 (51), 1963 (52)) quienes aportan observaciones propias y estudios preliminares sobre los ciclos vitales de algunas especies de dípteros. Más tarde Pérez de Petinto y Bertomeu (1975) (53) tratan de los dípteros presentes en los cadáveres y aportan algún dato derivado de casos forenses señalando las particularidades biológicas de los insectos en función de las regiones biogeográficas, por las diferencias climáticas. Villalaín Blanco (1976) (49) también refleja la necesidad de realizar estudios regionales y locales de la fauna entomosarcosaprófaga al estudiar los coleópteros en diversas provincias españolas. Haciéndose eco de la necesidad de realizar estudios que tuvieran en cuenta aspectos ambientales, Romero Palanco y Munguía Girón (1986) (54) hicieron el primer intento de estudio comparativo de la fauna en cuestión en distintas estaciones del año y en distintos biotopos. Sus resultados se centraron en dípteros, coleópteros y algunos himenópteros. Señalaron ya la participación en esta fauna de especies consideradas sólo coprófagas. Estos autores incidieron, también, en la necesidad de realizar investigaciones sistemáticas para establecer las peculiaridades de la fauna cadavérica en cada ecosistema o región geográfica. Des-

de un punto de vista aplicado, en el trabajo de González Mora *et al.* (1990) (55) se hace uso de evidencias entomológicas recogida de un cadáver para datar el fallecimiento. Martínez *et al.* (1997) (56) refieren datos novedosos acerca de hormigas asociadas a cadáveres y Sánchez Piñero (1997) (57) estudia el conjunto de los coleópteros carroñeros en medios áridos. A partir de la década de 1990 aparecen también artículos divulgativos que tratan sobre el tema (Viejo Montesinos y Romero, 1992 (58); Coperías, 1996 (59)) y trabajos de tipo general (González Peña, 1997 (40), Reverte Coma, 1997 (42), Magaña, 2001 (41)) y dedicados a grupos específicos de la fauna realcionada con cadáveres (Galante y Marcos García, 1997 (60)), pero sin incidir especialmente en el conocimiento de esta fauna (García García *et al.*; 2004 (61)).

Arnaldos Sanabria (2000) (34), Arnaldos *et al.* (2001 (62), 2005 (14)), Castillo Miralbés (2002) (38) y Barros de Prado e Castro (2005) (39) han realizado, independientemente, estudios de entomofauna cadavérica en tres regiones muy distintas de la Península Ibérica, tratando de establecer relaciones entre las peculiaridades de esta fauna y las etapas de la descomposición. En los dos primeros trabajos se estudia un ciclo anual completo y se recogen ejemplares de diversos órdenes de artrópodos, y en el último de los trabajos se estudia únicamente la comunidad de dípteros asociada a los restos en descomposición a lo largo de la primavera y verano, diferenciando la comunidad de áreas soleadas y de umbrías.

En relación con estos tres trabajos y el de Romero Palanco y Munguía Girón (1986) (54), obviando el tipo de cebo empleado, surge dificultad para su comparación a causa de la distinta metodología empleada: tipo de muestreo, periodicidad y métodos aplicados (García García *et al.*; 2004 (61)).

Romero Palanco y Munguía Girón (1986) (54) no hacen mención al tipo ni al método de muestreo. Castillo Miralbés (2002) (38) emplea el método de captura manual utilizando manga entomológica, pinceles mojados en etanol de 70% y pinzas entomológicas. Arnaldos Sanabria (2000) (34), Arnaldos *et al.* (2001 (62), 2005 (14)) y Barros de Prado e Castro (2005) (39) emplean un mismo dispositivo de muestreo que permite recolectar todos los artrópodos, tanto los que acceden al cebo como los que emergen de él, con una interferencia mínima en el proceso natural de descomposición del cadáver y su sucesión faunística. Este dispositivo, la trampa de Schoenly (Schoenly, 1981 (63), Schoenly *et al.*, 1991 (64)) permite hacer un censo total de todos los artrópodos que acceden a y se desarrollan en el cadáver. Este tipo de captura, sistematizada e igualitaria para todos los muestreos y durante todos los días del periodo experimental, permite no sólo la elaboración de un inventario fidedigno sino, además, acometer cualquier tipo de análisis estadístico. Entendemos, por tanto, que esta metodología sí refleja la totalidad de la fauna asociada al cadáver, su composición, dinámica y, en consecuencia, los resultados obtenidos ofrecen garantías de comparación válida (García *et al.*; 2004 (61)).

A efectos comparativos, procede tomar en consideración los grupos animales más importantes, los tenidos en cuenta como tales habitualmente por su abundante presencia, su frecuencia como evidencia recogida en las investigaciones forenses o su papel en la cadena trófica (GARCÍA *et al.*; 2004 (61)). Así, los grupos seleccionados son los dípteros, coleópteros e himenópteros.

En relación con los Dípteros, los estudios realizados en la Península ibérica, en Cádiz (Romero Palanco & Munguía Girón, 1986 (54)), Coimbra (Barros de Prado e Castro, 2005 (39)), Huesca (Castillo Miralbés, 2002 (38)) y Murcia (Arnaldos Sanabria, 2000 (34), Arnaldos *et al.*, 2001 (62)), muestran (tabla 1) un número de familias diferente en cada uno de los lugares prospectados. Cádiz presenta el valor más bajo, Huesca y Murcia tienen unos valores próximos, y es Coimbra donde el número de familias capturadas es más elevado. Estudiando los otros dos grupos, de los que no tenemos datos generales procedentes de Coimbra (tabla 1), Huesca y Murcia presentan un número similar de familias de Coleópteros, sin embargo en Cádiz se presenta un número ligeramente inferior. En cuanto a las familias de himenópteros, hay notables diferencias en las tres zonas, presentando Murcia un valor muy superior. Resulta llamativa la referencia de una única familia de este orden en Cádiz.

Continuando con la selección de casos a fin de poder presentar un estudio comparativo accesible, se ha seleccionado una sola estación del año, la Primavera, estación que, por regla general, recoge la mayor diversidad faunística. Los resultados de la comparación de las especies presentes de estos grandes grupos de artrópodos son notables. Las familias de Dípteros más importantes a efectos forenses, los Calliphoridae (tabla 2) y los Muscidae (tabla 3), presentan una notable diferencia tanto en diversidad como en número y tipo de especies capturadas en cada una de las zonas. Así, Coimbra resulta ser la zona con mayor diversidad de especies de ambas familias, mientras que Cádiz es en la que se recoge el menor número de especies. Las diferencias se acentúan si se considera la especie dominante, y por tanto más esperable, en cada una de las zonas prospectadas. En Coimbra predominan *Chrysomya albiceps* (tabla 2) e *Hydrotaea ignava* (tabla 3); en Murcia y Huesca las mayoritarias son *Lucilia sericata* (tabla 2) y *Muscina stabulans* (tabla 3). No hay datos al respecto relativos a Cádiz.

Los trabajos realizados en Huesca y Coimbra permiten comparar entre especies de Dípteros califóridos de áreas insoladas y umbrías (tabla 4). En ambos lugares las especies dominantes son las mismas, en zonas soleadas *Chrysomya albiceps* y en umbrías *Calliphora vicina*. En cambio, la diversidad de las especies recogidas en ambos hábitats es sensiblemente superior en Coimbra. En Coimbra aparecen las mismas especies en ambas zonas aunque su abundancia relativa es diferente. En cambio, en Huesca sí existen diferencias entre el número de especies en las dos zonas, la zona umbría presenta un mayor número de especies que la soleada y, además, apare-

cen especies exclusivas de dicha zona, como *Melinda viridicyanea* y *Lucilia silvarum*.

Los coleópteros son el grupo más diverso dentro de los artrópodos de modo que, para ilustrar las diferencias entre las comunidades de coleópteros sarcosaprófagos, se han escogido las especies de las familias que representan las categorías ecológicas más importantes de la comunidad sarcosaprófaga. Éstas son las especies de derméstidos (necrófagas), histéridos (necrófilos) y cléridos (omnívoros) (Arnaldos *et al*, 2005 (14)). Como se puede observar en la tabla 5, Huesca resulta el área con mayor número de especies presentes durante la Primavera. Las especies predominantes de derméstidos coinciden en Murcia, Cádiz y Huesca. Los Cléridos no aparecen en Cádiz y la especie predominante es la misma en Murcia y Huesca. En cuanto a los Histéridos, la mayor diversidad se da en Huesca y la menor en Cádiz, existiendo pocas coincidencias entre las distintas zonas.

En cuanto a los Himenópteros, los formícidos forman un componente muy importante dentro de la comunidad sarcosaprófaga, tanto por su acción depredadora sobre larvas y huevos de dípteros, como por los daños que pueden efectuar en el propio cadáver que, en algunos casos, pueden desfigurarlos y simular marcas producidas por torturas. Analizando la comunidad de himenópteros sarcosaprófagos centrándonos en los formícidos (tabla 6) observamos notables diferencias. En Cádiz no aparecen citados, Murcia resulta ser el área más diversa, siendo el número de especies presentes en ella muy superior al encontrado en Coimbra (Prado e Castro *et al.*, 2006 (65)) y Huesca. Pero, lo que es más significativo es que no hay ninguna especie que coincida en las tres áreas estudiadas. Tomadas las localidades dos a dos, únicamente coinciden *Tetramorium semilaeve* en Coimbra y Huesca, *Linepithema humile* en Coimbra y Murcia y *Pheidole pallidula* en Huesca y Murcia. Las especies dominantes en cada una de las áreas también son diferentes, *Linepithema humile* en Coimbra, *Lasius niger* en Huesca y *Pheidole pallidula* en Murcia.

III. CONCLUSIONES

Así pues, y a tenor de los datos sucintamente expuestos, si dentro de la Península Ibérica, área biogeográfica tenida por uniforme, con unos límites naturales importantes y bien definidos, se manifiestan diferencias tan acusadas en cuanto a composición y estructura de la comunidad sarcosaprófaga, resulta inapelable la necesidad de conocer, o al menos comprobar, las faunas regionales a efectos de su aplicación a la práctica forense. No debe, por tanto, recurrirse a los datos foráneos para evaluar las evidencias recogidas en un caso concreto sin que pueda ser modulada la información aportada con la derivada de la fauna regional o local. Ni siquiera deberían emplearse con exclusividad datos procedentes de otras zonas de una misma área sin ponderar la posible influencia de las condi-

ciones particulares del lugar, biotopo o época de procedencia de las evidencias.

No debe olvidarse que los sistemas biológicos, entre ellos la comunidad entomosarcosaprófaga, no son sistemas exactos sino que gozan de una variabilidad notable aun dentro de unos patrones de funcionamiento determinables y predecibles.

Así, la realización de estudios sobre fauna sarcosaprófaga de áreas reducidas o biotopos concretos, bajo los más diversos supuestos ambientales, resulta esencial. La información de ellos derivada pasaría a formar parte de una base de datos de valor incalculable para el entomólogo forense en su práctica profesional. Esta base de datos permitirá, a la hora de elaborar un informe pericial, la obtención de conclusiones más ajustadas y fiables a partir de las evidencias entomológicas recogidas en casos reales. En relación con ello debe tenerse siempre en mente que la Entomología forense, como ciencia, merece el mismo tratamiento, respeto y aplicación de espíritu crítico que las restantes ciencias forenses y que el entomólogo forense, como experto, es el único profesional formado y cualificado para evaluar las evidencias entomológicas extraídas de casos reales y plantear, en su caso, los estudios sobre sucesión de la comunidad sarcosaprófaga que puedan colaborar al mejor entendimiento de las evidencias a estudiar.

Tabla 1

Número de familias de los principales órdenes de insectos sarcosaprófagos representadas en las distintas áreas estudiadas de la Península Ibérica.

	COIMBRA	HUESCA	MURCIA	CÁDIZ
Familias Diptera	28	18	16	4
Familias Coleoptera	—	16	15	11
Familias Hymenoptera	—	9	19	1

Tabla 2

Especies de *Calliphoridae* presentes en los cuatro estudios considerados; el área sombreada señala la especie predominante.

	COIMBRA	MURCIA	HUESCA	CÁDIZ
<i>Calliphora vicina</i>	X	X	X	X
<i>Calliphora vomitoria</i>	X			
<i>Chrysomya albiceps</i>	X	X	X	
<i>Lucilia ampullacea</i>	X			
<i>Lucilia caesar</i>	X			X
<i>Lucilia illustris</i>	X			
<i>Lucilia sericata</i>	X	X	X	
<i>Lucilia silvarum</i>	X		X	
<i>Melinda viridicyanea</i>			X	
<i>Pollenia sp.</i>	X	X	X	
<i>Protophormia terranova</i>	X			
<i>Stomorphina lunata</i>	X			

Tabla 3
Especies de *Muscidae* presentes en los cuatro estudios considerados,
el área sombreada señala la especie predominante.

	COIMBRA	MURCIA	HUESCA	CÁDIZ
<i>Hebecnema fumosa</i>			X	
<i>Helina evecta</i>				
<i>Hydryaea aenescens</i>			X	
<i>Hydrotaea capensis</i>	X			
<i>Hydrotaea ignava</i>	X		X	
<i>Hydrotaea leucostoma</i>			X	
<i>Hydrotaea sp.</i>	X			
<i>Morellia hortorum</i>				X
<i>Musca domestica</i>	X	X	X	
<i>Muscina assimilis</i>		X	X	
<i>Muscina levida</i>	X		X	
<i>Muscina prolapsa</i>	X			
<i>Muscina stabulans</i>	X	X	X	
<i>Myospila meditabunda</i>	X			
<i>Ophyra leucostoma</i>				X
<i>Phaonia rufiventris</i>	X			
<i>Spilogona sp.</i>	X			

Tabla 4
Especies de *Calliphoridae* capturadas en áreas insoladas y umbrías.

	SOL		SOMBRA	
	COIMBRA	HUESCA	COIMBRA	HUESCA
<i>Calliphora vicina</i>	X	X	X	X
<i>Calliphora vomitoria</i>	X		X	
<i>Chrysomya albiceps</i>	X	X	X	X
<i>Lucilia ampullacea</i>	X		X	
<i>Lucilia caesar</i>	X		X	
<i>Lucilia illustris</i>	X		X	
<i>Lucilia sericata</i>	X	X	X	X
<i>Lucilia silvarum</i>	X		X	X
<i>Melinda viridicyanea</i>				X
<i>Pollenia sp.</i>	X	X	X	X
<i>Protophormia terranovae</i>	X		X	
<i>Stomorphina lunata</i>	X		X	

Tabla 5

Especies de *Dermestidae*, *Cleridae* e *Histeridae* presentes en los tres estudios considerados, el área sombreada denota la especie predominante.

		HUESCA	MURCIA	CÁDIZ
DERMESTIDAE	<i>Attagenus obtusus</i>		X	
	<i>Dermestes frischii</i>	X	X	X
	<i>Dermestes undulatus</i>	X		
CLERIDAE	<i>Necrobia rufficollis</i>	X		
	<i>Necrobia rufipes</i>	X	X	
	<i>Necrobia violacea</i>	X		
HISTERIDAE	<i>Carcinops pumilio</i>	X		
	<i>Euspilotus (neosaprinus) perrisi</i>	X		
	<i>Gnathoncus rotundatus</i>	X		
	<i>Hister cadaverinus</i>			X
	<i>Hypocacculus (s.str.) metallescens</i>	X		
	<i>Margarinotus (Paralister) ignobilis</i>	X		
	<i>Margarinotus (Paralister) brunneus</i>	X		
	<i>Saprinus algericus</i>	X		
	<i>Saprinus caeruleus</i>	X		
	<i>Saprinus deterius</i>	X		X
	<i>Saprinus furvus</i>		X	
	<i>Saprinus georgicus</i>	X		
	<i>Saprinus godet</i>	X		
	<i>Saprinus melas</i>	X		
	<i>Saprinus niger</i>		X	
	<i>Saprinus lugens</i>	X		
	<i>Saprinus (Phaonius) pharao</i>	X		
	<i>Saprinus politus</i>	X		
	<i>Saprinus semistriatus</i>		X	X
	<i>Saprinus subnitescens</i>	X		
	<i>Saprinus tenuistrius sparsutus</i>	X		
	<i>Pholioxenus castilloi</i>			
	<i>Histerini sp.</i>		X	

Tabla 6

Especies de *Formicidae* presentes en los tres estudios considerados, el área sombreada denota la especie predominante.

	COIMBRA	HUESCA	MURCIA
<i>Aphaenogaster iberica</i>			X
<i>Camponotus aethiops</i>		X	
<i>Camponotus sylvaticus.</i>			X
<i>Cataglyphis ibericus</i>			X
<i>Crematogaster scutellaris</i>		X	
<i>Formica rufibarbis</i>		X	
<i>Lasius grandis</i>		X	
<i>Lasius niger</i>			X
<i>Linepithema humile</i>	X		X
<i>Messor barbarus</i>			X
<i>Myrmica specioides</i>		X	
<i>Pheidole pallidula</i>		X	X
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	X		X
<i>Plagiolepis schmitzii</i>			X
<i>Plagiolepis xene</i>			X
<i>Ponera coarctata</i>	X		
<i>Pyramica membranifera</i>			X
<i>Solenopsis sp.</i>			X
<i>Temnothorax nylanderi</i>	X		
<i>Temnothorax recedens</i>	X		
<i>Tetramorium semilaeve</i>	X	X	

BIBLIOGRAFÍA

1. BORNEMISSZA GF. An analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. *Australian Journal of Zoology*, 1957, 5:1-12.
2. CHAPMAN RF & SANKEY JHP. The larger invertebrate fauna of three rabbit carcasses. *Journal of Animal Ecology*, 1955, 24: 395-402.
3. MCKINNERNEY M. Carrion communities in the northern Chihuahuan desert. *The Southwestern Naturalist*, 1978, 23(4): 563-576.
4. JIRON LF & CARTÍN VM Insect Succession in the Decomposition of a mammal in Costa Rica. *Journal of New York Entomological Society*, 1981, LXXXIX(3): 158-165.
5. BRAACK LEO Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical african woodland. *Oecologia*, 1987, 72: 402-409.
6. REED HBA study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *The American Midland Naturalist*, 1958, 59(1): 213-245.
7. PAYNE JA. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa*. *Ecology*, 1965, Vol. 46, n° 5, pp. 592-602.
8. JOHNSON MD. Seasonal and Microseral Variations in the Insect Populations on Carrion. *The American Midland Naturalist*, 1975, 93(1): 79-90.
9. SMITH KGV. *A Manual of Forensic Entomology*. Trustees of the British Museum (natural history). London, 1986, 205 pp.
10. LECLERCQ M. & VERSTRAETEN CH. Entomologie et médecine légale. L'entomofaune des cadavres humains: sa succession par son interprétation, ses résultats ses perspectives. *Journal de Médecine Légale Droit Médical*, 1993, t. 36. N° 3-4. 205-222.
11. LECLERCQ M. À propos de l'Entomofaune d'un cadavre de sanglier. *Bull. Annls Soc. r. Belge Ent*, 1996, Vol.132: 417-442.
12. CAMPOBASSO CP, DIVELLA G & INTRONA F. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*, 2001, 120:18-27.
13. GOFF ML. Entomología Forense: Fundamentos y Aplicación. En: VILLANUEVA CAÑADAS (ed.) Gisbert Calabuig. *Medicina Legal y Toxicología* (6ª Ed.), 2004, 253-261.
14. ARNALDOS MI, GARCÍA MD, ROMERA E, PRESA JJ & LUNA A. Estimation of post-mortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International*, 2005, 149:57-65.
15. EARLY M & GOFF ML. Arthropod succession patterns in exposed carrion on the Island of O'hau, Hawaiian Islands, USA. *Journal of Medical Entomology*, 1986, Vol. 23, n°5: 520-531.
16. HEWADIKARAM KA & GOFF ML. Effect of carcass Size on Rate of Decomposition and Arthropod Succession Patterns. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 1991, 12(3): 235-240.

17. GOFF ML. Estimation of *Postmortem* Interval Using Arthropods development and Successional Patterns. *Forensic Sci. Rev.*, 1993, 5-81.
18. TANTAWI TI, EL-KADI EM., Greenberg B. & El-Ghaffar H.A. Arthropod Succession on Exposed Rabbit Carrion in Alexandria, Egypt. *Journal of Medical Entomology*, 1996, 33(4):566-580 pp.
19. GISBERT CALABUIG JA, VILLANUEVA CAÑADAS E & GISBERT GRIFO MS. Fenómenos cadavéricos, en: Villanueva Cañadas (ed.) Gisbert Calabuig. *Medicina Legal y Toxicología* (6ª Ed.), 2004, 191-213.
20. HASKELL NH. LORD WD. BYRD JH. Collection of entomological evidence during death investigations. En: BYRD JH & CASTER JL. *Forensic Entomology. The Utility of arthropods in legal investigations*, 2001.
21. ANDERSON GS. Insect succession on carrion and its relationship to determining the time of the death. En: BYRD JH & CASTNER JL, (eds.). *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, CRC Press, 2001, 143-175.
22. MACGREGOR DM. Decomposition of pig carrion in southeast Queensland, Australia, during summer. 51ª American Academy of Forensic Sciences Annual Meeting, 1999a.
23. MACGREGOR DM. Decomposition of pig carrion in southeast Queensland, Australia, during winter. 51ª American Academy of Forensic Sciences Annual Meeting, 1999b.
24. VANLAERHOVEN SL & ANDERSON G. Insect succession on buried carrion in two biogeoclimatic zones of British Columbia. *Journal of Forensic Sciences*, 1999, 44: 31-45.
25. DAVIS JB & GOFF ML. Decomposition Patterns in terrestrial and Intertidal Habitats on Oahu Island and Coconut Island, Hawaii. *Journal of Forensic Sciences*, 2000, 45(4): 836-842.
26. LOPES DE CARVALHO LM & LINHARES AX. Seasonality of Insect Succession and Pig Carcass decomposition in a Natural Forest Area in Southeastern Brazil, 2001, *Journal of Forensic Sciences*, 46(3): 604-608.
27. WOLFF M, URIBE A, ORTIZ A & DUQUE P. A preliminary study of forensic entomology in Medellín, Colombia. *Forensic Science International*, 2001, 120:53-59.
28. CENTENO N, MALDONADO M & OLIVA A. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Science International*, 2002, 126: 63-70.
29. ARCHER MS & ELGAR MA. Yearly activity patterns in southern Victoria (Australia) on seasonally active carrion insects. *Forensic Science International*, 2003, 132: 173-176.
30. BARTHI M & SINGH D. Insect Faunal Succession on Decaying Rabbit Carcasses in Punjab, India. *Journal of Forensic Sciences*, 2003, 48, 5: 1-11.
31. BATTÁN HORESTEIN M, ARNALDOS MI, ROSSO B & GARCÍA MD. Estudio preliminar de la comunidad sarcosaprófaga en Córdoba (Argentina): aplicación a la entomología forense. *Anales de Biología*, 2005, 27: 191-201.

32. CAMACHO G. 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*, 2005, 31 (2): 189-197.
33. TABOR KL, FELL RD & BREWSTER CC. Insect fauna visiting carrion in Southwest Virginia. *Forensic Science International*, 2005, 150: 73-80.
34. ARNALDOS SANABRIA MI. Estudio de la fauna sarcosaprófaga de la Región de Murcia. Su aplicación a la Medicina legal. Tesis Doctoral, departamento de Biología animal, facultad de Biología, Universidad de Murcia, 2000, 227 pp.
35. KEH B. Scope and application of Forensic Entomology. *Ann. Rev. Entomol*, 1985, 30: 137-154.
36. DENNO RF. & COTHRAM WR. Niche relationships of a Guild of Necrophagous flies. *Annals of the Entomological Society of America*, 1975, Vol. 68, nº4: 741-754.
37. MICOZZI MS. Experimental study of *postmortem* change under field conditions, effects of freezing, thawing, and mechanical injury. *Journal of Forensic Science*, 1986, Vol.31, nº3: 953-961.
38. CASTILLO MIRALBÉS M. Estudio de la Entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón (España). *Monografías SEA*, 2002, 6.
39. BARROS DE PRADO E CASTRO C. Studies on sarcosaprophagous Diptera (insecta) in Central Portugal: Application to Forensic Entomology. Tesis de Maestría, Departamento de Zoología, Faculdade de Ciências y Tecnologia, Universidade de Coimbra, 2005, 97 pp.
40. GONZÁLEZ PEÑA CF. Los insectos y la muerte. En: *Los Artrópodos y el Hombre*, 1997, Bol. S.E.A.: 285-290.
41. MAGAÑA C. La Entomología Forense y su aplicación a la medicina legal. *Data de la Muerte. Boletín SEA*, 2001, 28: 49-57.
42. REVERTE COMA JM. Entomología Forense. En: REVERTE COMA JM. *Antropología Forense* (2ª ed.). Secretaría General Técnica, Centro de Publicaciones, Ministerio de Justicia, 1999, 397-454.
43. GRAELLS M. Entomología Judicial. *Rev. Prog. Cienc. Exact Fis. Nat. Madrid*, 1886, 458-471.
44. MÉGNIN, JP. La Faune des cadavres: application de l'entomologie à la médecine legale. *Enciclopedia Scientifique des Aide-Memoires*, Masson et Gautiers – Villars, Paris, 1894, 214 pp.
45. RÍOS T. Los insectos y la putrefacción de los cadáveres (I-II). *La Clínica moderna. Revista de Medicina y Cirugía*, 1902a, 1(4): 74-80.
46. RÍOS T. Los insectos y la putrefacción de los cadáveres (III-IV). *La Clínica moderna. Revista de Medicina y Cirugía*, 1902b, 1(4): 171-180.
47. LECHA-MARZO A. *Tratado de autopsias y embalsamamientos*. Ed. Plus Ultra. Madrid, 1924.
48. PIGA PASCUAL A. *Medicina Legal de Urgencia*. Ed Mercurio. Madrid, 1928.
49. VILLALAÍN BLANCO JD. Valoración médico-legal de los coleópteros necrófagos de España. *Arch. Fac. Med. Madrid*, 1976, Vol. XXIX, nº 2: 89-99.

50. BÁGUENA L. Entomología Médica. Algunas notas sobre entomología médico-legal. Graellsia, 1952, Tomo X: 67-101.
51. DOMÍNGUEZ MARTÍNEZ J & GÓMEZ FERNÁNDEZ L. Observaciones en torno a la entomología tanatológica. Aportación experimental a los estudios de la fauna cadavérica. Revista Ibérica de Parasitología, 1957, Tomo XVII, nº 1: 4-30.
52. DOMÍNGUEZ MARTÍNEZ J & GÓMEZ FERNÁNDEZ L. Momificación cadavérica particularmente rápida, operada bajo la acción de numerosas larvas de *Chrysomya albiceps*, Wiedemam, 1819. Revista Ibérica de Parasitología, 1963, Tomo XXIII, nº 1-2: 43-62.
53. PÉREZ DE PETINTO y BERTOMEU M. La miasis cadavérica de la esqueletización. Volumen extraordinario del primer centenario de la Real Sociedad Española de Historia Natural, 1975. Tomo II: 463-482.
54. ROMERO PALANCO JL. & MUNGUÍA GIRÓN FJ. Contribución al conocimiento de la entomología tanatológica en la provincia de Cádiz (sur de España). Actas de las VII Jornadas Mediterráneas de Medicina Legal, 1986, 131- 144.
55. GONZÁLEZ MORA D, PERIS SV & SÁNCHEZ PÉREZ JD. Un caso de entomología forense. Revista Española de Medicina Legal, 1990, año XVII, nº 62-63; 64-65: 19-21.
56. MARTÍNEZ MD, ARNALDOS MI & GARCÍA MD. Datos sobre la fauna de hormigas asociadas a cadáveres (Hymenoptera: Formicidae). Boletín de la Asociación española de Entomología, 1997, 21 (3-4): 281-283.
57. SÁNCHEZ PIÑERO F. Analysis of spatial and seasonal variability of carrion beetle (Coleoptera) assemblages in two arid zones of Spain. Environmental Entomology, 1997, vol.26, nº4: 805-814.
58. VIEJO MONTESINOS JL & ROMERO LÓPEZ PS. Entomología Forense. Quercus, 1992; 33-35.
59. COPERIAS E M. Los insectos ayudan a la policía. La mosca delató al asesino. Muy interesante, 1996, 184: 67-69.
60. GALANTE E & MARCOS GARCÍA MA. Detritívoros, Coprófagos y Necrófagos. Boletín de la SEA, 1997, 20:57-64.
61. GARCÍA GARCÍA MD, ARNALDOS SANABRIA MI. ROMERA LOZANO E & LUNA MALDONADO. La Entomología Forense en España. En: VILLANUEVA CAÑADAS (ed.) Gisbert Calabuig. Medicina Legal y Toxicología (6ª Ed.), 2004, 262-273.
62. ARNALDOS I, ROMERA E, GARCÍA MD & LUNA A. An initial study on the succession of sarcosaprophagous Diptera (Insecta) on carrion in the southeastern Iberian peninsula. International Journal of Legal Medicine, 2001, 114:156-162.
63. SCHOENLY K. Demografic Bait Trap. Environmental Entomology, 1981, 10: 615-617.
64. SCHOENLY K, GRIEST K & RHINE S. An experimental field protocol for investigating the *postmortem* interval using multidisciplinary indicators. Journal of Forensic Sciences, 1991, Vol. 36, nº 5, pp. 1395-1415.
65. PRADO E CASTRO C, PALMA C, ARNALDOS MI. & GARCÍA MD. 2006. Primeros datos sobre los Formicidae sarcosaprófagos en Portugal. Actas del XII Congreso Ibérico de Entomología, 2006.

ENTOMOLOGÍA CADAVERICA EN LA PROVINCIA DE CÁDIZ (S. DE ESPAÑA)

JOSÉ LUIS ROMERO PALANCO¹; FRANCISCO MUNGUÍA GIRÓN¹;
JOAQUÍN GAMERO LUCAS¹

RESUMEN

Resumen: Se exponen los resultados de las observaciones realizadas sobre la Entomología tanatológica, en cadáveres de perros, las cuales se han llevado a cabo en diferentes ecosistemas y fases del año en la provincia de Cádiz (Sur de España).

Si bien ha podido comprobarse la coincidencia de familias y géneros de insectos de los que suelen acudir a los cadáveres en muy diferentes y distantes puntos geográficos, se estima totalmente necesaria la realización de investigaciones sistemáticas que permitan establecer las peculiaridades de la fauna cadavérica en cada región geográfica.

Se han identificado un total de 43 especies, pertenecientes a 33 géneros, los cuales se engloban en 20 familias, en 5 órdenes y en 2 grupos, siendo las especies más frecuentemente encontradas las siguientes: *Calliphora vicina*, *Lucilia caesar*, *Musca domestica*, *Morellia hortorum* y *Ophyra leucostoma*, entre los dípteros. Entre los coleópteros: *Creophilus maxillosus*, *Ontholestes murinus*, *Thanatophilus sinuatus* y *rugosus*, *Saprinus niger* y *semistriatus* y *Dermestes frischii*.

Palabras claves: Entomología forense; Putrefacción.

Abstract: The results of observations of the entomology of dog carcasses carried out in different ecosystems and seasons of the year in the province of Cádiz are expounded.

Although insect families and genera that are attracted to corpses in quite different and distant geographic locations have been shown to be coinci-

¹ Departamento de Medicina Legal. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.

dental, the realization of systematic research to establish the characteristics of the fauna found on carrion in each geographical region is considered to be quite necessary.

A total of 43 species, belonging to 33 genera included in 20 families, 5 orders and 2 groups have been identified. The following species are the most frequently found: *Calliphora vicina*, *Lucilia caesar*, *Musca domestica*, *Morellia hortorum* and *Ophyra leucostoma*, among the dipterons. Among the coleoptera: *Creophilus maxillosus*, *Ontholestes murinus*, *Thanatophilus sinuatus* and *rugosus*, *Saprinus niger* and *semistriatus* and *Dermestes frischii*.

Key words: Forensic entomology; Putrefaction.

INTRODUCCIÓN

Tras la intervención de Megnin (1) en numerosos casos de la práctica judicial, valorando la intervención de los insectos en el proceso de destrucción de la materia orgánica, dicho autor recopiló sus experiencias, publicando en 1894 su conocida obra *La faune des cadavres*, con la que sentó las bases científicas de la entomología cadavérica.

Aquellos trabajos fueron seguidos de otros muchos, si bien algunas de las conclusiones comenzaron a ser criticadas; entre otras, el esquema de Megnin acerca de las diferentes fases de la fermentación de la materia orgánica, el cual no es admitido por Roux, Biondi, ni Kratter –citados por Lecha Marzo (2)–, ni tampoco por Thoinot (3), para el cual, los cadáveres en la práctica médico-forense se pueden encontrar en muy diferentes condiciones, no coincidentes necesariamente con las señaladas por Megnin. Asimismo, se señaló por muy diversos autores, la conveniencia de repetir aquellas observaciones en las diferentes localidades, habiéndose denunciado la ausencia de extensas investigaciones sistemáticas que permitieran establecer particularidades para las diferentes regiones geográficas (Dalla Volta, 1938) (4).

Las lagunas en los conocimientos entomológicos, las contradicciones que fueron poniéndose de manifiesto, así como los errores al aplicar aquellos conocimientos a la práctica médico-forense, hicieron que apareciesen nuevos trabajos de investigación, los cuales han venido a resolver la casi totalidad de las deficiencias y críticas formuladas. Reiteradamente se han alzado voces clamando por nuevo estudios en esta disciplina, siendo harto elocuentes las palabras de Leclercq (5).

Pocos años después, las aportaciones realizadas en este sentido permitían afirmar rotundamente a Domínguez y Gómez (6), que «hoy no se admite aquella rigurosa seriación de las especies –entendiéndose como tal la disciplina verdaderamente marcial de las nombradas ingeniosamente cuadrillas de trabajadores u obreros de la muerte–, ni se acepta por siste-

ma la significación de la ausencia o presencia de dípteros o sus restos sobre un cadáver para determinar si el sujeto en cuestión murió durante el invierno o, por el contrario, durante la estación estival».

Puede afirmarse que en los últimos años ha comenzado un verdadero resurgir de la entomología cadavérica, con la aparición de un amplísimo grupo de trabajos sumamente interesantes para conseguir un mayor conocimiento de la misma, no limitándose sus aplicaciones al establecimiento del intervalo *postmortem*.

Por lo que hace referencia a nuestro país, son de destacar las aportaciones realizadas por Báguena (7) (8), Pérez de Petinto (9), Villalaín (10) y nosotros mismos (11), así como los llevados a cabo por Castillo (12) y García et al (13), en un intento de perfilar las características de la entomofauna en diversas regiones geográficas.

En el presente trabajo se ofrecen datos relativos a la entomología cadavérica observada en la provincia de Cádiz (S.O. de España), así como una valoración de diferentes variables que parecen influir sobre las características y desarrollo de la misma (localización geográfica, ecosistema, temperatura ambiente, etc.).

MATERIAL Y MÉTODOS

A efectos de alcanzar los objetivos enunciados y, dadas las dificultades inherentes a la realización de una investigación de esta naturaleza sobre cadáveres humanos, se realizaron las observaciones, de forma experimental, sobre animales de adecuado peso y desarrollo, a fin de obviar los errores que pueden derivarse cuando las observaciones se llevan a cabo sobre animales de muy escaso peso.

Se han utilizado cadáveres de perros, cuyos pesos oscilaron entre 20 y 40 Kg de peso, con una media aproximada de 30 Kg. Se estudiaron tres lotes de animales, uno por cada una de las épocas estacionales en las que se efectuaron las observaciones (invierno, primavera y verano). Asimismo, cada lote de animales se distribuyó entre los diferentes ecosistemas que hemos establecido para la provincia de Cádiz, en la cual hemos diferenciado los siguientes:

- a) Zona de marismas, eligiendo como zona tipo las salinas existentes en las proximidades de Chiclana de la Frontera.
- b) Zona de campiña, con pastos y cultivos de secano preferentemente, tomando como zona tipo las inmediaciones de la Laguna de Jeli.
- c) Zona de serranía, provista de abundante matorral y monte bajo, eligiendo como zona tipo «El Picacho», en las proximidades de Alcalá de los Gazules.

El motivo de realizar nuestras observaciones en zonas tan diversas, atiende al hecho mismo de poder comprobar las posibles variaciones que

podrían existir en la entomofauna de cada uno de los ecosistemas establecidos, pese a que la distancia geográfica entre aquellos puntos no sea especialmente acentuada.

Las temperaturas ambientales, como es lógico, variaron con la estación del año, oscilando en invierno entre 10 y 20 °C, correspondiendo las temperaturas más bajas a la zona de serranía. En primavera, la media de las temperaturas osciló entre 22 y 26 °C, en tanto que en verano lo hicieron entre 27 y 35 °C. En todos los períodos, las temperaturas más bajas correspondieron a la zona de serranía.

A modo de orientación y de confirmación de nuestros datos nos sirvieron de guía los valores publicados por los Centros Meteorológicos Territoriales en Andalucía Occidental y Ceuta. Para la zona de serranía nos sirvió de guía el Centro de las Sierras Penibéticas Occidentales de Jimena de la Frontera; para la zona de campiña, el Centro del Bajo Guadalquivir, radicado en Jerez de la Frontera, y para la zona de marisma, el Centro del Litoral Gaditano en Cádiz. Las temperaturas medias de cada zona fueron las siguientes:

TEMPERATURAS MEDIAS		
Serranía	Invierno	12.80 °C
	Primavera	16.90 °C
	Verano	25.90 °C
Campiña	Invierno	14.10 °C
	Primavera	17.90 °C
	Verano	26.90 °C
Marisma	Invierno	15.10 °C
	Primavera	17.80 °C
	Verano	25.60 °C

Los cadáveres de los perros sobre los que se centraron nuestras observaciones, quedaron siempre expuestos al aire libre, procurando dejarlos más o menos protegidos entre la maleza y en tal orientación, de modo que tuvieran la incidencia del sol durante determinadas horas del día, a fin de no provocar un enlentecimiento de la evolución de la putrefacción cadavérica.

La frecuencia con la que se llevaron a cabo las observaciones y toma de muestras fue variable de unos casos a otros, determinada por la propia evolución del proceso putrefactivo. En los casos en que la putrefacción era más rápida, nuestras observaciones fueron más frecuentes, como también la toma de muestras. En términos generales, durante el período invernal la recogida de muestras se realizó cada seis o siete días, en primavera cada cinco o seis días y, finalmente, en verano, cada dos o tres días. En todos los casos, se intentó hacer coincidir nuestras observaciones y recogida de

muestras con las diferentes fases de la descomposición del cadáver, que hemos establecido en las siguientes: Cadáver fresco, período enfisematoso, período colicuativo, período seco y período de reducción esquelética.

En cada una de las observaciones se procedió a la recogida de muestras de las diferentes familias de insectos que se encontraran sobre el cadáver. Las larvas de los dípteros, al tiempo de la recogida, se introducían en alcohol absoluto hirviendo, a fin de conseguir su completa hiperextensión, para facilitar su estudio en el laboratorio. Los dípteros adultos eran recogidos en frascos conteniendo acetato de etilo, que es el que se muestra más eficaz como conservador de las estructuras del insecto.

Al propio tiempo se recogían las diferentes especies de coleópteros, himenópteros, ácaros y otros que estuviesen sobre el cadáver, a los cuales se les introducían en frascos conteniendo acetato de etilo y corcho rallado, facilitando así su conservación durante el transporte hasta el laboratorio. Se recogieron también insectos vivos, larvas de coleópteros, así como pupas de dípteros, para después comprobar su eclosión y determinar con mayor exactitud la especie a la que pertenecía.

En cada una de las observaciones, y coincidiendo con la recogida de muestras, se hacían anotaciones relativas a la evolución de la putrefacción cadavérica, condiciones climatológicas, oscilaciones de temperatura, variaciones en el grado de humedad, incidencia de otros factores meteorológicos (lluvia), etc.

Una vez en el laboratorio, y con estricto control de la zona de procedencia, fecha de la toma, etc., se procedía a la identificación y ordenación de los insectos, atendiendo para ello a la familia a que pertenecieran. Asimismo, se procedía a la identificación y clasificación de las larvas de los insectos, ayudándonos para ello de una lupa estereoscópica, y tomando en consideración las claves entomológicas propuestas por Reiter y Wolleneck (14).

Los coleópteros y demás insectos adultos se prepararon según las técnicas habituales en entomología, haciendo el montaje de los más pequeños en microtarjetas, en tanto que los de mayor tamaño eran fijados con la ayuda de alfileres entomológicos, colocados en la parte superior del élitro derecho, en la proximidad de la línea media. Ulteriormente se procedió a la identificación de las diversas especies, ayudándonos para ello de las claves entomológicas que tomamos de De La Fuente (15), Báguena (7), Pardo Alcaide y Yús (16).

RESULTADOS OBTENIDOS

Los resultados de las observaciones realizadas, atendiendo a la fase en que se encontrara la putrefacción cadavérica, se exponen en las Tablas 1 a la 9, ambas inclusive, así como en la Gráfica 1. En total se han identificado 43 especies, pertenecientes a 33 géneros, los cuales se engloban en 20 familias, en 5 órdenes y en 2 grupos.

Tabla 1 - ECOSISTEMA: Zona de serranía
Período de observaciones: Invierno / Temperatura media: 12.8 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2 3 4 5	Cadáver fresco	<i>Calliphora</i>			
6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18	Enfisematoso	<i>Calliphora</i> <i>Muscidae:</i> <i>Scatophaga</i> <i>Morellia</i> <i>Musca</i> <i>Pyophila</i> <i>casei</i>	<i>Mastigus</i> <i>palpalis</i> <i>Catops</i>		Larvas pequeñas de moscas.
19 20 21 22 23 24 25 26 27	Colicuativo	<i>Calliphora</i> <i>Morellia</i>	<i>Creophilus</i> <i>Hister cadaver.</i> <i>Thanatophilus</i> <i>Onthophagus</i> <i>Ontholestes</i> <i>Catops</i> <i>Cleridae</i> <i>Nitidula</i>		Larvas desarrolladas Ácaros
28 29 30 31 32 33 34 35 36 37	Seco		<i>Thanatophilus</i> <i>Catops</i>		Escaso número de larvas de moscas. Larvas de <i>Silphidae</i> .
38 39 40 41	Restos	<i>Calliphora</i>	<i>Thanatophilus</i> <i>Ontholestes</i> <i>Mastigus palpalis</i> <i>Aleochara</i> <i>Omosita colon</i>		No larvas. Ácaros

Tabla 2 - ECOSISTEMA: Zona de serranía
Período de observaciones: Primavera / Temperatura media: 16.9 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2 3 4	Cadáver fresco	<i>Calliphora.</i> <i>Muscidae:</i> <i>Morellia</i> <i>Ophyra</i>			
5 6 7 8 9	Enfisematoso	<i>Calliphora.</i> <i>Lucilia.</i> <i>Muscidae:</i> <i>Morellia</i> <i>Ophyra</i>	<i>Creophilus.</i> <i>Thanatophilus.</i> <i>Hister cadáver.</i> <i>Saprinus deter.</i> <i>Dermestes.</i> <i>Hidrophilidae.</i>		Larvas pequeñas de moscas y larvas de Silphidos.
10 11 12 13 14 15	Colicuativo	<i>Calliphora.</i> <i>Lucilia.</i> <i>Muscidae:</i> <i>Morellia</i> <i>Ophyra</i>	<i>Creophilus</i> <i>Thanatophilus</i> <i>Saprinus deter.</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Hister cadáver.</i> <i>Ontholestes</i> <i>Dermestes</i>	<i>Ichneumonidae</i>	Larvas de moscas en gran número y larvas de Silphidos.
16 17 18 19 20	Seco		<i>Creophilus.</i> <i>Ontholestes.</i> <i>Hister cadaver.</i> <i>Onthophagus.</i> <i>Catops.</i> <i>Nitidula.</i> <i>Curculionidae.</i> <i>Dermestes.</i>		Larvas de moscas en menor número.
21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34	Restos		<i>Dermestes.</i>		No larvas.

Tabla 3 - ECOSISTEMA: Zona de serranía
Período de observaciones: Verano / Temperatura media: 25.9 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2	Cadáver fresco	<i>Lucilia</i>			<i>Formicidae</i>
3 4	Enfisematoso	<i>Calliphora</i> . <i>Lucilia</i> . <i>Muscidae</i> : <i>Morellia</i> <i>Ophyra</i>	<i>Creophilus</i> . <i>Thanatophilus</i> . <i>Saprinus niger</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Dermestes</i> . <i>Ontholestes</i> <i>Necrophorus H.</i> <i>Cléridos</i>		<i>Formicidae</i> . Larvas de moscas.
5 6 7	Colicuativo	<i>Muscidae</i>	<i>Creophilus</i> <i>Ontholestes</i> <i>Saprinus niger</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Curculionidae</i> <i>Cleridae</i> <i>Dermestes</i>		<i>Formicidae</i> . Arácnidos. Larvas prepulas en gran número.
8 9 10 11	Seco	<i>Calliphora</i> <i>Lucilia</i> <i>Muscidae</i> : <i>Morellia</i>	<i>Ontholestes</i> . <i>Dermestes</i> .		<i>Formicidae</i>
12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34	Restos		<i>Dermestes</i> .		

Tabla 4 - ECOSISTEMA: Zona de campiña
Período de observaciones: Invierno / Temperatura media: 14.1 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2 3 4 5	Cadáver fresco	<i>Lucilia</i> <i>Calliphora</i>			
6 7 8 9 10 11	Enfisematoso	<i>Lucilia</i> . <i>Calliphora</i> . <i>Muscidae</i> : <i>Morellia</i> <i>Musca</i>	<i>Thanatophilus</i> . <i>Saprinus deter.</i> <i>Dermestes</i>		Larvas pequeñas de moscas.
12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24	Colicuativo	<i>Lucilia</i> <i>Muscidae</i> : <i>Morellia</i> <i>Musca</i>	<i>Creophilus</i> <i>Thanatophilus</i> <i>Saprinus deter.</i> <i>Dermestes frisch.</i> <i>Dermestes undul.</i> <i>Corynetes</i> <i>Catops nigricans</i>		Larvas de moscas en gran número.
25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39	Seco	<i>Lucilia recién</i> <i>eclosionada</i> . <i>Muscidae</i> : <i>Morellia</i>	<i>Dermestes</i> <i>Corynetes</i> <i>Thanatophilus</i> <i>Saprinus ch. y c.</i> <i>Troz fabricii</i> <i>Catops nigricans</i> <i>Nitidula fl.</i> <i>Creophilus</i> <i>Cleridae</i> <i>Saprinus niger</i> <i>Hister uncostriat.</i>		Larvas de Sílfidos y de Dermestes.
40 41 42 43 44	Restos		<i>Dermestes</i> . <i>Corynetes</i> . <i>Cleridae</i> <i>Saprinus chalc.</i>		Larvas de Dermestes.

Tabla 5 - ECOSISTEMA: Zona de campiña
Período de observaciones: Primavera / Temperatura media: 17.9 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2 3 4	Cadáver fresco	<i>Lucilia</i> <i>Calliphora</i> <i>Sarcophaga</i>			
5 6 7 8 9	Enfisematoso	<i>Lucilia</i> <i>Calliphora</i> <i>Sarcophaga</i> <i>Muscidae:</i> <i>Morellia</i> <i>Musca</i> <i>Ophyra</i>	<i>Creophilus.</i> <i>Thanatophilus.</i> <i>Saprinus Níger</i> <i>Saprinus deters.</i> <i>Asida elongata</i> <i>Dermestes</i>	<i>Ichneumonidae.</i> <i>Véspidos.</i>	Larvas de moscas en gran número
10 11 12 13 14 15 16	Colicuativo	<i>Lucilia.</i> <i>Muscidae:</i> <i>Ophyra.</i>	<i>Creophilus</i> <i>Philontus</i> <i>Thanatophilus</i> <i>Dermestes</i> <i>Hister sinuatus</i> <i>Saprinus niger</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Saprinus deters.</i> <i>Nitidula flav.</i> <i>Corynetes</i>	<i>Ichneumonidae</i>	Larvas prepulas. Larvas de sílfidos.
17 18 19 20 21	Seco		<i>Creophilus</i> <i>Dermestes</i> <i>Hister cadav.</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Saprinus semipu.</i> <i>Cleridae</i>		Larvas de <i>Creophilus</i> y de <i>Dermestes</i> . Ácaros.
22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35	Restos	<i>Lucilia</i> recién eclosinadas. <i>Muscidae:</i> <i>Ophyra.</i> <i>Musca</i>	<i>Creophilus</i> <i>Dermestes</i> <i>Saprinus niger</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Saprinus deters.</i> <i>Ontholestes</i> <i>Corynetes</i>		Larvas de <i>Creophilus</i> , de Sílfidos y de <i>Dermestes</i> . <i>Aglossa</i> . Ácaros.

Tabla 6 - ECOSISTEMA: Zona de campiña
Período de observaciones: Verano / Temperatura media: 26.9 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2	Cadáver fresco	<i>Lucilia</i> <i>Sarcophaga</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i> <i>Morellia</i>			
3 4 5	Enfisematoso	<i>Lucilia</i> <i>Sarcophaga</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i> <i>Morellia</i> <i>Ophyra</i>	<i>Creophilus</i> <i>Ontholestes</i> <i>Saprinus niger</i> <i>Saprimis semistr.</i> <i>Dermestes</i> <i>Cleridae</i> <i>Akis acuminata</i>		Larvas de moscas en gran número.
6 7 8 9 10 11 12	Colicuativo	<i>Lucilia</i> <i>Sarcophaga</i> <i>Muscidae:</i> <i>Morellia</i> <i>Musca</i> <i>Ophyra</i>	<i>Ontholestes</i> <i>Saprinus niger</i> <i>Dermestes</i> <i>Cleridae</i> <i>Akis acuminata</i>		<i>Formicidae.</i> Larvas prepupas.
13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 28 29	Seco	<i>Lucilia</i> recien eclo- sionadas.	<i>Saprinus niger</i> <i>Saprinus semistr.</i> <i>Dermestes</i> <i>Cleridae</i> <i>Akis acuminata</i>		Larvas de <i>Dermestes.</i>

Tabla 7 - ECOSISTEMA: Zona de marismas
Período de observaciones: Invierno / Temperatura media: 15.1 °C

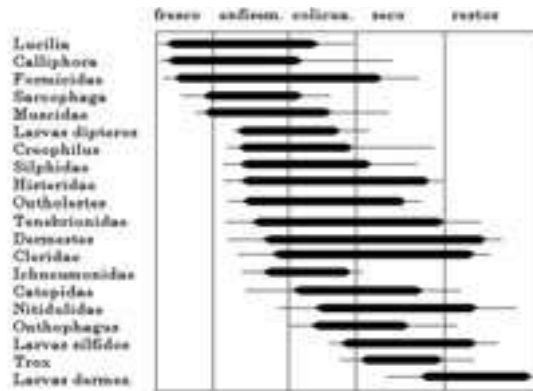
DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2 3 4 5	Cadáver fresco	<i>Lucilia</i>			
6 7 8 9 10 11 12	Enfisematoso	<i>Lucilia</i> <i>Calliphora</i> <i>Muscidae</i> <i>Theobaldia</i> <i>annulata</i>	<i>Dermestes frisch</i>		Larvas pequeñas de moscas.
13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24	Colicuativo	<i>Lucilia</i> recién eclo- sionadas. <i>Calliphora</i>	<i>Thanatophilus</i> <i>Dermestes</i> <i>Saprinus niger</i>	<i>Ichneumonidae.</i>	Larvas de moscas en gran número. Larvas de <i>Thanatophilus.</i>
25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37	Seco		<i>Dermestes</i> <i>Omosita colon</i>		Larvas de <i>Dermestes.</i>
38 39 40 41	Restos				Larvas de <i>Dermestes</i> en gran número.

Tabla 8 - ECOSISTEMA: Zona de marismas
Período de observaciones: Primavera / Temperatura media: 17.8 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2 3 4	Cadáver fresco	<i>Lucilia.</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i> <i>Morellia</i>			
5 6 7 8 9	Enfisematoso	<i>Lucilia</i> <i>Sarcophaga</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i> <i>Ophyra</i>	<i>Creophilus</i> <i>Dermestes</i> <i>Saprinus niger</i>	<i>Ichneumonidae.</i>	Larvas pequeñas de moscas.
10 11 12 13 14 15	Colicuativo		<i>Creophilus</i> <i>Dermestes</i> <i>Saprinus niger</i>		Larvas prepupas.
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27	Seco		<i>Dermestes</i> <i>frisch.</i>		Larvas de <i>Dermestes</i> y de <i>Creophilus.</i>
28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41	Restos				Larvas de <i>Dermestes</i>

Tabla 9 - ECOSISTEMA: Zona de marismas
Período de observaciones: Verano / Temperatura media: 25.6 °C

DÍAS	FASE PUTREFACCIÓN	DÍPTEROS	COLEÓPTEROS	HIMENÓPTEROS	OTROS
0 1 2	Cadáver fresco	<i>Lucilia</i>			
3 4	Enfisematoso	<i>Lucilia</i> <i>Sarcophaga</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i> <i>Ophyra</i>	<i>Dermestes.</i> <i>Cleridae.</i>		Larvas pequeñas de moscas.
5 6 7 8 9 10 11 12	Colicuativo	<i>Lucilia</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i>	<i>Dermestes</i> <i>Cleridae</i> <i>Saprinus niger</i>		Larvas prepulas.
13 14 15 16 17 18 19	Seco	<i>Lucilia recién</i> <i>eclosionadas.</i> <i>Muscidae:</i> <i>Musca</i>	<i>Dermestes</i> <i>Cleridae</i>		Larvas de <i>Dermestes.</i>
20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35	Restos		<i>Dermestes</i>		Larvas de <i>Dermestes.</i>



Gráfica 1. Resultados globales de las observaciones.

DISCUSIÓN

1. DE LA FAUNA CADAVÉRICA Y DE LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS

Dadas las variaciones apreciadas entre la fauna cadavérica descrita por otros autores y la que nosotros hemos llegado a identificar, influenciadas sin lugar a dudas por el medio geográfico y por las condiciones climáticas, se hace evidente la necesidad de realizar estudios experimentales de la fauna tanatológica a nivel local, a fin de evitar errores groseros en la aplicación práctica de estos conocimientos.

Pese a lo dicho, hemos de puntualizar que aquellas variaciones no son sumamente extraordinarias, habida cuenta que en zonas geográficas distantes y bien diferenciadas, se suelen identificar las mismas familias y géneros de insectos. Sin embargo, no puede decirse lo mismo en lo que se refiere a las diferentes especies que acuden al cadáver e incluso a determinados géneros, en los que aquellas variaciones pueden resultar significativas.

De otra parte, hemos de señalar que, al igual que han apreciado otros investigadores, en el curso de nuestras observaciones se ha podido comprobar un cierto orden en la intervención de las distintas especies de insectos que acudieron al cadáver, si bien no coincidentes con las descritas por aquéllos. No se nos oculta que las condiciones climatológicas pueden resultar suficientes como para modificar la evolución espontánea de la putrefacción cadavérica en uno u otro medio, así como para influir en la mayor o menor riqueza entomológica de la zona e incluso sobre la duración del ciclo biológico de las diferentes especies. La mera extrapolación de los resultados concretos de una zona a otro bioclima diferente podría conducir a errores groseros, por lo que se reitera la necesidad de realizar estudios experimentales de la entomofauna a nivel local.

2. CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS DÍPTEROS

Por lo que se refiere al orden de llegada de las diversas especies de dípteros al cadáver, se han encontrado diferencias significativas en los ecosistemas sobre los que hemos realizado nuestras observaciones, y también en función de la época del año.

En la zona de serranía, y durante los meses de invierno y de primavera, los insectos que primeramente acudieron al cadáver eran *Calliphora*, siendo además los únicos que se presentan durante la etapa invernal. En la primavera acuden ya algunas oleadas de *Lucilia*, cuando la putrefacción se ha iniciado, y es en verano cuando las *Lucilia* acuden en primer término al cadáver. Quizás pudiera explicarse esta conducta por el aletargamiento que sufren las *LUCILIA* con temperaturas menores a 15°, así como por el hecho de que las *Calliphora* se encuentran más activas durante todo el año.

Esta circunstancia no se da en los otros ecosistemas, en los que invariablemente son las *Lucilia* las primeras en acudir al cadáver, pudiendo ello justificarse por la mayor temperatura existente en la zona de campiña y de marismas, frente a la de serranía. En la zona de campiña las *Lucilia* comparten su llegada con *Calliphora*, *Sarcophaga* y *Muscidae*, en tanto que en la zona de marismas llegan en solitario.

Es apreciable el hecho de que a temperaturas inferiores a 15° C, las *Lucilia* no se desarrollan, que es lo que sucedía en el ecosistema de serranía durante los meses de invierno. Sin embargo, en campiña y marismas al ser el invierno más suave, sí que pueden hacerlo de manera habitual. Las *Calliphora*, al contrario, por su mayor resistencia al frío, se desarrollan con normalidad a temperaturas de 10 a 15°, como ocurría en serranía. No obstante, estas *Calliphora*, al ir aumentando la temperatura van desapareciendo y así, por encima de 25° su desarrollo es casi nulo. Esto es apreciable en campiña en los meses de verano y en marismas en los de verano e incluso en los de primavera.

En el resto de los ecosistemas estudiados y en las diferentes épocas del año se asiste a un mayor desarrollo de las *Lucilia*, pudiendo observarse una cierta competitividad entre estas dos especies, que hace que en la zona de marismas aquéllas apenas lleguen a desarrollarse. La mayor expresión de esta competitividad se puede observar en la zona de serranía –zona de *Calliphora* por excelencia-, en que ésta apenas se desarrolla durante la época estival, coincidiendo con la llegada de las *Lucilia*.

En este sentido coincidimos con Greenberg y Kunich (17), que asumen que la relación entre la velocidad de desarrollo y la temperatura es lineal en el rango medio de una curva sigmoideal, con un umbral superior y otro inferior, por debajo del cual el desarrollo cesa.

En cuanto a las *Sarcophaga*, hemos observado menos abundancia que otros autores (18) (19) (20) (21) (22) y así la primera vez que la recogimos fue en los meses de primavera y en el ecosistema de campiña. En pleno

período enfisematoso eran muy abundantes compitiendo con las *Lucilia* y *Calliphora*, desapareciendo una vez iniciado el período colicuativo. También aparecieron durante los meses de verano, pero sólo en el ecosistema de campiña.

Los múscidos crecen bien en todos los ecosistemas y durante las diferentes épocas del año, sin interferir ni ser interferido por los dípteros restantes. Es comprobable como a temperaturas bajas de 10 a 15° C, los múscidos, tipo *Morellia*, *Musca*, *Scatophaga*, se desarrollan con normalidad, haciéndolo también a temperaturas superiores. Las *Morellia* y *Musca* son capaces de aparecer en todos los ecosistemas y en todo rango de temperaturas, desde los 10 a 15° C de la zona de serranía, hasta los 30° C en la zona de campiña o marismas. Sin embargo, *Ophyra* no aparece por debajo de los 15° C, haciéndolo frecuentemente por encima de estos en todos los ecosistemas.

Puede afirmarse, y así lo hemos comprobado en nuestras observaciones, que existe una cierta relación de proporcionalidad entre la temperatura ambiental propia de cada estación y el desarrollo de cada una de las especies de dípteros.

	PER. LARVARIO	PER. PUPARIO	DESARROLLO TOTAL
Invierno	15-20 días	8-10 días	28 días (23-30)
Primavera	12-15 días	6-8 días	21 días (18-23)
Verano	6-8 días	5-6 días	13 días (11-14)

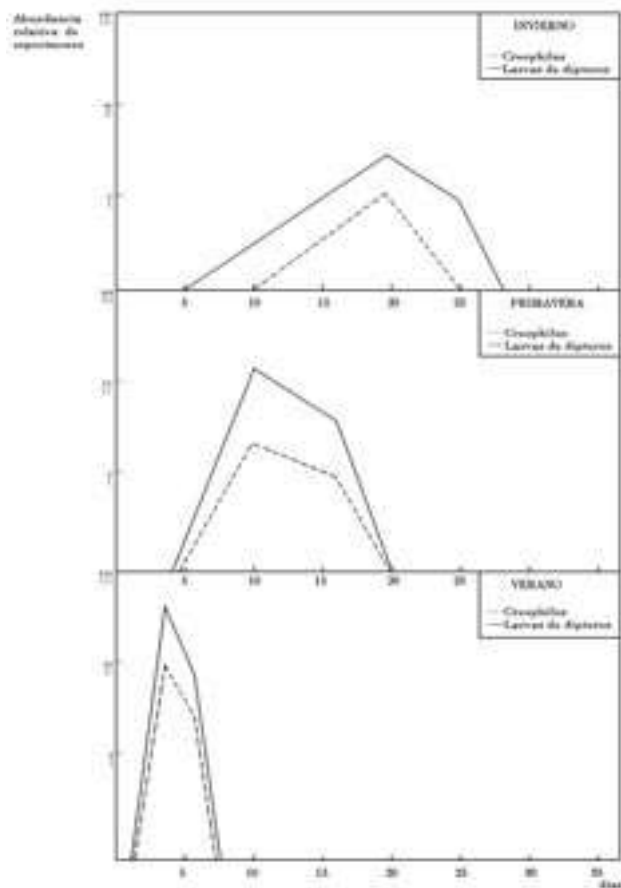
3. CONSIDERACIONES EN TORNO A LOS COLEÓPTEROS

Por lo que hace referencia a los coleópteros, en general, puede afirmarse que van a resultar de extraordinaria utilidad para el establecimiento de la data de la muerte. No nos referimos, claro está, a todas las especies de coleópteros, habida cuenta de que algunas de entre ellas hacen su aparición en fases tan dispares de la putrefacción que resulta difícil una interpretación ajustada de los mismos, en tanto que otras aparecen sólo de forma esporádica e incluso, en algunas especies, con carácter excepcional.

- a) El *Creophilus maxillosus*, estafilínido grande, suele llegar al cadáver cuando el período enfisematoso de la putrefacción es manifiesto, coincidiendo con el momento en que las larvas de los dípteros comienzan su desarrollo; alcanza el máximo de abundancia cuando las larvas anteriores se encuentran totalmente desarrolladas, disponiendo entonces de suficiente comida como para persistir con notable comodidad puesto que son depredadores de dichas larvas. Una vez que las larvas alcanzan el estado de prepupas, y comienzan a ocultarse, la población de este estafilínido decrece ostensiblemente y de manera paulatina hasta su total desaparición, que acontece una vez finalizado el período colicuativo.

Si tomamos en consideración el tiempo que tardan los insectos adultos en llegar al cadáver, así como el tiempo que precisa una larva de este estafilínido para conseguir su total desarrollo, podemos calcular que si en un cadáver encontramos una larva desarrollada de *Creophilus maxillosus*,

- en invierno, habrán transcurrido aproximadamente 23 días desde la muerte,
- en primavera, 15 días desde la muerte,
- en verano, 8 días desde el momento de la muerte.



Gráfica 2: *Creophilus maxillosus* y larvas de dípteros.

- b) Los otros estafilínidos, observan, asimismo, una conducta similar en los tres ecosistemas. El *Ontholestes murinus* suele aparecer más tarde que el *Creophilus*, pero se mantiene más tiempo. Aparece pasado ya el período enfisematoso y persiste, por lo general, hasta el período de reducción esquelética.

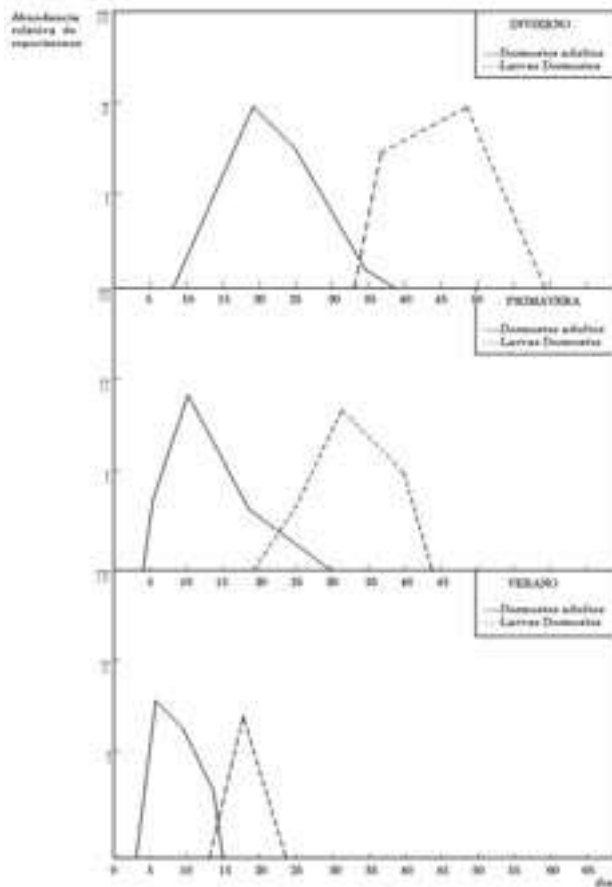
Este comportamiento quizás sea provocado por el hecho de que el *Ontholestes* no sólo se va a alimentar de las larvas de dípteros sino que además tiene una actividad depredadora sobre adultos alados de *Muscidae* —recién eclosionados o no—, a los que atrapan merced a la velocidad que pueden desarrollar en su carrera y a la extraordinaria habilidad en el vuelo. Muy posiblemente aquéllos son la fuente de su manutención, una vez desaparecida la población larvaria.

- c) Los *Thanatophilus*, género de la familia de los *Silphidae*, mantienen características similares en sus hábitos en los tres ecosistemas estudiados, si bien presentan la peculiaridad de que su población persiste durante menos tiempo en el cadáver, a medida que penetramos en períodos estacionales más calurosos. No suelen aparecer por encima de los 30º, y así ya no aparecen en verano en el ecosistema de campiña y marismas, e incluso no aparecen en primavera en el de marismas.
- d) De mayor utilidad a los efectos de la data de la muerte resultan los *derméstidos*, que dan un mayor grado de fiabilidad. No suelen aparecer por debajo de los 15 º y así no se presentan en invierno en el ecosistema de serranía, haciéndolo con bastante abundancia y frecuencia en el resto de los ecosistemas.

Por lo general, suelen hacer su aparición algún tiempo después de iniciado el período enfisematoso de la putrefacción (aproximadamente al noveno día en invierno, cuarto día en primavera y tercer día en verano), alcanzando las mayores cifras poblacionales en el período colicuativo e inicio del de reducción esquelética (vigésimo día en invierno, décimo día en primavera y sexto día en verano). Cuando el período de reducción esquelética se va completando, el número de adultos va decreciendo hasta llegar a desaparecer, siendo sustituido —antes de que ello ocurra—, por sus larvas, las cuales se nutrirán de los tejidos resecos, desmenuzándolos hasta transformarlos en un fino polvo. Dicha sustitución de especímenes adultos por sus larvas suele ser bastante brusca; sólo durante breve tiempo llegan a actuar simultáneamente las dos poblaciones citadas. Señalemos, por último, que la población larvaria desaparece cuando ya no quedan partes blandas adheridas a los restos óseos.

En la gráfica 3 pueden apreciarse los extremos citados, el movimiento poblacional y lo que estimamos de mayor interés medico-legal, los períodos en los que se produce la incidencia conjunta de la población de adultos y de las larvas, lo cual acontece en los siguientes plazos:

en invierno hacia el 33º día
 en primavera hacia el 22º día
 en verano..... hacia el 14º día



Gráfica 3: *Dermestes* y sus larvas en las diferentes épocas del año.

La identificación simultánea en el cadáver de *Dermestes* adultos y de sus larvas permitiría con suma facilidad pronunciarnos acerca de la data de la muerte. El resto de los datos acerca de la evolución de los *Dermestes* y de sus larvas, podrían servir, asimismo, para el establecimiento de la data de la muerte.

- e) Los *Cleridae* –*Corynetes coreuleus*–, tienen un comportamiento similar al de los derméstidos, el cual se mantiene tanto en los diferentes ecosistemas, como en las diversas épocas del año. Suelen hacer su aparición a lo largo del período enfisematoso o en los inicios del período colicuativo (décimo día en invierno, quinto día en primavera y tercer día en verano), manteniéndose junto al *Dermestes* el período de reducción esquelética (trigésimo séptimo día en invierno, vigésimo octavo día en primavera y decimoquinto día en verano). En general, su número poblacional es inferior al de *Dermestes*, y no aparecen en todos los casos.
- f) Los *Histeridae*, mantienen una gran regularidad en relación a las fases de la putrefacción. Acuden al cadáver en la fase enfisematosa, incrementándose su número durante el período colicuativo, descendiendo luego durante el de reducción esquelética y no encontrándose nunca cuando sólo quedan restos del cadáver. Es decir, se mantienen mientras existe alimento fresco-grasoso, no tejidos desecados, alimentándose en las fases iniciales de larvas de dípteros.

El *Hister cadaverinus*, tiene su punto álgido de población durante el período colicuativo y no suele aparecer por encima de los 25°, así sólo se presenta en serranía en invierno y primavera, y en campiña sólo en primavera. Cuando nos aproximamos a estaciones más cálidas no aparece ni en ambientes más secos.

Los *Saprinus* aparecieron también frecuentemente, correspondiendo a las especies *S. niger*, *S. semistriatus*, *S. detersus*, *S. semipunctatus*, *S. chalcites*, *S. conjungens*. Son precisamente estos últimos y más concretamente el *S. niger*, *S. semistriatus* y *S. detersus*, los que aparecen constantemente en las tres épocas del año, a la vez que respetan las fases o períodos de la putrefacción del cadáver.

La población es máxima en el período colicuativo y desaparecen en la fase de reducción esquelética. Los máximos poblacionales se encuentran entre los días 18º y 22º después de la muerte en invierno, entre los días 8º y 13º en primavera y entre los días 4º y 8º en verano. Suelen desaparecer a los 30-35 días en invierno, 23-27 días en primavera y a los 14-16 días en verano, contados a partir del momento en que tuvo lugar la muerte.

El *S. detersus* es un histerido que se presenta a temperaturas templadas y en cuanto sube unos grados no aparece. Así, no se recogían en verano en ninguno de los ecosistemas estudiados y tampoco en ambientes excesivamente secos, no apareciendo en marismas.

En cuanto al *S. niger*, es más ubicuo, apareciendo en todos los ecosistemas y a diferentes temperaturas. Se establecen también unos márgenes de incidencia, siendo máximo en invierno entre los días 18-26, en primavera entre los días 7-12 y en verano entre los 4 y 8, en todos los ecosistemas.

- g) Los *Trogidae*, género de los *scarabeidos*, tienen especial predilección por los materiales desecados que permanecen adheridos a los huesos del cadáver, de ahí que aparezca en el período de reducción esquelética. La especie que se recogió fue el *Trox fabricii*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MEGNIN, P. La faune des cadavres. Application de l'entomologie à la Médecine Légale. Paris: Encycl. Scientif. des Aides-Mémoires Léauté. Masson. 1894.
2. LECHA MARZO, A. Tratado de autopsias y embalsamamientos. Madrid: Editorial Plus Ultra. 2ª edición. 1924.
3. THOINOT, L. Tratado de Medicina Legal. Barcelona: Editorial Salvat. Tomo I. 1927.
4. DALLA VOLTA, A. Trattato di Medicina Legale. Milano: Soc. Edit. Libreria. Vol. II. 1938.
5. LECLERCQ, M. Entomologie et Médecine Légale. Acta Medic. Legalis et Socialis 1949, 2: 179-202.
6. DOMÍNGUEZ MARTÍNEZ J, GÓMEZ FERNÁNDEZ L. Observaciones en torno a la Entomología tanatológica. Aportación experimental al estudio de la fauna cadavérica. Rev. Ibérica Parasitol. 1957, 17: 3-30.
7. BÁGUENA, L. Algunas notas sobre entomología médico-legal. Graellsia 1952, 10: 67-101.
8. BÁGUENA, L. Los grandes *Silphidae* ibéricos. Graellsia 1965, 21: 41-54.
9. PÉREZ DE PETINTO Y BERTOMEU, M. La miasis cadavérica en la esqueletización. Real Soc. Esp. Historia Natural. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 1975.
10. VILLALAÍN BLANCO, JD. Valoración médico-legal de los coleópteros necrófagos en España. Arch. Fac. Medicina Madrid 1976, 29: 89-99.
11. ROMERO PALANCO JL Y MUNGUÍA GIRÓN F. Contribución experimental al conocimiento de la entomología tanatológica en la provincia de Cádiz (Sur de España). Actas de las VIIª Jornadas Mediterráneas de Medicina Legal. Sevilla. 1986.
12. CASTILLO MIRALBÉS M. Estudio de la entomofauna asociada a los cadáveres en la región altoaragonesa. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. 2000.
13. GARCÍA GARCÍA MD, ARNALDOS SANABRIA MI, LOZANO ROMERA E, LUNA MALDONADO A. Entomología cadavérica: Fundamentos y aplicación. Referencia a la entomología Española. In: Medicina Legal y Toxicología. E. Villanueva (Editor). Barcelona: Masson. 6ª edición. 2004.
14. REITER C, WOLLENECK G. Zur Artbestimmung der Maden forensisch bedeutsamer Schmeißfliegen. Z. Rechtsmed 1983, 90: 309-316.
15. DE LA FUENTE PJM. Sinopsis de los histéricos en España, Portugal y Pirineos. Bol. Soc. Aragonesa Ciencias Naturales 1908, 7: 165-225.

16. PARDO ALCAIDE A y YUS R. Géneros de coleópteros de la Península Ibérica. Familia *Silphidae*. Graellsia 1974, 30: 93-111.
17. GREENBERG B and KUNICH JC. Entomology and the Law: Flies as forensic indicators. Cambridge: Cambridge University Press. 2002.
18. KAMAL AS. Comparative study of thirteen species of *sarcosaprophagus Calliphoridae* and *Sarcophagidae* (Diptera). Ann. Entomol. Soc. Amer. 1958, 51: 261-270.
19. LECLERCQ M. Entomologie et Médecine Légale. *Sarcophaga argyrostoma* ROB-DESV (Dipt. Sarcophagidae) et *Phaenicia sericata* MEIG (Dipt. *Calliphoridae*). Bull. Ann. Soc. R. Belg. Entom. 1976, 112: 119-126.
20. MARCHENKO MI. Classifying of cadaveric entomofauna. Flies biology. The forensic medical role. Sud. Med. Ekspert 1980, 23: 17-20.
21. WELLS JD, PAPE T and SPERLING FA. DNA-based identification and molecular systematics of forensically important *Sarcophagidae* (Diptera). J Forensic Sci. 2001, 46: 1098-1102.

ENTOMOLOGÍA MOLECULAR FORENSE

MARIAN M. DE PANCORBO¹, RODRIGO RAMOS²,
MARTA SALOÑA³, PAULA SÁNCHEZ⁴

Resumen: La entomología forense (EF) es una herramienta científica aplicada al estudio de la sucesión de insectos o artrópodos cuyo principal objetivo es establecer la estima del intervalo *post-mortem* (PMI). Además, la EF resulta de ayuda para determinar «donde» se ha producido una muerte, lo que sin duda es relevante para el Derecho, ya que concreta el órgano jurisdiccional que será competente (art. 15 LECr).

Es generalmente imposible establecer la especie de dípteros en fase de huevo o pupa mediante estudios morfológicos. Sin embargo, la EF molecular basada en el análisis de los genes citocromo oxidasa I y II mitocondriales, ayuda a resolver este problema. En este trabajo, se muestra que otro gen, citocromo b, de uso habitual en la determinación de especies de vertebrados por parte de los laboratorios forenses, puede ser también de interés en la identificación de las especies entomológicas.

Palabras clave: Entomología forense. Identificación molecular de especies. Citocromo b.

Abstract: Forensic Entomology is a scientific tool applied to arthropod or insect succession which principal objective is to establish death data by the estimation of *post-mortem* interval (PMI). Dating a death is fundamental for Law, but also where that death has happened is important not only for sear-

¹ Catedrática de Biología Celular y Responsable del Servicio General de Investigación Genómica: Banco de ADN. Universidad del País Vasco, UPV/EHU.

² Licenciado en Biología y en Ciencia y Tecnología de la Alimentación. Dpto. de Zoología y Biología Celular Animal. Universidad del País Vasco UPV/EHU.

³ Profesora Titular de Zoología. Dpto. de Zoología y Biología Celular Animal. Universidad del País Vasco UPV/EHU.

⁴ Licenciada en Derecho. Universidad del País Vasco UPV/EHU.

ching evidences, also to determinate which Judge or Court would be competent.

It is almost impossible to establish morphologically diptera kind when they still are on pupa phase. Forensic molecular entomology based on the analysis of mitochondrial cytochrome oxidase subunits I and II genes is of great utility. In this work we shown that another gene, cytochrome b, usually applied on vertebrate species determination by forensic laboratoires, can be also interesting for determinate entomologic species.

Key words: Forensic entomology. Molecular identification of species. Cytochrome b.

I. INTRODUCCIÓN

La entomología forense o médico-legal es el estudio de los insectos asociados a un cuerpo muerto. Bergeret, en 1855, fue el primero en aplicar la entomología a la determinación de la fecha de la muerte. Estos estudios sirvieron de punto de partida a Brouardel, quien solicitó el concurso de Mégnin para ampliarlos (1). Mégnin (2), en su libro «La faune des cadavres» (1894), estableció la base de la entomología que consiste en el registro de la sucesión, o diferentes «oleadas», de insectos que colonizan un cuerpo. Desde entonces, y durante la primera mitad del siglo xx se han realizado diversos estudios que han ido determinando la evolución de la entomología forense. Entre ellos cabe destacar los que se muestran en la tabla 1.

Tabla 1
Evolución de la entomología forense hasta la década de 1980 (3,4)

Straug (1912)	«El comportamiento biológico de las diferentes especies de insectos no está suficientemente estudiado como para alcanzar conclusiones respecto al tiempo de la muerte del organismo colonizado»
Meixner (1922)	Duración del desarrollo larvario y destrucción de los cadáveres.
Bianchini (1929)	Lesiones <i>postmortem</i> producidas por los insectos
Pietrusky y Leo (1929)	El desarrollo de los insectos se encuentra influido por factores externos, principalmente, por las condiciones climáticas.
Merkel (1925, 1930)	Composición de las sucesiones de especies, oviposición y estimación del intervalo <i>post-mortem</i> .
Walcher (1933)	Profundización de las larvas en los tejidos.

Tabla 1 (Cont.)

Schranz (1935)	Desarrollo de las especies entomológicas forenses, sin considerar la importancia de la temperatura.
Weimann (1940)	Datos sobre el desarrollo de especies de importancia forense, influencia de la temperatura en el desarrollo y discusión sobre la oviposición nocturna.
Bequaert (1945)	Entomofauna cadavérica e intervalo <i>post-mortem</i>
Leclercq (1949-1960)	Aplicación de la entomología forense
Schönberg (1951)	Accesibilidad al cadáver y su influencia en la estima del periodo <i>post-mortem</i> .
Green (1951)	Dispersión larvaria.
André (1951)	Desarrollo larvario en función de la temperatura y su relación con la estima del periodo <i>post-mortem</i> .
Wagner (1960)	Influencia de las sustancias químicas en el desarrollo de los insectos necrófagos o entomotoxicología.
Berg (1975)	Señala las aberraciones que se producen en el cálculo del intervalo <i>post-mortem</i> basado en la colonización del cadáver por insectos, si bien la entomología es de interés para realizar estimas aproximadas.
Reiter (1980)	Estudio del desarrollo de especies de dípteros de importancia forense

La entomología forense es una herramienta científica aplicada al estudio de la sucesión de insectos o artrópodos en la escena de un crimen o de una muerte accidental o natural (5), cuyo principal objetivo es establecer la data de la muerte mediante la estima del intervalo *post-mortem* (PMI).

Un cuerpo es un lugar muy atractivo para los insectos, puede considerarse un «punto caliente» en un ecosistema (6). Un cuerpo en descomposición es un sustrato en rápido cambio en el que se van sucediendo diversas especies de insectos. La fauna de artrópodos encontrada en los cuerpos en descomposición es selectivamente atraída hacia ellos en momentos determinados, ya que muchos de estos insectos prefieren una etapa definida de la descomposición. Parece posible que la actividad de una especie acondicione el sustrato para las que le siguen, de manera que se originan complejas y dinámicas comunidades de especies necrófagas y sus predadores, parásitos y parasitoides. Esta sucesión de especies es la principal herramienta en la datación de la muerte o estima del PMI.

La estimación del PMI basada en la sucesión de las especies de la entomofauna cadavérica requiere el conocimiento de las especies y la estimación de los tiempos de desarrollo según las características biogeográficas del lugar donde se halle el cadáver.

Como señalan Arnaldos et al. (2005) (7), cada grupo de insectos artrópodos juega un papel determinado en los diferentes estadios de descomposición de la materia orgánica y pueden clasificarse en una división particular según los hábitos de alimentación de sus miembros. La clasificación habitual de sarcosaprófagos los divide en cinco grupos ecológicos distintos: necrófagos, los primeros en llegar y colonizar el cuerpo; necrófilos, se alimentan de los necrófagos por predación o parasitismo; omnívoros, se alimentan del cuerpo y de la fauna asociada; oportunistas, usan el cuerpo como refugio, fuente de calor, etc.; y accidentales, cuya presencia es debida a la casualidad.

En general, necrófagos, necrófilos y omnívoros son los más importantes desde la perspectiva forense (figura I).

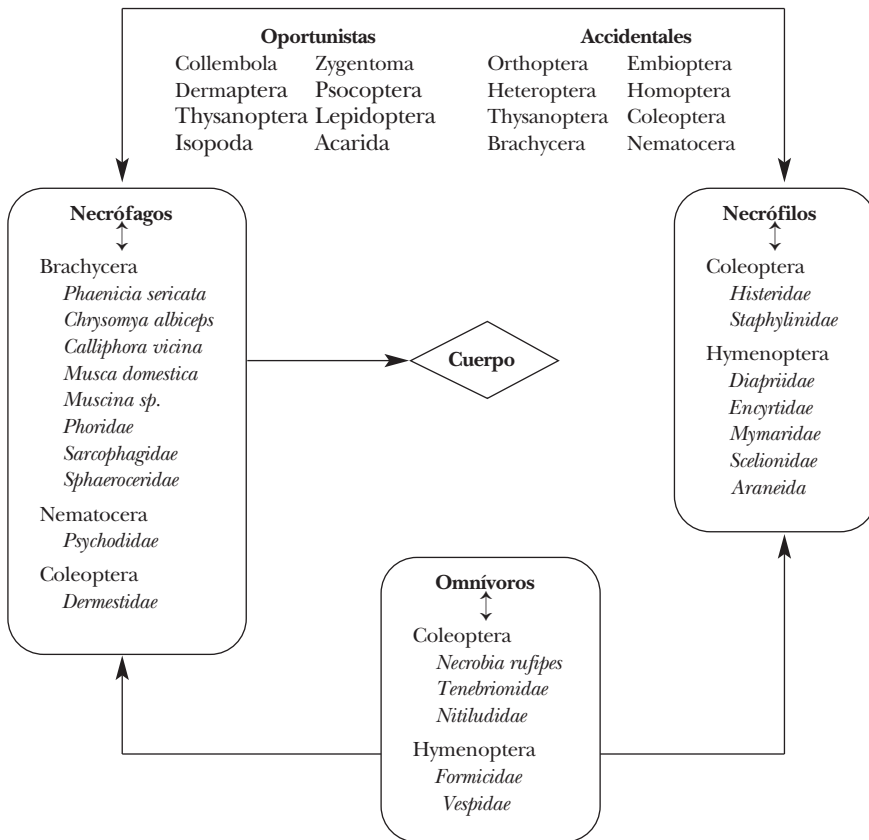


Figura I. Clasificación de la entomofauna sarcosaprófaga en relación con sus hábitos alimenticios; modificado de Arnaldos et al. 2005 (7).

Los rápidos y continuos cambios en el microsistema cadavérico no permiten alcanzar un equilibrio entre las comunidades animales; se produce por tanto una serie de sucesiones faunísticas que puede ser de ayuda para determinar cuándo y dónde ocurrió la muerte.

II. DETERMINACIÓN DE LA DURACIÓN DEL INTERVALO POST-MORTEM

El intervalo *post-mortem* (PMI) equivale al tiempo transcurrido entre la muerte y el descubrimiento del cadáver, o también, al periodo de tiempo que ha estado un cadáver expuesto al ambiente.

La observación de los insectos que colonizan un cuerpo proporciona dos métodos para determinar el tiempo transcurrido desde la muerte. El primero consiste en estimar la edad de las larvas y la tasa de desarrollo. El segundo método se basa en la sucesión de las especies de insectos que participan en la descomposición del cuerpo. El primero de estos métodos se suele utilizar durante las primeras fases de la descomposición, donde intervienen una o unas pocas especies de insectos, particularmente dípteros. Las estimas en este caso se basan en el grado de desarrollo de las especies implicadas y su comparación con las curvas de crecimiento obtenidas en condiciones biogeográficas similares. El segundo método se utiliza en estadios más avanzados de la descomposición y se basa en la comparación de la fauna hallada en el cuerpo con patrones de sucesión faunística típicos del hábitat donde se haya encontrado el cadáver. Este método tiene también en cuenta las tasas de desarrollo de las especies que intervienen en la sucesión para poder llegar a una estima del PMI. Por tanto, la identificación de las especies, el conocimiento de sus ciclos de vida, la duración de cada etapa según la temperatura y otros factores abióticos, son datos necesarios para determinar el PMI.

II.1. EDAD DE LAS LARVAS Y TASA DE DESARROLLO

Las moscas en estadios inmaduros y adultos son unos de los invertebrados primarios principales consumidores de materia orgánica animal en descomposición que se desarrollan a través de un ciclo de vida establecido y a una velocidad predecible, basada principalmente en la temperatura. Por tanto, si se conoce la especie, la temperatura y el estadio del insecto, resulta posible determinar el periodo que los insectos llevan colonizando un cuerpo y por tanto, el tiempo mínimo transcurrido desde la muerte.

Las moscas atraídas por los cadáveres depositan huevos que eclosionan tras un periodo de tiempo predecible en larvas de 1^{er} estadio. Estas delgadas larvas se alimentan de proteína líquida durante un tiempo y después mudan a la forma de larvas de 2^o estadio, que se alimentan durante otro periodo y posteriormente se transforman en larvas de 3^{er} estadio o etapa

final. Los insectos en esta fase se alimentan vorazmente. Después abandonan la fuente de comida en busca de un lugar seco y seguro para pupar, lo que ocurre cuando las larvas completan su desarrollo, o la fuente de alimento se agota. Las larvas se alejan de la fuente de comida para buscar lugares adecuados a la pupación, un proceso conocido como dispersión de las larvas post-alimentación. Fuera del animal, la pupa forma una cubierta externa y tiene lugar la metamorfosis. Después de unos cuantos días, emerge la mosca adulta y el pupario vacío es la evidencia de que ha ocurrido este ciclo.

El tiempo de desarrollo varía según la temperatura. Salvo raras excepciones, los insectos despliegan su actividad normal entre los 5°C y los 28-32°C. En el rango de 1-4°C suelen entrar en letargo del cual salen con facilidad en cuanto sube la temperatura. Por debajo del punto de congelación se produce la muerte. Por encima del límite superior del rango de temperatura, despliegan gran actividad, pero mueren cuando se alcanzan valores límites. Así, el desarrollo se acelera con temperaturas elevadas y se hace más lento con temperaturas bajas, siendo estas últimas las que condicionan el desarrollo cuando se combinan ambas en climas con ritmos circadianos extremos.

II.2 MÍNIMO INTERVALO *POST-MORTEM*

Las estimas de los intervalos *post-mortem* tienen en cuenta la edad de las larvas de moscas en un cuerpo y se derivan de curvas estandarizadas del desarrollo larvario. Estas curvas son generadas mediante estudios de crecimiento de larvas, generalmente alimentadas con hígado, en un rango de diferentes temperaturas. Sin embargo, es posible que las especies, u órganos, con que se alimentan las larvas, puedan alterar significativamente la tasa de crecimiento.

El estudio de Clark et al. (2006) (8) comparó el desarrollo de *Lucilia sericata* (Meigen) según su alimentación fuera en pulmón, hígado y corazón de vacas y cerdos. Las larvas crecieron de forma significativamente más rápida y dieron lugar a adultos más grandes cuando se alimentaron de víscera de cerdo, en comparación con las alimentadas con vísceras de vaca. Las larvas alimentadas con pulmón completaron su alimentación y abandonaron la fuente 31h antes, y crecieron 2 mm más, que cuando se alimentaron con hígado. La estructura del tejido, íntegra o licuada, no tuvo influencia.

Estos resultados resaltan la importancia de registrar la posición de las larvas cuando son recogidas de un cuerpo, ya que los diferentes tejidos pueden afectar al tiempo del desarrollo larvario y por tanto a la estima del PMI que se deduce de este factor. Además, debiera tenerse extremo cuidado cuando se extrapolan las tasas de desarrollo basadas en curvas estándar de larvas alimentadas en un medio único, especialmente cuando se han obtenido de larvas alimentadas con hígado.

La comprensión de la dispersión larvaria post-nutrición puede ser útil para determinar el PMI de los cadáveres humanos, particularmente porque este intervalo puede ser subestimado si no se tiene en cuenta la dispersión de las larvas mas viejas. Gomes et al. (2005, 2006) (9, 10) han investigado la dispersión de *Chrysomya albiceps* empleando un área circular para permitir la dispersión radial de las larvas desde el centro. Los resultados mostraron una correlación positiva entre profundidad de las larvas en el cuerpo y distancia, y una correlación negativa entre distancia y peso de las pupas. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de tener en cuenta la dispersión larvaria para introducir factores de corrección en la estima del intervalo *post-mortem*.

De lo anteriormente expuesto se deduce la importancia de la estima de la edad de las larvas. Gaudry et al (2006) (11) han abordado este problema mediante el análisis de la cantidad y naturaleza de hormonas ecdisoïdes presentes en las pupas de *Protophormia terranova*, para determinar si podían correlacionarse con la edad de las pupas halladas en los cuerpos y por tanto, podían dar información sobre el PMI. Estudiaron pupas frescas y otras desecadas experimentalmente. Observaron un pico de ecdisteroides entre 36-96h después de la pupación en animales frescos que no apareció en animales experimentalmente desecados. Sin embargo, la naturaleza de las hormonas ecdisteroides no fue informativa, ya que el principal componente es 20-hidroxiecdisona, sin especificidad de edad pupal. Así, la cuantificación de ecdisteroides puede ser utilizada, dentro de ciertos límites, para estimar la edad de las pupas, y por tanto, podría dar indicios sobre el PMI.

Los cuerpos de personas socialmente aisladas pueden permanecer en sus domicilios sin ser descubiertos durante prolongados periodos de tiempo. Ocasionalmente, el cuerpo permanece "in situ" un periodo suficientemente largo como para alcanzar un estado de esqueletización parcial o completa. La investigación de estos casos es compleja por la degradación y contaminación de la evidencia (12). La entomología, mediante el estudio de la sucesión de insectos colonizadores, puede contribuir a estimar el tiempo mínimo de la muerte y/o la estación en la que ocurrió. El examen entomológico puede también confirmar si un cuerpo ha permanecido «in situ» durante un considerable periodo.

La evaluación del PMI se basa en tablas de sucesión faunística en cadáveres humanos. La interpretación de esta sucesión proporciona información para determinar los límites máximo y mínimo del PMI. Los primeros intentos de establecer la data de la muerte en estimas basadas en la sucesión de especies de la entomofauna cadavérica se debieron a Mégnin y Johnston y Villeneuve en el siglo XIX. Sus tablas de sucesión faunística se utilizan todavía, si bien con cambios propuestos por algunos autores más recientes que consisten en la corrección de los periodos en función de la región geográfica, la latitud, el ecosistema, clima, etc.

La entomología forense se encuentra bien desarrollada en Gran Bretaña y también en el centro y norte de Europa. Por ello, las tablas de sucesión faunística se refieren a especies de este continente y los ciclos de vida de los insectos son calculados según los promedios de temperaturas de estos lugares. Sin embargo, los estudios llevados a cabo en determinadas áreas biogeográficas pueden no ser siempre extrapolables a otras áreas cuyas condiciones ambientales son específicamente diferentes. En este sentido, los trabajos de Turchetto y Vanin (2004) (6) y de Arnaldos et al. (2001) (13) en el área mediterránea, son de gran interés para aumentar la precisión de las estimas del PMI en el continente europeo.

En el área mediterránea de la Península Ibérica, Arnaldos et al. (2005) (7) han reunido datos procedentes de trabajos experimentales. Sus resultados señalan que Calliphoridae y Muscidae son los Diptera más abundantes. Los más importantes desde el punto de vista forense son *Phaenicia sericata* (Meigen), *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy y *Chrysomya albiceps* (Wiedemann), que mostraron una clara preferencia estacional, *P. sericata* (primavera), *C. albiceps* (otoño) y *C. vicina* (invierno), siendo también más frecuente *Musca domestica* en verano y otoño, pero ausente en invierno. Por tanto, la presencia, o ausencia, de estas especies puede contribuir a determinar la datación estacional de la muerte.

Los insectos necrófagos, que aparecen según una secuencia predecible, son los más importantes para establecer el tiempo de la muerte. Los necrófilos y los omnívoros pueden aparecer en cualquier momento, y permanecer durante todas las etapas de la descomposición, por lo que resultan de menos utilidad para la datación, sin embargo, también pueden proporcionar gran cantidad de información referente al propio cuerpo, por ejemplo, posibles manipulaciones y/o datos de las condiciones peri-mortem.

La mayor parte de las tablas de sucesión de la entomofauna cadavérica han sido obtenidas utilizando modelos experimentales animales, principalmente pollo y cerdo, dada la imposibilidad de utilizar cadáveres humanos para este fin. Arnaldos et al. (2005) (7) han comparado los resultados obtenidos del estudio experimental de las sucesiones con los observados en casos forenses reales, llegando a la conclusión de que los datos experimentales derivados de modelos experimentales con aves para establecer la dinámica de la comunidad de artrópodos asociada con los cuerpos, pueden considerarse representativos de las circunstancias que concurren en un cadáver humano, y pueden servir como una base inicial válida de la fauna saprosacrófaga en el área de referencia.

II.3 CONTAMINACIÓN

Las pupas y puparios pueden contaminar las muestras entomológicas en la escena del crimen, tanto si son de origen humano como de origen animal o de otro material orgánico en descomposición. Estos contami-

nantes pueden alargar erróneamente las estimas del intervalo *post-mortem* cuando no hay pupas o puparios genuinamente asociadas con el cuerpo.

La sospecha de contaminación puede ser debida a la falta de actividad de los puparios recogidos en las proximidades del cuerpo, la presencia de restos animales próximos o la contaminación del suelo por restos animales previos, e incluso por insectos del mortuorio (12).

III. ENTOMOFAUNA Y MIASIS

La miasis es la infestación de vertebrados vivos con larvas de dípteros que, durante al menos un periodo de tiempo, se alimentan de tejidos muertos o vivos, fluidos corporales o el alimento ingerido por el huésped. Esto puede ocurrir cuando una lesión o la presencia de excrementos hacen de los tejidos vivos una fuente de atracción para los insectos.

Las «moscas que causan miasis» es un término genérico que engloba especies de numerosas familias de dípteros, entre las cuales Calliphoridae y Oestridae son las más importantes. Las diferentes especies causantes de miasis pueden ser clasificadas como saprófagas (especies que viven libres), facultativas o parásitos obligados y se caracterizan por la habilidad de sus larvas para desarrollarse en tejidos animales.

Muchas de estas moscas son de gran importancia médica y veterinaria, ya que actúan como reservorios de pestes por insectos y vectores de patógenos, además de ser consideradas evidencias de importancia legal en el campo de la entomología forense (14).

La miasis suele ocurrir en los animales salvajes, pero también puede tener lugar en animales domésticos e incluso en humanos. En los animales domésticos da lugar a importantes daños económicos, por ejemplo cuando ataca a las ovejas. La relevancia forense de la miasis se debe que en algunos casos su causa puede ser la negligencia deliberada o el maltrato.

En lo que se refiere a las especies domésticas, un estudio de Anderson y Huitson (2004) (15) en Columbia Británica, ha mostrado que los perros son los animales más frecuentemente atendidos por miasis en las clínicas veterinarias, seguidos por conejos y en último lugar gatos. Esto puede ser debido a las diferencias en los hábitos de la higiene de estos animales, ya que la mayoría de los casos de miasis se deben a una herida no cuidada, al pelo apelmazado o a restos de excrementos, lo que indica que el cuidado del propietario tiene un importante papel para prevenir la miasis.

En casos de negligencia o maltrato deliberado, el análisis entomológico puede llegar a ser una poderosa evidencia para datar el periodo de tiempo de abuso o negligencia. Hay dos aspectos que deberían examinarse en la búsqueda de insectos para estimar el tiempo transcurrido desde la colonización. La primera es el propio animal: los huevos y larvas de 1^{er}, 2^o

y 3^{er} estadio pueden hallarse sobre y dentro de las heridas. En el caso de que las larvas no hayan sobrepasado el 3^{er} estadio se encontrarán en el animal, pero cuando han superado esta etapa, es necesario inspeccionar los lugares próximos o favoritos del animal para buscar larvas post-alimentación y pupas; si el animal tiene un lugar para dormir, debería examinarse ese sitio para buscar especímenes más viejos. Cuando la miasis ha ocurrido durante un periodo más largo que el ciclo vital de los insectos pueden hallarse pupas vacías que se distinguen porque presentan un orificio en un extremo, lo que las diferencia de las pupas que contienen insectos en metamorfosis.

En los seres humanos, la miasis ocurre cuando hay negligencia en el aseó e incide en los individuos muy jóvenes o muy ancianos, así como otros que no tienen la capacidad de asegurar su higiene básica o el cuidado de sus heridas. En casos de negligencia o maltrato deliberado, el análisis entomológico puede llegar a ser una poderosa evidencia para datar el periodo de tiempo de abuso o negligencia.

La miasis puede ocurrir justo antes de la muerte. Sukontason et al. (2005) (16) han reportado el caso de un hombre infestado por dos especies, *Chrysomya megacephala* y *Chrysomya rufifacies* (Macquart), en tres estadios de desarrollo, próximas a una severa lesión tumoral. La presencia de tres estadios, de aproximadamente cinco días, en el momento de la muerte pone de manifiesto una potencial complicación y error en la estimación del PMI debido a la concurrencia de miasis, por lo que se debe tener en cuenta la predisposición a infestación por moscas. Las heridas de las personas vivas son una diana potencial para las mismas moscas que viven o se alimentan de los cadáveres. Esto puede conducir a complicaciones en la estima del PMI, pero también conduce a información adicional que podría ser de valor para determinar malos tratos o negligencia en el cuidado (17).

La negligencia en el cuidado de los ancianos es un severo problema en las sociedades envejecidas. Desde el punto de vista jurisdiccional, es muy difícil establecer si un cuidador es culpable o no de negligencia. La entomología forense puede contribuir a esclarecer la dinámica y falta de cuidados recibidos por una persona mediante la investigación de los insectos que rodean al cadáver. Asimismo, la entomología forense puede ayudar a exculpar a los cuidadores al poder determinar si la infestación de larvas de una persona ha ocurrido durante un intervalo normal de no-visitas.

En los casos de miasis activa, la estima de que las larvas tienen 2 o 3 días es probablemente una subestima, ya que los insectos más viejos pueden no haber sido recolectados ya que abandonan el cuerpo para pupar. Habitualmente esto no es un problema en casos humanos ya que el área que rodea a la víctima suele ser cuidadosamente investigada en busca de otros indicios, así resulta posible descubrir y medir las larvas pre-pupales, las pupas y los adultos. En muchos casos de miasis, la entomología forense

es capaz de indicar solamente que los insectos ovopositaron un mínimo de tres días antes del examen; por tanto, la herida o la negligencia ocurrieron durante un periodo mínimo de tres días. Es probable que el examen de una herida permita afinar mejor el tiempo, sin embargo, la estima será función de la experiencia personal del médico, lo que resulta difícil de defender en el proceso jurisdiccional; la entomología forense, por otro lado, proporciona una fuerte evidencia científica que puede ser defendida con éxito. De esta manera, la evidencia entomológica puede ser muy útil para corroborar la estimación realizada por el personal sanitario.

IV. APLICACIONES SANITARIAS

En la mayoría de los casos, los insectos que colonizan a una persona viva se alimentan de los tejidos muertos, pero no de los vivos. La habilidad de tales insectos para eliminar el tejido muerto ha sido usada en medicina desde hace siglos. La popularidad de la terapia con larvas declinó con la llegada de los antibióticos, pero durante los últimos 20 años su uso ha resurgido y se considera una alternativa viable a la cirugía, por ejemplo en la limpieza de heridas gangrenadas o del tejido necrosado de los tumores (16). *Lucilia illustris* y *Phaenicia sericata* son especies de moscas comunes y ubicuas en casos forenses que implican tanto humanos como animales. *Lucilia illustris* es considerada una especie más rural y una de las primeras implicadas en la miasis de las ovejas. *Phaenicia sericata* se considera más frecuente en las especies urbanas. Tanto *L. illustris* como *P. sericata* son utilizadas en terapia de eliminación de tejidos necrosados. *Curterebra jellisoni* es otra especie causante de miasis comúnmente encontrada en animales salvajes, particularmente conejos, que se alimenta tanto de tejido muerto como vivo (15).

V. APLICACIONES JURÍDICAS

Determinar «cuándo» se ha producido una muerte es sin duda relevante para el Derecho, pero de igual modo lo es determinar «dónde»; no exclusivamente para la búsqueda de fuentes de prueba, como se tiende a creer, sino también para determinar qué órgano jurisdiccional será competente, ya que «cuando no conste el lugar en que se haya cometido una falta o delito será competente para conocer de la causa el Juez o Tribunal del término municipal, partido o circunscripción en que se hayan descubierto pruebas materiales del delito» (Artículo 15 de la Ley de Enjuiciamiento Criminal (LECr) (18).

En lo que se refiere a la búsqueda de fuentes de prueba, resulta fundamental la tarea del Juez Instructor del examen del *cuerpo del delito*, debiendo entender por tal, como señala el Artículo 335 LECr (18), la descripción detallada del estado y circunstancias de la persona o cosa objeto del delito, ya que puede llevar a hallar larvas y pupas que hagan presumir si el

cuerpo ha sido trasladado (e incluso de dónde y en qué momento posterior a la muerte en función de los insectos encontrados) además del PMI. Esta información será complementada mediante la práctica preceptiva de autopsia, cuando la instrucción tuviere lugar por causas de muerte violenta o sospechosa de criminalidad, aun cuando por la inspección exterior pueda presumirse la causa de la muerte (art. 343 LECr) (18). El problema puede surgir en el caso contemplado en el art. 770.4 LECr (18), que recoge el supuesto de que se hubiere producido la muerte de alguna persona y el cadáver se hallare en la vía pública, en la vía férrea o en otro lugar de tránsito: en estos casos se ha de proceder al traslado del cadáver de modo urgente, para poder reestablecer el paso interrumpido, obteniendo fotografías y señalando el lugar y posición del cuerpo. En estas circunstancias, se plantea la duda de si por este alzamiento precipitado se perdería la referencia de las pupas y larvas, debido a la dificultad de distinguir los ejemplares relevantes de otros no relevantes desde el punto de vista de la entomología forense. Por ello, además de la descripción del cuerpo del delito y de la autopsia, suele recurrirse al auxilio pericial (Artículo 456 LECr: *«El Juez acordará el informe pericial cuando, para conocer o apreciar algún hecho o circunstancia importante en el sumario, fuesen necesarios o convenientes conocimientos científicos o artísticos»*) (18).

Además, la entomología forense tiene relevancia en otros ámbitos jurídicos. Puede suceder, por ejemplo, que la miasis aparezca en animales domésticos, en cuyo caso se podría recurrir al art. 337 del Código Penal: *«Los que maltrataren con ensañamiento e injustificadamente a animales domésticos causándoles la muerte o provocándoles lesiones que produzcan un grave menoscabo físico serán castigados con la pena de prisión de tres meses a un año e inhabilitación especial de uno a tres años para el ejercicio de profesión, oficio o comercio que tenga relación con los animales»* (19). En primer lugar, hay que aclarar que ese maltrato puede ser producto tanto de una conducta activa, como de una omisión; siempre que la miasis sea producto de la falta de observancia de los deberes inherentes a la condición de dueño (y por tanto responsables de la salud de los animales), podría encajarse dicha conducta en el citado tipo delictual. Pero no es necesario ser responsables penales para que el Derecho imponga ciertos deberes: existe, además, una responsabilidad civil por los daños que, en este caso, la aparición de la miasis provoque, así como por el perjuicio que esa nueva situación origine (que puede traducirse económicamente en un lucro cesante). Esta responsabilidad civil puede derivarse de la existencia de una relación contractual entre el causante del daño y aquel que sufre el perjuicio (responsabilidad contractual). Pero la existencia de una relación previa no es *condictio sine qua non*, ya que también se amparan los perjuicios causados fuera de la misma mediante la figura de la responsabilidad extracontractual, siendo ambas variantes de la responsabilidad civil acumulables a la penal en el caso de que concurran.

En lo que respecta del ámbito sanitario el Código Penal español también recoge, en los arts. 618 y 619 (19), una responsabilidad penal por omisión de auxilio o asistencia a personas de edad avanzada, menores e

incapaces, así como por el incumplimiento de los deberes familiares, tipificándolos como falta. Existe en torno a estas personas un deber de cuidado (entre otros muchos deberes), debiendo entender como tales los más elementales que necesita una persona, que por supuesto incluyen el aseo y la asistencia sanitaria. Por ello, la mera inactividad del sujeto responsable conlleva una sanción, sin necesidad de que la falta de actividad produzca un daño; eso sí, dicha omisión debe ser dolosa (es decir, debe existir una intención de dejar de asistir a la persona, previendo que ello pueda derivar en un daño). Según Miguel Armenteros León, Fiscal de la Audiencia Provincial de Pontevedra, la negligencia en el cuidado de una persona de edad avanzada no encajaría en este tipo. Sin duda puede resultar fundamental el estudio entomológico de la víctima o del cadáver, así como del entorno, para determinar el tiempo de inasistencia, lo que permite calificar dicha omisión como negligente o como dolosa, con la correspondiente existencia o no de responsabilidad penal. Eso sí, en caso de que llegue a materializarse un daño por dicha ausencia de cuidado, las faltas a las que se hace mención serán absorbidas por el tipo delictivo en el que pueda enmarcarse dicho daño, generalmente el delito del Artículo 226 CP, de consecuencias mucho más gravosas (19).

VI. ENTOMOLOGÍA MOLECULAR

A la vista de la importancia de la fauna entomológica cadavérica para ayudar a establecer el PMI, el lugar, e incluso el lugar y la manera de la muerte (20-24), es de crucial importancia, en el curso de la investigación de los hechos, la determinación precisa de las especies de las larvas halladas en los cadáveres, así como de las pupas que los rodean (25). La principal representación de los dípteros que intervienen en la descomposición cadavérica está constituida por larvas en las que la identificación específica mediante su morfología resulta de gran dificultad. Asimismo, es generalmente imposible establecer morfológicamente la especie de dípteros en fase de huevo o pupa, por lo que es necesario esperar a la eclosión para proceder a la clasificación taxonómica. Incluso en moscas adultas, la identificación exacta de la especie es complicada por la similitud anatómica/morfológica entre diferentes especies pertenecientes al mismo género.

La diferenciación basada en caracteres morfológicos de los ejemplares de la entomofauna cadavérica suele resultar todavía más difícil de llevar a cabo, debido a un amplio rango de factores: (1) especímenes dañados o carentes de caracteres taxonómicos; (2) ligeras diferencias frecuentes en estadios inmaduros tales como huevos o larvas (22,26); (3) recolección de insectos muertos (27-29); (4) ausencia de larvas para criar, puparios vacíos o larvas muertas y necrosadas como único material de recolección disponible.

La identificación de especies en estos casos, donde los métodos morfológicos fracasan, ha sido intentada mediante otros procedimientos. Los

primeros análisis moleculares consistieron en la discriminación mediante hemoglobina o ácidos grasos (30-34). Sin embargo, estas técnicas no resultaron suficientemente discriminantes entre especies próximas, especialmente en etapas pre-imago. Para evitar estas dificultades, se han buscado alternativas que proporcionen una identificación más específica, sensible y rápida (22).

A la vista del interés de la identificación molecular de las especies que intervienen en la etapa *post-mortem*, se ha señalado la utilidad del análisis de la variación genética del ADN para obtener información fiable sobre la especie de los insectos (21). Para solucionar este problema se ha comenzado a utilizar la información específica contenida en la molécula de ADN que se caracteriza por su inmutabilidad durante todas las fases del ciclo de vida de los insectos, su presencia en cualquiera de sus tejidos (huevo, larva, pupa e imago) y elevada estabilidad, lo que facilita la identificación taxonómica en cualquier etapa del insecto, independiente de los métodos de preservación (21,27,35). Consecuentemente, las técnicas basadas en el análisis del ADN en general, y del ADN mitocondrial en particular, presentan numerosas ventajas sobre la identificación morfológica cuando los especímenes están dañados o carecen de las características necesarias para la clasificación morfológica (36,37). Además, estas técnicas permiten identificar la especie en cualquiera de las fases del ciclo de vida de los especímenes.

Los métodos de secuenciación del ADN proporcionan una gran cantidad de información referente a la variabilidad intra- e inter-específica. Los marcadores más utilizados al respecto han sido las subunidades I y II de citocromo oxidasa (*COI* y *COII*) (20,22,27). Estos marcadores han sido aplicados en estudios principalmente sistemáticos, evolutivos y de genética de poblaciones, lo que explica la gran cantidad de información de estos genes en el orden Diptera contenida en el GenBank.

La mayor parte de los estudios que implican estos marcadores se han realizado desde una perspectiva de clasificación sistemática, y sólo en algunos casos se ha mencionado la utilidad de este procedimiento en relación con la entomología forense. Desde la perspectiva forense destaca el trabajo de Saigusa et al. (2005) (38) basado en el análisis de 304 pb de *COI* para la identificación de especies de tres géneros de Calliphoridae (*Calliphora lata*, *C. vicina*, *Lucilia cuprina*, *L. illustris*, *L. sericata* y *Chrysomya pinguis*) y dos especies de Sarcophagidae (*Parasarcophaga crassipalpis*, *P. similis*). Estas especies difieren en cuanto a su hábitat y estación dominante. Sin embargo, las características morfológicas de las cinco especies de Calliphoridae y las dos especies de Sarcophagidae son similares entre géneros, y por otro lado, *Chrysomya pinguis*, tiene una apariencia verde metálica similar a *Lucilia*. Las secuencias de *COI* de cada especie fueron únicas y distinguibles entre sí, aunque mostraron alta homología. Este trabajo puso de manifiesto que la identificación de especies de dípteros inmaduros por

análisis de secuencias del ADN resulta sencilla, economiza tiempo al eliminar la necesidad de esperar a la emergencia del adulto y elimina el requerimiento de un conocimiento altamente especializado de claves morfológicas. Además, proporciona información, no sólo del intervalo *post-mortem*, sino también de las condiciones ambientales que rodean a los cuerpos.

A diferencia del uso común de los genes anteriores en los estudios de especies de invertebrados, los laboratorios moleculares forenses, en los que la identificación de especies suele concernir a vertebrados, utilizan fundamentalmente el gen mitocondrial del citocromo b (cyt-b) (34,40-42). Aunque el cyt-b ha estado principalmente enfocado a la identificación de especies mamíferos donde ha obtenido una amplia aplicación en el trabajo de rutina forense, también existen algunos ejemplos de aplicaciones a la identificación de especies de dípteros (39,43-44).

El análisis molecular puede no solo proporcionar información taxonómica de la entomofauna, sino que también puede ser de interés en casos de sospecha de contaminación larvaria, ya que el ADN recuperado del intestino de las larvas puede ser usado para identificar lo que éstas habían comido; así, es posible confirmar o descartar que las larvas procedan del cuerpo (45).

A la vista del interés del análisis molecular entomológico en Genética Forense, nos hemos planteado el objetivo de investigar la utilidad del citocromo b del ADN mitocondrial en la identificación de especies relacionadas con la entomofauna forense, ya que este marcador es de amplio uso en los laboratorios forenses.

La capacidad de identificación de las especies entomológicas por parte del cyt-b está aún por ser determinada. Para ello, es necesario establecer un método de análisis del cyt-b apropiado para estas especies. En este sentido, la amplificación PCR y posterior secuenciación del producto amplificado son el procedimiento de elección; la eficacia de este método se basa en la utilización de primers capaces de dar lugar a la amplificación del cyt-b en las distintas especies de interés en la entomofauna forense. Así, la primera fase de la investigación consiste en la búsqueda de *primers* adecuados para cada especie o grupos de especies. Esta tarea presenta la dificultad de que no se conoce la secuencia del cyt-b en la mayoría de las especies a estudiar, por lo que el diseño de los *primers* debe hacerse en base a las secuencias de las especies filogenéticamente más próximas de las que se dispone de información. En segundo lugar, se hace necesario realizar un estudio de la variabilidad intra-específica del cyt-b, con la finalidad de estimar si la variabilidad interna es tan amplia que compromete la utilidad del marcador, o por el contrario, si cada especie presenta una variabilidad reducida que pueda permitir obtener una secuencia consenso del cyt-b propia de cada especie. Por último, se hace necesario el análisis de la variación inter-específica para observar si las secuencias del cyt-b entre las distintas especies son suficientemente diferentes como para permitir su

diferenciación, de tal manera que sea posible llegar a la identificación especie-específica, y en consecuencia a su clasificación taxonómica.

VI.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

A continuación se muestra el procedimiento seguido para instaurar un método de identificación de especie mediante secuencias del cyt-b mitocondrial de *Stearibia nigriceps*, cuyas larvas fueron encontradas en la escena de un crimen en el País Vasco (figura II).

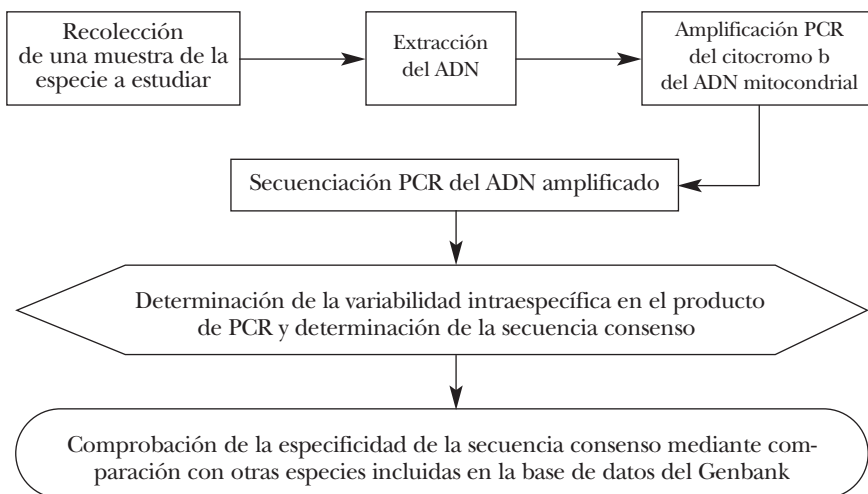


Figura II. Diseño experimental para la determinación de la especie mediante el análisis de la secuencia de un fragmento del gen mitocondrial citocromo b.

VI.2. METODOLOGÍA

La recolección de la muestra consistió en la recogida de numerosas larvas tanto en el suelo de la escena del crimen como en la sala de autopsias. Una parte de estas larvas fue tratada a alta temperatura (choque térmico en agua 95 °C) y conservada en etanol 70% y otra parte fue criada en el laboratorio de Entomología Forense de la Universidad del País Vasco hasta que emergieron los adultos que fueron analizados morfológicamente para establecer la especie, *Stearibia nigriceps* (= *Piophilina nigriceps*) (Meigen, 1826).

Diecisiete larvas fueron utilizadas para el análisis genético. Tras la homogeneización del tejido de cada larva, se extrajo el ADN mediante lisis proteolítica con proteinasa K, se purificó con fenol cloroformo y se precipitó con etanol. El ADN obtenido fue valorado espectrofotométricamente.

Una parte alícuota del ADN obtenido de cada ejemplar fue utilizada para la amplificación PCR utilizando los primers de Parson et al. (2000), en condiciones de hot start 95 °C-11 min, seguido de 35 ciclos 94 °C-30 sec; 50 °C- 45 sec, 72 °C- 45 sec.

El producto de PCR consistió en un fragmento de 356 pb que fue secuenciado mediante el método de terminadores marcados en un ABI Prism 310 DNA sequencer.

La determinación de la variabilidad intraespecífica se llevó a cabo tras la edición de las secuencias con ChromasPro y su alineamiento con ClustalX 1.83 (46). La diversidad nucleotídica y de secuencias se estimó con ayuda del programa Arlequin v. 2000 (47).

El análisis intraespecífico permitió obtener una secuencia consenso del citocromo b de *S. nigriceps* que posteriormente pudo ser utilizada para el análisis interespecífico con otras especies de dípteros de los cuales existe una secuencia de citocromo b equivalente en el GenBank.

Para realizar el análisis interespecífico se procedió en primer lugar a la búsqueda de secuencias similares del citocromo b mediante búsqueda BLAST. Esto permitió obtener un grupo de secuencias que muestran parecido con el citocromo b de *S. nigriceps*. A continuación, se utilizó el programa PHYLIP versión 3.63 (48) para estimar las distancias genéticas y el programa TreeView 1.6.6 (49) para obtener una representación gráfica de las mismas.

VI.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las secuencias analizadas fueron editadas en un fragmento de 305 pb a partir del primer forward. Se obtuvieron 14 haplotipos diferentes, cuya composición nucleotídica y variabilidad intraespecífica se muestra en la tabla 2.

Tabla 2
Variabilidad intraespecífica de las secuencias de citocromo b analizadas en las 17 larvas de *S. nigriceps* analizadas.

Porcentaje bases	C	T	A	G
	13,29	42,78	27,81	16,12
Diversidad de secuencias	0,9706 ± 0,0323			
Diversidad de nucleótidos	0,017502 ± 0,009943			
Nº promedio de diferencias nucleotídicas entre secuencias	5,338235 ± 2,709668			

La composición de bases muestra un alto porcentaje de bases adenina y timina (70,6%). Este hecho coincide con el alto porcentaje de estas bases previamente hallado en varios estudios del ADN mitocondrial de insectos, incluidos los del orden Diptera (27,50-51).

Las 17 larvas analizadas pertenecen a 14 linajes matrilineales diferentes, lo que parece indicar que son representativas de puestas diferentes y por tanto, los resultados que ofrecen son válidos para realizar una estima de la variabilidad intraespecífica de esta especie en la región geográfica estudiada.

Se observa que a pesar de mostrar variabilidad intraespecífica, la probabilidad de hallar un cambio nucleotídico en una posición concreta es muy reducida, $0,0175 \pm 0,0099$, siendo el número promedio de diferencias entre las secuencias de $5,3382 \pm 2,7097$.

El alineamiento de estas secuencias mostró variaciones en 21 posiciones, todas ellas transiciones (tabla 3). Del total de las transiciones observadas, 17 aparecen en sólo algunas de las secuencias, mientras que 4 posiciones (161, 164, 296 y 302) son altamente variables.

Tabla 3
Posiciones variables halladas en las secuencias de las larvas de *S. nigriceps* analizadas.

Especimen	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3
	0	2	4	3	5	6	6	7	0	1	2	3	3	3	4	4	5	6	9	9	0
	5	3	4	1	2	1	4	6	0	8	4	3	5	6	6	8	1	6	3	6	2
	C	T	G	T	T	R	R	T	A	G	T	C	C	T	G	T	A	C	A	Y	R
1	•	•	•	C	•	A	G	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	G	T	G
2	•	•	•	•	•	A	G	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	T	G	C
3	•	•	•	•	•	A	A	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	T
4	•	C	A	•	C	G	A	•	•	•	C	T	•	C	•	•	•	•	•	•	T
5	•	•	•	•	C	G	G	•	•	•	•	•	•	•	•	•	G	T	•	T	A
6	•	•	•	•	•	A	A	•	•	A	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	T
7	•	•	•	•	•	A	A	•	•	A	•	•	•	•	•	•	G	T	•	T	A
8	•	•	•	•	•	A	A	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	T
9	•	•	•	•	•	A	A	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	T
10	•	•	•	•	•	G	G	C	•	•	•	•	•	•	A	C	G	T	•	C	A
11	•	•	•	•	•	G	G	•	G	A	•	•	•	•	•	•	•	T	•	C	A
12	•	•	•	•	•	A	A	•	•	•	•	•	•	C	•	•	•	•	•	•	T
13	•	•	•	•	•	A	A	•	•	•	•	•	•	C	•	•	•	•	•	•	T
14	•	•	A	•	•	A	G	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	T
15	•	•	•	•	•	A	G	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	C
16	T	•	•	•	•	A	A	•	•	•	•	•	•	•	•	C	•	•	•	•	C
17	•	•	•	•	•	G	A	•	•	•	•	•	T	•	•	•	G	•	•	•	C

Tras el análisis de las secuencias, fue posible obtener una secuencia consenso de 305 pb (figura III), donde aparecen resaltadas las bases variables de la tabla anterior.

	TTG	GCT	CTT	TAC	TTG	GGT
19	TAT	GTT	TAA	TTA	TTC	AAA
37	TTT	TAA	CGG	GTT	TAT	TTT
55	<u>TAG</u>	CTA	TAC	ATT	ATA	CAG
73	<u>CAG</u>	ATA	TTA	ATT	TAG	CTT
91	<u>TCA</u>	ATA	GAG	TTA	ATC	ATA
109	<u>TTT</u>	GTC	GTG	ATG	TAA	ATT
127	<u>ATG</u>	GTT	GAT	TAT	TAC	GAA
145	CAC	TAC	ATG	CTA	ATG	GRG
163	CRT	CAT	TCT	TCT	TTA	TTT
181	GTA	TTT	ATC	TTC	ATG	TAG
199	GAC	GAG	GAA	TTT	ATT	ATG
217	GGT	CAT	ATC	TTT	ATA	CCC
235	CTA	CCT	GAT	TAG	TTG	GAG
253	TAA	TTA	TTT	TAT	TCT	TAG
271	TAA	TAG	CAA	CAG	CCT	TTA
289	TAG	GAT	AYG	TAT	TRC	CT

Figura III. Secuencia consenso de un fragmento de citocromo b de *S. nigriceps*: bases constantes subrayadas; bases variables intra-específicas resaltadas en gris.

La variabilidad intraespecífica se encuentra distribuida por todo el segmento estudiado, salvo una región de 86 pb que se mantiene constante en todos los especímenes analizados. Esta región constante aparece subrayada y se extiende desde la base 45 a la 130.

La búsqueda de esta secuencia altamente conservada en el GenBank, mediante el motor de búsqueda BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST), no mostró resultados coincidentes. Esta observación pudiera ser debida al azar, sin embargo, en caso de confirmarse en futuros trabajos, esta secuencia altamente conservada podría ser utilizada como un marcador distintivo de la especie *S. nigriceps*.

La validez de un marcador para ser utilizado como identificador molecular de una especie está determinada por su especificidad. Para comprobar esta especificidad se ha realizado un análisis inter-específico entre la secuencia consenso obtenida y las secuencias de citocromo b contenidas hasta la fecha en la base de datos del GenBank.

La secuencia consenso procesada via BLAST permitió hallar las especies cuyas secuencias de citocromo b son más próximas a *S. nigriceps*. Las mayores similitudes se hallaron con la especie necrófgaga *Chrysomya putoria* (89%; NC_002697), la mosca causante de miasis *Cochliomyia hominivorax* (89%; AF260826), y tres especies de *Drosophila*: *Drosophila simulans* (88%; NC_5781), *Drosophila melanogaster* (87%; NC001709) y *Drosophila sechellia*

(86%; NC_005780) y las especies *Ceratitis capitata* (86%; U12925) y *Dermatobia hominis* (84%; AY463155).

Con la finalidad de obtener una representación gráfica de las relaciones interespecíficas, se compararon las secuencias anteriormente referidas utilizando el software PHILIP 3.63. Se llevó a cabo un análisis de máxima verosimilitud cuya ventaja es la falta de suposición de modelos evolutivos. Se utilizó como secuencia outgroup la del nematodo *Caenorhabditis elegans* (NC_001328). Se realizó en primer lugar un remuestreo aleatorio mediante SEQBOOT para obtener 1000 conjuntos de datos; el archivo resultante fue importado por el programa DNAML (DNA maximum likelihood), con la opción de entrada aleatoria del orden de las secuencias; a continuación se aplicó la opción CONSENSE y se representó gráficamente el resultado obtenido mediante el program TREEVIEW 1.6.6. (figura IV).

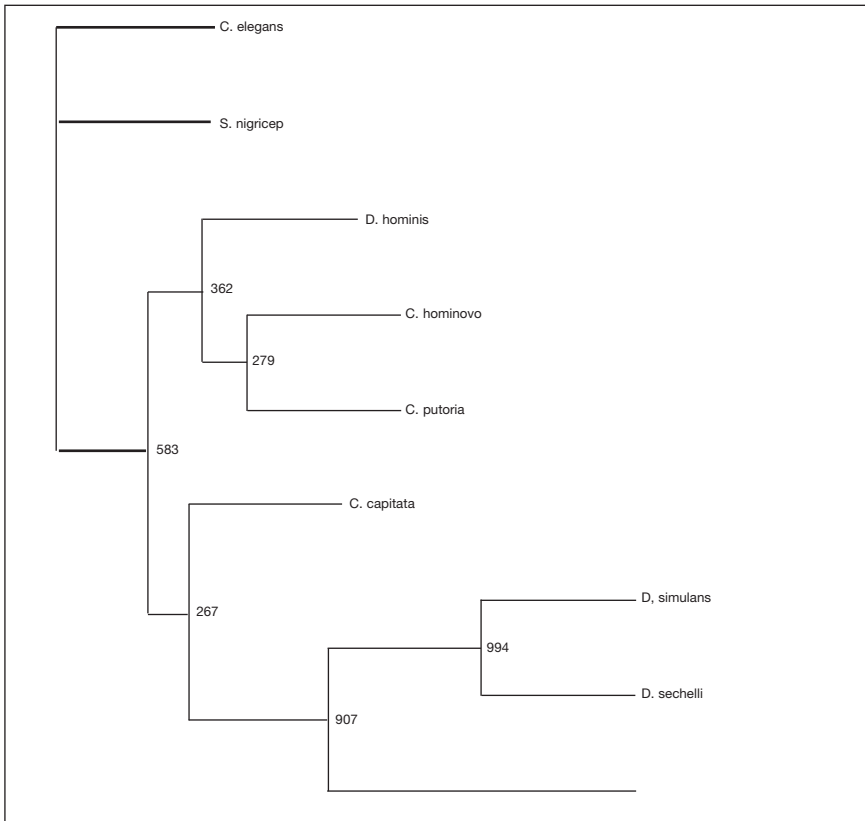


Figura IV. Árbol representativo de la comparación por el método de máxima verosimilitud de las secuencias de citocromo b de *S. nigriceps* y las especies del GenBank que mayor similitud han mostrado (outgroup *C. elegans*).

Los números entre paréntesis corresponden a los valores *bootstrap*.

Este árbol muestra que las secuencias de cyt-b de las moscas de la fruta, *C. capitata*, *D. melanogaster*, *D. sechellia* y *D. simulans*, se agrupan en una misma rama. Las especies causantes de miasis, *D. hominis* y *C. hominivorax* y la mosca necrófaga *C. putoria* forman un grupo separado. La secuencia consenso de citocromo b de *S. nigriceps* no se agrupa con las especies más próximas en cuanto a este marcador que están descritas en la base de datos del GenBank.

Este resultado pone de manifiesto la utilidad del citocromo b para la identificación de especies en la entomofauna forense, ya que las especies genéticamente más próximas se agrupan entre sí, como puede observarse en el caso de las tres especies de *Drosophila* y se diferencian de *S. nigriceps*.

En lo que respecta a la eficacia del cyt-b para caracterizar *S. nigriceps*, puede observarse que esta especie necrófaga posee una gran divergencia en su secuencia de bases con respecto a la única especie necrófaga *C. putoria* de la que se dispone de datos en el GenBank, lo que parece indicar que el citocromo b puede ser un valioso marcador para la identificación molecular de especies de moscas necrófagas.

VI.4. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, podría concluirse que el citocromo b parece ser un gen adecuado para la identificación molecular de *S. nigriceps* por lo que su uso en los laboratorios forenses no debiera quedar restringido a la identificación de vertebrados, sino que podría extenderse a la identificación de especies de la entomofauna cadavérica.

BIBLIOGRAFÍA

1. GISBERT CALABUIG J. A. Medicina Legal y Toxicología (4ª ed). Masson-Salvat Medicina. Barcelona, 1991, pp 190-192.
2. MÉGNIN P. La faune des cadavres de l'entomologie a la médecine légale. Encyclopedie scientifique des Aides-Memoirés, Marson, Paris, Gauthiers-Villars, Paris, 1894.
3. KLOTZBACH H, KRETTEK R, BRATZKE H, PUSCHEL K, ZEHNER R, AMENDT J. The history of forensic entomology in German-speaking countries. Forensic Sci Int. 2004 Sep 10; 144(2-3):259-63.
4. BENECKE M. A brief history of forensic entomology. Forensic Sci Int. 2001; 120(1-2):2-14.
5. PÉREZ SP, DUQUE P, WOLFF M. Successional behavior and occurrence matrix of carrion-associated arthropods in the urban area of Medellín, Colombia. J Forensic Sci. 2005; 50(2):448-54.

6. TURCHETTO M, VANIN S. Forensic entomology and globalisation. *Parassitologia*. 2004; 46(1-2):187-90.
7. ARNALDOS MI, GARCIA MD, ROMERA E, PRESA JJ, LUNA A. Estimation of *postmortem* interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Sci Int*. 2005; 149(1):57-65.
8. CLARK K, EVANS L, WALL R. Growth rates of the blowfly, *Lucilia sericata*, on different body tissues. *Forensic Sci Int*. 2006; 156(2-3):145-9.
9. GOMES L, ZUBEN CJ. Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Sci Int*. 2005; 155(1):61-4.
10. GOMES L, GODOY WA, VON ZUBEN CJ. A review of postfeeding larval dispersal in blowflies: implications for forensic entomology. *Naturwissenschaften*. 2006; 93(5):207-15.
11. GAUDRY E, BLAIS C, MARIA A, DAUPHIN-VILLEMANT C. Study of steroidogenesis in pupae of the forensically important blow fly *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci Int*. 2006; 160(1):27-34.
12. ARCHER MS, RANSON DL. Potential contamination of forensic entomology samples collected in the mortuary: a case report. *Med Sci Law*. 2005; 45(1):89-91.
13. ARNALDOS I, ROMERA E, GARCIA MD, LUNA A. An initial study on the succession of sarcosaprophagous Diptera (Insecta) on carrion in the southeastern Iberian peninsula. *Int J Legal Med*. 2001; 114(3):156-62.
14. AZEREDO-ESPIN AM, LESSINGER AC. Genetic approaches for studying myiasis-causing flies: molecular markers and mitochondrial genomics. *Genetica*. 2006; 126(1-2):111-31.
15. ANDERSON GS, HUITSON NR. Myiasis in pet animals in British Columbia: the potential of forensic entomology for determining duration of possible neglect. *Can Vet J*. 2004; 45(12):993-8.
16. SUKONTASON KL, NARONGCHAI P, SRIPAKDEE D, BOONCHU N, CHAIWONG T, NGERN-KLUN R, PIANGJAI S, SUKONTASON K. First report of human myiasis caused by *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) in Thailand, and its implication in forensic entomology. *J Med Entomol*. 2005; 42(4):702-4.
17. BENECKE M, JOSEPHI E, ZWEIHOFF R. Neglect of the elderly: forensic entomology cases and considerations. *Forensic Sci Int*. 2004; 146 Suppl:S195-9.
18. Ley de Enjuiciamiento Criminal Española (LECr); promulgada por Real Decreto en 1882
19. Código Penal Español; LO 10/1995.
20. WALLMAN JF, DONNELLAN SC. The utility of mitochondrial DNA sequences for the identification of forensically important blowflies (Diptera: Calliphoridae) in southeastern Australia. *Forensic Sci Int*. 2001; 120(1-2):60-7.
21. WELLS JD, SPERLING FA. DNA-based identification of forensically important Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci Int*. 2001; 120(1-2):110-5.
22. ZEHNER R, AMENDT J, SCHUTT S, SAUER J, KRETTEK R, POVOLNY D. Genetic identification of forensically important flesh flies (Diptera: Sarcophagidae). *Int J Legal Med*. 2004; 118(4):245-7.

23. AMENDT J, KRETTEK R, ZEHNER R, BRATZKE H. Practice of forensic entomology—usability of insect fragments in the estimation of the time of death. *Arch Kriminol.* 2004; 214(1-2):11-8.
24. AMENDT J, CAMPOBASSO CP, GAUDRY E, REITER C, LEBLANC HN, J R HALL M. Best practice in forensic entomology—standards and guidelines. *Int J Legal Med.* 2006 Apr 22; [Epub ahead of print].
25. STEVENS J, WALL R. Genetic relationships between blowflies (*Calliphoridae*) of forensic importance. *Forensic Sci Int.* 2001; 120(1-2):116-23.
26. BYRD JH, CASTNER JL Insects of forensic importance. In: Byrd JH, Castner JL (eds) *Forensic entomology –the utility of arthropods in legal investigations.* CRC Press, Boca Raton, 2001, pp 173-200.
27. HARVEY ML, DADOUR IR, Gaudieri S. Mitochondrial DNA cytochrome oxidase I gene: potential for distinction between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in western Australia. *Forensic Sci Int.* 2003; 131(2-3):134-9.
28. HARVEY ML, MANSELL MW, VILLET MH, DADOUR IR. Molecular identification of some forensically important blowflies of southern Africa and Australia. *Med Vet Entomol.* 2003; 17(4):363-9.
29. HARVEY ML. An alternative for the extraction and storage of DNA from insects in forensic entomology. *J Forensic Sci.* 2005; 50(3):627-9.
30. TAYLOR AJ, WEIR RL, HUTTON T, GREEN B. Potential of electrospray mass spectrometry for meat pigment identification. *Meat Sci* 1993; 33: 15-83.
31. ANDRASKO J, ROSEN B. Sensitive identification of haemoglobin in bloodstains from different species by high performance liquid chromatography with combined UV and fluorescence detection. *J Forensic Sci.* 1994; 39: 1018-1025.
32. ESPINOZA EO, LINDLEY NC, GORDON KM, EKHOFF JA, KIRMS MA. Electrospray ionization mass spectrometric analysis of blood for differentiation of species. *Anal Biochem* 1999; 268: 252-261.
33. CZESNY S, DABROWSKI K, CHRISTENSEN JE, VAN EENENNAAM J AND DOROSHOV S. Discrimination of wild and domestic origin of sturgeon ova based on lipids and fatty acids analysis. *Aquaculture*, 2000; 189:145-153.
34. BELLIS C, ASHTON KJ, FRENEY L, BLAIR B, GRIFFITHS LR. A molecular genetic approach for forensic animal species identification. *Forensic Sci Int* 2003; 134: 99-108.
35. SPERLING FA, ANDERSON GS, HICKEY DA. A DNA-based approach to the identification of insect species used for *postmortem* interval estimation. *J Forensic Sci.* 1994 Mar; 39(2):418-27.
36. WELLS JD, INTRONA F JR, DI VELLA G, CAMPOBASSO CP, HAYES J, SPERLING FA. Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *J Forensic Sci* 2001; 46: 685-687.
37. MALGORN Y, COQUOZ R. DNA typing for identification of some species of *Calliphoridae*. An interest in forensic entomology. *Forensic Sci Int.* 1999 ; 102(2-3):111-9.
38. SAIGUSA K, TAKAMIYA M, AOKI Y. Species identification of the forensically important flies in Iwate prefecture, Japan based on mitochondrial cytochrome oxidase gene subunit I (COI) sequences. *Leg Med (Tokyo).* 2005; 7(3):175-8.

39. ZEHNER R, ZIMMERMANN S, MEBS D. RFLP and sequence analysis of the cytochrome b gene of selected animals and man: methodology and forensic application. *Int J Legal Med.* 1998; 111: 323-327.
40. PARSON W, PEGORARO K, NIEDERSTÄTTER H, FÖGER M, STEINLECHNER M. Species identification by means of the cytochrome b. *Int J Legal Med.* 2000; 114: 23-28.
41. HSIEH HM, CHIANG HL, TSAI LC, LAI SY, HUANG NE, LINACRE A, LEE JC. Cytochrome b gene for species identification of the conservation animals. *Forensic Sci Int.* 2001; 122: 7-18.
42. BRANICKI W, KUPIEC T, PAWLOWSKI R. Validation of cytochrome b sequence analysis as a method of species identification. *J Forensic Sci.* 2003 Jan; 48(1): 83-7.
43. BATAILLE M, CRAINIC K, LETERREUX M, DURINGON M, DE MAZNCOURT P. Multiplex amplification of mitochondrial DNA for human and species identification in forensic evaluation. *Forensic Sci Int.* 2001; 99: 165-170.
44. VINCENT S, VIAN JM, CARLOTTI MP. Partial sequencing of the cytochrome oxidase b subunit gene I: a tool for the identification of European species of blow flies for *postmortem* interval estimation. *J Forensic Sci.* 2000; 45(4):820-3.
45. CAMPOBASSO CP, LINVILLE JG, WELLS JD, INTRONA F. Forensic genetic analysis of insect gut contents. *Am J Forensic Med Pathol.* 2005; 26(2):161-5.
46. THOMPSON JD, GIBSON TJ, PLEWNIAK F, JEANMOUGIN F, HIGGINS DG. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 1997; 24:4876-4882.
47. SCHNEIDER S, ROESSLI D, EXCOFFIER L. Arlequin ver. 2000: A software for population genetic data analysis. 2000. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
48. FELSENSTEIN J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. 2005. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
49. Page RDM. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput Appl Biosci.* 1996; 12: 357-358.
50. LEWIS DL, FARR CL, KAGUNI LS. *Drosophila melanogaster* mitochondrial DNA: completion of the nucleotide sequence and evolutionary comparisons. *Insect Mol Biol.* 1995; 4(4):263-78.
51. BERNASCONI MV, PAWLOWSKI J, VALSANGIACOMO C, PIFFARETTI JC, WARD PI. Phylogeny of the Scathophagidae (Diptera, Calyptratae) based on mitochondrial DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol.* 2000; 16: 308-315.

ARTÍCULOS ORIGINALES

EL MESTIZAJE GENÉTICO EN ECUADOR Y SU APLICACIÓN MÉDICO FORENSE

FABRICIO GONZÁLEZ-ANDRADE¹, DORA SÁNCHEZ¹,
BEGOÑA MARTÍNEZ-JARRETA²

Resumen: Se analizaron tres grupos étnicos de Ecuador: mestizos, amerindios kichwas y negros afroamericanos; se estudiaron 20 microsatélites autosómicos D3S1358, HumFGA, D21S11, Penta E, Penta D, HumVWA, D8S1179, D7S820, D13S317, D5S818, D16S539, HumTH01, HumCSF1PO, HumTPOX, HumF13A01, HumF13B, HumLPL, HumHPRTB, HumFES/FPS y amelogenina y 12 microsatélites del cromosoma Y como DYS19, DYS385 a/b, DYS 389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438 y DYS439. Se ha confirmado y cuantificado que mestizos y afroecuatorianos son poblaciones trihíbridas, con proporciones variables de contribución de amerindios, europeos y africanos. Los mestizos contienen ~73% de cromosomas autosómicos de origen amerindio, un ~19% europeo putativo y ~8% origen africano. Los afroecuatorianos se pueden estimar en el ~57% africanos, ~28% europeos y ~15% nativos americanos. Esto es consistente con un triple origen genético para los mestizo: amerindios, europeos y africanos, como se demuestra por los STRs en el cromosoma «Y». Los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles que lo que lo están los guineanos. Los datos obtenidos son de enorme valor antropológico y permitirán trazar mejor la historia de Ecuador en busca de los orígenes de los actuales pobladores del Nuevo Mundo.

Palabras clave: STRs de cromosoma Y, STRs autosómicos, haplotipos, bases de datos, mestizos, amerindios kichwas, negros afroamericanos.

¹ Hospital Metropolitano, Laboratorio de ADN, Quito (Ecuador).

² Universidad de Zaragoza (España), Departamento de Medicina Legal y Forense.

Abstract: Three ethnic groups from Ecuador were analysed: mestizos, Amerindian Kichwas and black Afro-Americans; 20 autosomic microsatellites were studied, D3S1358, HumFGA, D21S11, Penta E, Penta D, HumVWA, D8S1179, D7S820, D13S317, D5S818, D16S539, HumTH01, HumCSF1PO, HumTPOX, HumF13A01, HumF13B, HumLPL, HumHPRTB, HumFES/FPS and amelogenine and 12 Y-chromosome microsatellites like DYS19, DYS385 a/b, DYS 389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438 and DYS439. It has been confirmed and quantified that mestizos and Afro-Ecuadorians are trihybrid populations, with variable proportions of Amerindian, European and African contributions. The mestizos contain ~73% autosomic chromosomes of Amerindian origin, ~19% putative European and ~8% African origin. The Afro-Ecuadorians can be estimated at ~57% African, ~28% European and ~15% American natives. This is consistent with a triple genetic origin for the mestizos: Amerindians, Europeans and Africans, as shown by the STRs in the Y chromosome. The Afro-Ecuadorians are the closest to the Guineans but they are closer to the Kichwas and to the Spaniards than the Guineans are. The data obtained have enormous anthropological value and will help trace the history of Ecuador better, seeking to find the origins of the current settlers of the New World.

Key words: Y chromosome STRs, Autosomic STRs, haplotypes, databases, mestizos, Amerindian Kichwas, Black Afro-Americans.

INTRODUCCIÓN

*« (...) , proclamamos por todas partes y a gritos,
la originalidad de nuestro continente mestizo,
conscientes de que la aceptación del mestizaje supone
no renegar de ninguno de nuestros progenitores».*
Jorge Enrique Adoum

Hablar de etnia y mestizaje en Ecuador es hablar de lo cotidiano, de lo común del quehacer diario. Entender este proceso es un ejercicio complejo que comprende lo social, lo político, lo biológico y dentro de este último lo genético. En este trabajo se muestran algunos aspectos importantes de inmensa diversidad genética de los ecuatorianos.

Debemos recordar que en nuestro país conviven tres grupos étnicos principales: mestizos, nativos amerindios y afroecuatorianos (1). Los mestizos son el grupo más numeroso, con ~8'000.000 de habitantes (o el 60% de la población total); son los descendientes hispanohablantes de los europeos (en su mayoría españoles) y de nativos amerindios. La proporción y la dinámica de los procesos que causaron esta mezcla, siguen sien-

do desconocidas. Varias de las diferentes poblaciones nativas amerindias conservan su cultura, idioma y clara identidad en Ecuador. De ellas, la más numerosa son los Kichwas (también conocidos como Quichuas), en número de ~3.000.000. El idioma Kichwa es el resultado de la absorción de poblaciones locales en el antiguo imperio Inca (el Quechua con “e”, es un idioma relacionado, pero diferente, hablado por los descendientes actuales de los incas de las regiones centrales de Perú y Bolivia). Los Kichwas viven principalmente en la región interandina de la sierra, pero algunos grupos representativos se encuentran también en la región amazónica (2). En ambos grupos, existe una considerable variación cultural y dialéctica (3). Finalmente, medio millón de ecuatorianos descienden de esclavos africanos y conservan claras características fenotípicas así como rasgos culturales africanos como la música, el baile y la religión. Viven en zonas rurales en dos provincias separadas; en el Valle del Chota (en los Andes) y en la provincia costera de Esmeraldas (2, 3). La medida en la que han absorbido contribuciones genéticas europeas y amerindias nativas permanece sin caracterizar.

En este trabajo hemos genotipado STRs (microsatélites de ADN) de cromosomas autosómico y de cromosoma “Y”; los más utilizados y mejor estandarizados actualmente en la práctica forense mundial, para que nuestros resultados se puedan comparar con los obtenidos en otras poblaciones. El tipado en estos tres grupos étnicos se realizó con una doble finalidad: proporcionar las frecuencias alélicas y los haplotipos adecuados con fines forenses, así como caracterizar genéticamente los tres grupos.

Los mestizos y afroecuatorianos se pueden considerar, como es el caso de otras poblaciones equivalentes de varios países latinoamericanos, poblaciones trihíbridas que contienen genes originarios de América, Europa y África en diversas proporciones. Se pretendió cuantificar estas proporciones y averiguar la asimetría en el cromosoma “Y” del proceso de mezcla, comparando los cromosomas “Y” con marcadores autosómicos. La variación genética del cromosoma “Y” está fuertemente repartida especialmente entre las poblaciones y entre los grupos continentales, lo que permite una identificación bastante precisa del origen de cada cromosoma “Y”; además, hace de los STRs “Y” una buena herramienta para la cuantificación de la mezcla. Sin embargo, solamente expresan la parte masculina de la historia y, por esa razón, hemos vuelto a analizar un conjunto de datos publicado de 15 STRs autosómicos forenses en las mismas poblaciones y previamente publicados (4, 5, 6).

MATERIAL Y MÉTODOS

El ADN se extrajo de sangre total recogida en tubos Vacutainer con EDTA mediante punción venosa. Se extrajo sangre de individuos sanos no relacionadas de ambos sexos, nacidos y residentes en Ecuador, procedentes de los grupos étnicos seleccionados. Las muestras de kichwas y de

negros se obtuvieron directamente en sus comunidades. Las muestras de los mestizos provienen del banco de pruebas de paternidad de nuestro laboratorio. Todas las muestras se procesaron una vez que se obtuvo el Consentimiento Informado. Se seleccionó a los individuos utilizando criterios como apellidos, lugar de nacimiento, idioma y color de la piel.

Extracción del ADN: se extrajo usando el sistema Wizard Genomic DNA Purification Kit System© (Promega, 1998) y se cuantificó por absorbancia UV utilizando el equipo Gene Quant Calculator® (Pharmacia, Uppsala, Suecia).

PCR: La amplificación se realizó en un Techne Thermal Cycler, modelo Genius©, y un termociclador PE 9600, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Tipaje: Los 11 STRs en el cromosoma “Y” en el kit Power Plex “Y”, así como los 15 STRs autosómicos del kit Power Plex 16 fueron tipados con un secuenciador automático ABI Prism 310. El tamaño de los fragmento y la designación de los alelos de los diferentes loci se determinó por comparación con los marcadores de peso molecular y escaleras alélicas distribuidos con cada kit. Se siguieron las recomendaciones de la DNA Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics para el análisis de sistemas STRs (7, 8). También utilizamos en el análisis la experiencia previa de nuestro equipo de investigación (9, 10).

Control de calidad: Nuestro laboratorio participa anualmente en el Test de Proeficiencia del Grupo de Trabajo GEP-ISFG (11).

Análisis de los datos: Se calculó el número de haplotipos diferentes, la diversidad haplotípica, las diferencias pareadas de haplotipos y la varianza del tamaño de los alelos en las STRs en el cromosoma “Y”, con Arlequin 2.000 (12). También se utilizó el software diseñado por Chakraborty y Lu (13). Se generaron median-joining networks (14) con el programa Network 4.1.0.8 (15). A los STRs se les asignaron ponderaciones que fueron inversamente proporcionales a las varianzas en el tamaño de sus alelos. Las proporciones de mezcla en los STRs autosómicos se calcularon con el programa Admix 2.0 (16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. STRs EN EL CROMOSOMA “Y”

Diversidad dentro de la población. Tipamos los STRs DYS19, 389I, 389II, 390, 391, 392, 393, 385, 437, 438 y 439 del cromosoma “Y” en 94 afroecuatorianos, 102 kichwas y 102 mestizos, todos de Ecuador. Las frecuencias alélicas y los haplotipos pueden solicitarse directamente al autor. Los descriptores generales de la diversidad genética intrapoblacional se pueden encontrar en la tabla 1.

Tabla 1. Diversidad genética intrapoblacional

	N	K	HD	π	V
Kichwas	102	91	0,9977 \pm 0,0015	7,12 \pm 3,37	1,14 \pm 1,14
Mestizos	102	99	0,9994 \pm 0,0015	7,64 \pm 3,59	1,21 \pm 1,06
Afroecuatorianos	94	89	0,9989 \pm 0,0018	7,79 \pm 3,66	1,41 \pm 1,20

N, tamaño de la muestra; k, número de haplotipos diferentes; Hd, diversidad del haplotipo; p, diferencias medias apareadas entre haplotipos; V, varianza de tamaño de repetición media.

La diversidad haplotípica es alta y bastante próxima a uno, en todas las tres poblaciones; se debe observar que este parámetro, en los sistemas haploides como ADN mitocondial y el cromosoma “Y”, es numéricamente idéntico a los parámetros forenses de información *a priori* como el poder de discriminación o el poder de exclusión en los casos de paternidad. Por consiguiente, este conjunto de 11 *loci* tiene el amplio poder de discriminar individuos varones no relacionados en todas las tres poblaciones y se puede usar en situaciones como delitos sexuales o donde sea más apropiado. Los mestizos y afroecuatorianos muestran ligeramente (y no significativamente) una diversidad más alta medida por el número medio de *loci* que muestran alelos diferentes en un par de cromosomas aleatorios y la varianza media del tamaño del alelo. Esta tendencia a mayor diversidad se espera en las poblaciones mezcladas.

Distribución haplotípica dentro de Ecuador. Siete haplotipos diferentes fueron compartidos entre kichwas y mestizos, uno entre mestizos y afroecuatorianos y uno entre kichwas, afroecuatorianos y mestizos. Este último resulta ser el haplotipo más frecuente en los europeos y, particularmente, en los españoles. el número total de haplotipos diferentes es 271.

Distribución haplotípica mínima con poblaciones globales. Se han definido haplotipos mínimos (es decir, DYS19-389I-389II-390-391-392-393-385) para la práctica forense y dichos haplotipos de poblaciones globales se conservan en la YHRD (base de datos de referencia de haplotipos del cromosoma “Y” (17). Los haplotipos mínimos en las poblaciones ecuatorianas se buscaron en la YHRD (versión 16); esta versión contenía los haplotipos mínimos para 32.196 cromosomas de 271 poblaciones mundiales. Se contaron las coincidencias perfectas; para los haplotipos sin coincidencia, se consideraron los *one-step neighbours* (es decir, haplotipos que son diferentes en una repetición solamente en un locus). Los resultados se encuentran en la tabla 2.

Tabla 2. Coincidencias de haplotipo mínimo Y-STR para poblaciones ecuatorianas en la base de datos YHRD (versión 16).

	KICHWAS	MESTIZOS	AFROECUATORIANOS
Coincidencias americanos	5 (4,9%)	1 (1,0%)	0
1-s n. americanos	26 (25,5%)	10 (9,8%)	2 (2,1%)
Coincidencias europeos	12 (11,8%)	57 (55,9%)	18 (19,1%)
1-s n. Europa	2 (2,0%)	11 (10,8%)	7 (7,4%)
Coincidencias africanos	1 (1,0%)	1 (1,0%)	29 (30,9%)
1-s n. África	0	1 (1,0%)	7 (7,4%)
Coincidencias Asia central	1 (1,0%)	0	0
1-s n. Central Asia	1 (1,0%)	0	0
Coincidencias Pacífico	2 (2,0%)	0	0
Coincidencias Asia oriental	0	1 (1,0%)	0
1-s n. Asia oriental	0	1 (1,0%)	0
1-s n. Asia meridional	0	0	1 (1,1%)
Sin coincidencia	52 (51,0%)	19 (18,6%)	30 (31,9%)

“1-s n.” quiere decir «*one-step neighbours*», es decir, haplotipos sin coincidencia perfecta pero con cromosomas en la base de datos que son diferentes solamente en una repetición en un locus. «Americanos» incluye nativos americanos y poblaciones hispánicas; «África» incluye africanos y poblaciones de descendientes de africanos que viven en América o Europa.

Ningún haplotipo mostró coincidencias con más de un grupo continental. No se pudo encontrar una coincidencia ni un *one-step neighbour* en más de la mitad de los haplotipos kichwas. También es notable que sólo se encontraron cinco coincidencias con otras poblaciones de nativos americanos, pero 26 haplotipos tenían *one-step neighbours*. Estos dos hechos se pueden explicar por dos fenómenos no excluyentes entre sí: la diferenciación interpoblacional entre los amerindios (18) y la menor representación de estas poblaciones en la base de datos (seis, comparada con 201 poblaciones de europeos). Esto hace más probable que los cromosomas que no coinciden (los cuales, *a priori*, podrían tener cualquier población origen) fuesen de origen nativos americanos. En conjunto, el número de coincidencias con Europa es llamativo. Este método sería más sensible a la mezcla de europeos, ya que Europa (y España en particular) está representada en exceso en la YHRD. A pesar de ello, se encontraron coincidencias perfectas o casi perfectas en Europa para un 14% de los cromosomas “Y” de kichwas, 67% de mestizos y 27% de afroecuatorianos.

En una segunda comparación realizada en la YHRD (reléase 17) el haplotipo mínimo más frecuente (M7/102) en mestizos fue también el más frecuente haplotipo encontrado en metapoblaciones europeas occidentales

(465/13,237; reléase 17). En la población kichwa se encontró un sólo haplotipo coincidente con un haplotipo de la población de Salta (Argentina). Un cluster de 12 haplotipos mínimos cercanos que se presenta por dos ocasiones domina la muestra de afroamericanos, estos haplotipos se observan en algunas poblaciones mezcladas y en África, pero no son frecuentes fuera de Ecuador. De esta manera, el haplotipo más común de los mestizos muestra claramente un fuerte componente europeo, no así los kichwas y negros que sólo presentan haplotipos específicos de nuestro país.

Para obtener una visión más clara de la estructura genética comparamos los 9 locus del haplotipo mínimo de los tres grupos étnicos estudiados, mediante AMOVA, con poblaciones similares (ver figura I) cuyos datos estaban previamente publicados. Se comparó con 777 colombianos descendientes de europeos de Antioquia (19), 147 colombianos descendientes de europeos de Bogotá (20), 134 colombianos descendientes de africanos del Chocó (20) y muestras combinadas de 1,407 cromosomas procedentes de España (21). Todas las muestras referidas proceden de la YHRD. El árbol Neighbour Joining construido con la matriz de valores χ^2_{st} muestran tres ramas significativamente diferentes: europeo/mestizo, amerindio/kichwa y afroamericano.

En la base de datos YHRD se utilizan metapoblaciones, las mismas que se definen como grandes pools de poblaciones de referencia, para calcular las probabilidades de coincidencia entre los diferentes grupos poblacionales a nivel mundial; en este caso las muestras poblacionales de Ecuador[mestizo], Ecuador[kichwa] y Ecuador[afroamericano] se asignaron a las metapoblaciones «7.Admixed», «5.Amerindian» y «4.2 Afroamerican» en el menú PopSearch dentro del software de la YHRD, y así poder realizar las comparaciones poblacionales.

Estimaciones de mestizaje. La proporción de cromosomas “Y” de origen americano, europeo y africano en cada población se estimó intentando predecir el grupo haploide de cada cromosoma, ya que la mayoría de los grupos haploides están restringidos geográficamente (22). Esta tarea se realizó usando conjuntos de datos en los que se habían tipado ambos marcadores bialélicos y STRs (23, 24, 25), y se obtiene como ventaja el hecho de que la variación del STR en el cromosoma “Y” está fuertemente repartida por el fondo del grupo haploide (26). Un cromosoma fue asignado a un grupo haploide cuando se encontró una coincidencia perfecta o casi perfecta de un cromosoma con un grupo haploide conocido, o cuando estaba presente un alelo o subhaplotipo diagnóstico (como el 14 o alelos más grandes en el DYS392 combinado con DYS19*13 para el grupo haploide Q, o DYS19*15 - DYS390*21 para E3a, o DYS392*13-DYS385*11, 14 para R1b). Ya que el interés está en los amplios orígenes de cada cromosoma mas que en una filogeografía exacta y como este método puede ser propenso a errores, se asignó cada cromosoma a una de las siguientes categorías: Q (nativos americanos), R1b (europeos), Otros europeos (incluyen E3b, G, I, J, R1a), E3a (africanos). Las frecuencias de cada clase en cada población se pueden ver en la tabla 3. Las asig-

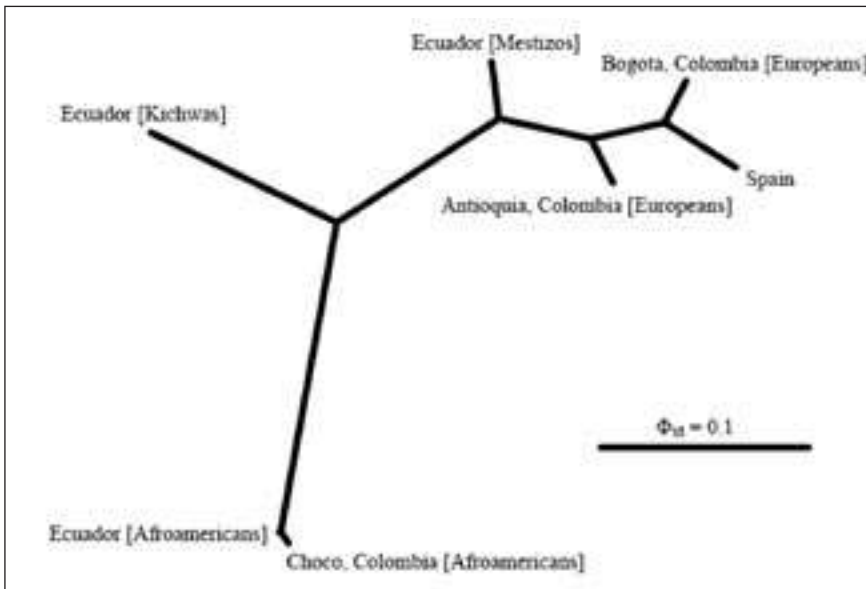


Figura I. Árbol Neighbour Joining construido con la matriz de valores.

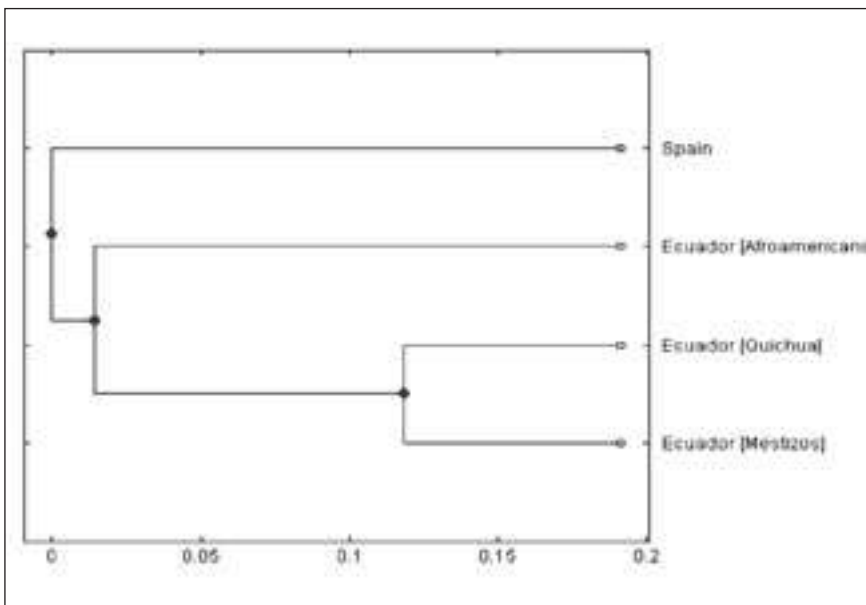


Figura II. Comparación interpoblacional entre los grupos estudiados.

Tabla 3. Frecuencias inferidas del grupo haploide en poblaciones de Ecuador, por comparación de haplotipos STR con conjuntos de datos en los que se han tipado tanto los STRs como los polimorfismos bialélicos que definen el grupo haploide.

	KICHWAS	MESTIZOS	AFROECUATORIANOS
Q	78 (76,5%)*	23 (22,5%)	14 (14,9%)
R1b	7 (6,9%)	48 (47,1%)	11 (11,7%)
Otros europeos	4 (3,9%)	25 (24,5%)	18 (19,1%)
E3a	0	2 (2,0%)	41 (43,6%)
Desconocido	13 (12,7%)	4 (3,9%)	10 (10,6%)

(*) incluye dos cromosomas que llevan haplotipos encontrados en los cromosomas C3b, también de origen nativos americanos.

naciones de clase para cada haplotipo pueden solicitarse directamente al autor.

Es notable que los Kichwas contienen ~10% de cromosomas “Y” de origen europeo putativo. Esto no es excepcional en Sudamérica: 11% en los grupos Guaraní e Ingano; 14% en los Kaingang; 26% en los Wayu (23). La proporción de líneas putativas europeas alcanza el ~70% en los mestizos (más un 2% adicional de origen africano), ver figura III.

El significado de esta cifra no es fácilmente aparente, ya que aunque se han publicado conjuntos de datos Y-STR para poblaciones urbanas comparables, para las poblaciones mestizo, en lo que sabemos, no se han publicado estimaciones cuantitativas de proporciones de mezcla.

Los afroecuatorianos también están muy mezclados: los orígenes de sus líneas de cromosoma “Y” se pueden estimar en el ~44% africanos, ~31% europeos, ~15% nativos americanos (ver figura III). En este caso existen cifras comparables: en diversas comunidades afrobrasileñas las contribuciones paternas varían desde el 47 al 77% para los africanos, 23-48% para los europeos y 0-4% para los nativos americanos (27). En comparación con Brasil, la contribución de los nativos americanos a los afroecuatorianos parece mayor, probablemente debido a la población, históricamente mucho más densa, de nativos americanos en los Andes que en las regiones amazónica y atlántica. La proporción relativa de R1b frente a otros grupos haploides europeos es diferente entre mestizos y afroecuatorianos ($\chi^2=6,59$, $p=0,01$). La proporción en los mestizos es similar a la de los españoles; teniendo en cuenta solamente los cromosomas derivados putativamente de europeos, la frecuencia de R1b es 65,8%, mientras que es 59,6% en España (28). En afroecuatorianos, es el 37,9%.

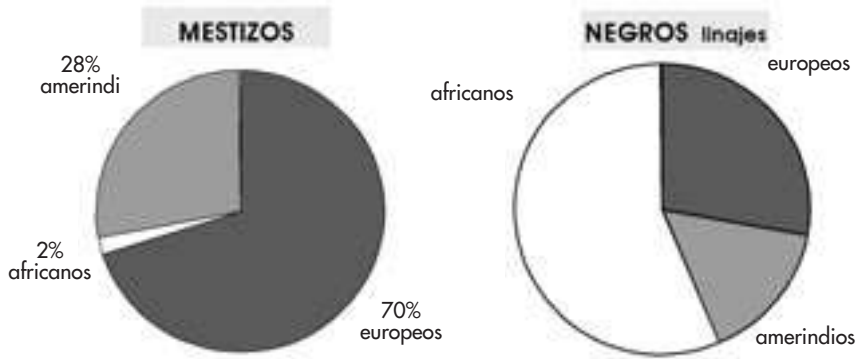


Figura III. Líneas putativas en mestizos y negros.

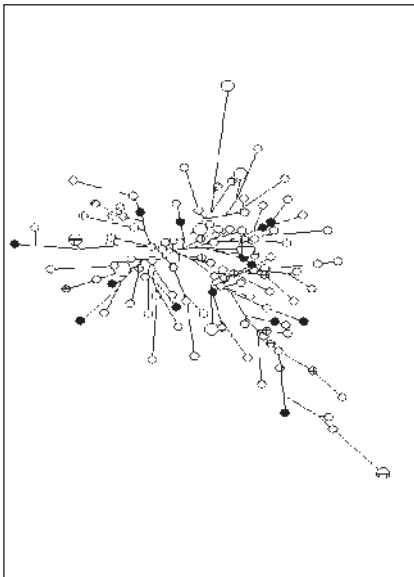


Figura IV. *Median joining network* de cromosomas Q putativos. Círculos vacíos: cromosomas Kichwas; tramados, Mestizos; círculos llenos, Afroecuatorianos.

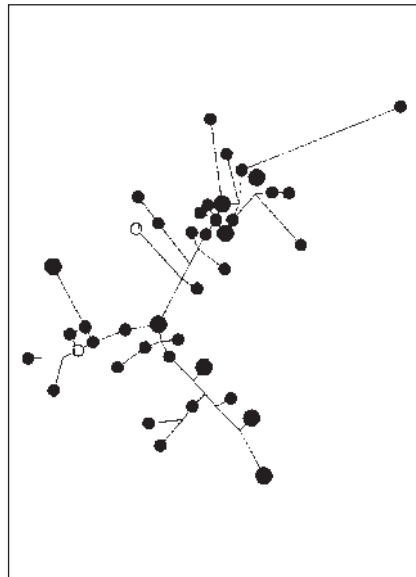


Figura V. *Median joining network* de cromosomas E3a putativos. Símbolos como en la figura I.

Líneas de nativos americanos y de africanos en detalle. Se generaron *Median joining networks* para los cromosomas putativos “Q” y “E3a”. Por lo que respecta a los cromosomas “Q” (figura IV), no se encontró en la red ninguna estructura discernible que pudiera sugerir la presencia de líneas secundarias como Q-M19 (23). Por el contrario, en la red E3a (figura V), parecen aparentes dos líneas secundarias. En comparación con Beleza y col. (comunicación personal), la mitad inferior parece aplicar a los cromosomas E3a7, mientras que la superior puede pertenecer al parágrafo E3a*. Las frecuencias de estos dos grupos haploides en los afroecuatorianos se estiman en 20,2% y 24,5%, respectivamente.

2. STRS AUTOSÓMICOS

Diversidad intrapoblacional. Quince STRs contenidos en el kit PowerPlex 16 fueron tipados en 115 individuos kichwas, 317 mestizos y 104 afroecuatorianos. Las frecuencias alélicas fueron ya publicadas (4,5,6). El promedio de alelos y la diversidad genética se pueden encontrar en la tabla 4. Además de las poblaciones ecuatorianas, se incluyeron datos (ver tabla 5) de dos posibles poblaciones originarias: las frecuencias de alelos de una población metropolitana de Barcelona (que incluía personas nacidas en toda España (29) y de Guinea Ecuatorial (30), antigua colonia española y lugar de comercio de esclavos en África. Los kichwas mostraron la diversidad más baja, de acuerdo con la menor variabilidad descrita para muchos grupos amerindios. La diversidad en mestizos y afroecuatorianos es mayor, también de acuerdo con las expectativas para las poblaciones mestizas. Sin embargo, de todas las comparaciones pareadas, solamente la frecuencia alélica y la diversidad haplotípica son inferiores en los kichwas que en los mestizos (prueba de Wilcoxon, $p=0,002$ y $p=0,001$, respectivamente).

Distancias genéticas. Se calcularon las distancias genéticas F_{ST} entre los ecuatorianos y las poblaciones externas. Se usaron las distancias F_{ST}

Tabla 4. Parámetros medios de diversidad intrapoblacional para 15 loci STR autosómicos

POBLACIÓN	2N	K	H
Kichwas(1)	230	8,87±3,08	0,751±0,088
Mestizos(2)	634	10,47±4,28	0,781±0,080
Afroecuatorianos(2)	208	10,13±3,44	0,808±0,064
Espanoles(3)	408	9,87±3,72	0,794±0,067
Guineanos(4)	268	10,40±3,62	0,802±0,059

2N, tamaño de la muestra en número de cromosomas; k, número medio de alelos; H, heterozygosity media esperada. Calculado a partir de los datos de referencias 6, 7, 8, 31 y 32.

Tabla 5. F_{ST} distancias genéticas basadas en 15 STR *loci* autosómicos

POBLACIÓN	KICHWAS	MESTIZOS	AFROECUATORIANOS	ESPAÑOLES	GUINEANOS
Kichwas	0				
Mestizos	0,0075	0			
Afroecuatorianos	0,0278	0,0137	0		
Espanoles	0,0437	0,0204	0,0163	0	
Guineanos	0,0651	0,0417	0,0096	0,0274	0

en vez de la medida de la distancia específica del STR dado que siete de los 15 *loci* mostraron repeticiones imperfectas que no pudieron ser explicadas por el modelo de mutación escalonado sencillo en el que se basan las distancias tales como R_{ST} (31).

Las distancias genéticas son cortas, en general, debido probablemente a frecuentes mutaciones escalonadas que tienden a homogeneizar las distribuciones de frecuencia de los alelos. Esta es una tendencia general para los STRs y más aún para los STRs forenses, en las que la homogeneidad interpoblacional es una propiedad deseable. Los mestizos muestran una distancia corta a los kichwas, pero su distancia a los españoles es claramente más corta que entre los kichwas y los españoles. También es este el caso para su respectiva distancia a los guineanos. Esto es consistente con un triple origen genético para los mestizos: amerindios, europeos y africanos, como se demuestra por los STRs en el cromosoma “Y”. Los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles que lo que lo están los guineanos. Con diferentes proporciones de mezcla, el modelo de triple origen propuesto para los mestizos también aplica a los afroecuatorianos.

Mezcla genética. La mezcla genética fue cuantificada como sugirieron Dupanloup y Bertorelle (16). Estos autores obtuvieron un modelo lineal que puede admitir cualquier número de poblaciones parentales, así como tasa de mutación, distancia molecular entre alelos y tiempo transcurrido desde la mezcla. Las proporciones de mestizaje y sus desviaciones estándar se determinaron a partir de 100.000 iteraciones bootstrap. Utilizando los kichwas, españoles y guineanos como poblaciones origen, las proporciones de mezcla en los mestizos fueron $0,730 \pm 0,243$ de amerindios, $0,193 \pm 0,280$ de europeos y $0,078 \pm 0,077$ de africanos. Las grandes desviaciones estándar son un reflejo de las pequeñas distancias genéticas entre las poblaciones origen.

Estos resultados contrastan fuertemente con los obtenidos a partir de los STRs en el cromosoma “Y”, pero pueden reconciliarse postulando una gran asimetría de sexos en los apareamientos, con la mayoría de los apareamientos mixtos afectando a hombres europeos y mujeres amerindias. Sin embargo,

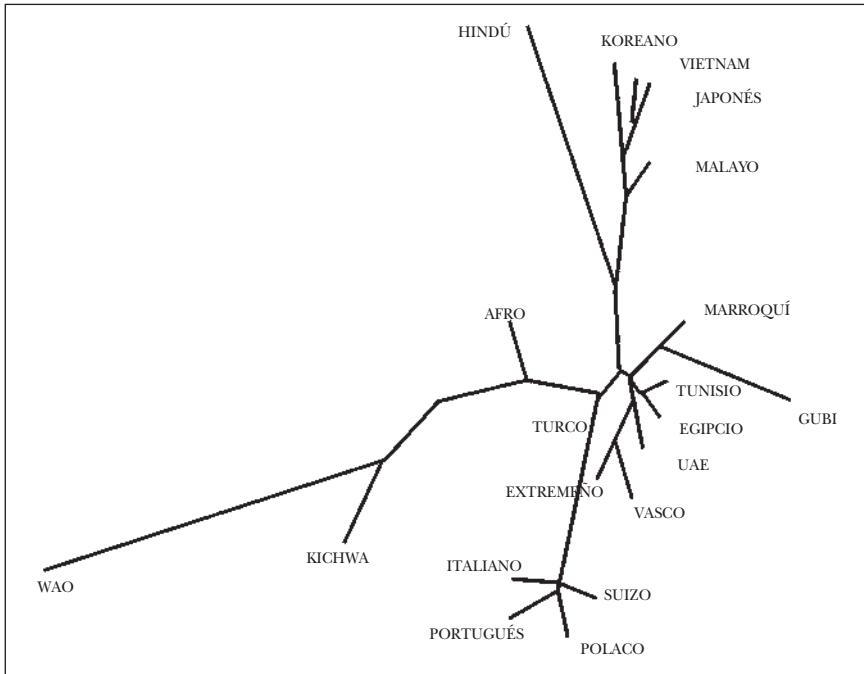


Figura VI. F_{ST}, distancias genéticas para D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D18S51, D21S11, FGA (FIBRA), VWA31, CSF1PO, D16S539, TH01, TPOX comparados con diferentes poblaciones a nivel mundial.

tales diferencias extremas no pueden aparecer si los mestizos fuesen generados en una sola generación por el apareamiento de mujeres amerindias y varones europeos. Es decir, una mezcla de genes contribuida por ~70% de varones europeos, 30% varones amerindios y sólo mujeres amerindias produciría las proporciones observadas para el cromosoma “Y”, pero en la mezcla de autosomas, las proporciones serían 35% europeos y 65% amerindios. Es necesario volver a invocar la asimetría posterior en los apareamientos entre mestizos y amerindios, contribuida otra vez mayormente por hombres y mujeres, respectivamente, para explicar los resultados.

Se han estudiado otros marcadores autosómicos de otras poblaciones mestizas: un resumen de la literatura se presenta en la tabla 6.

Se puede ver que los mestizos ecuatorianos presentan una de las mayores contribuciones de amerindios en las poblaciones estudiadas aunque, dados los diversos tipos de marcadores y niveles de resolución utilizados en las diferentes publicaciones, dicha comparación debe hacerse con precaución. Las proporciones de mezcla para afroecuatorianos fueron $0,564 \pm 0,107$ africanos, $0,279 \pm 0,328$ amerindios y

Tabla 6. Proporciones de mezcla para varias poblaciones urbanas americanas mezcla basadas en *loci* autosómicos. NA: No disponible

POBLACIÓN	TIPO				REFERENCIA
		NATIVOS	EUROPEOS	AFRICANOS	
Mestizos, Ecuador	Urbano general	73	19,3	7,8	Nuestros datos
Afroecuatorianos	Africanos americanos	27,9	15,8	56,4	Nuestros datos
La Plata (Argentina)	Urbano general	25,9	67,6	6,5	Martínez-Marignac y col., 2004 (34)
Churuguara (Venezuela)	Urbano general	19,9	52,5	27,6	Loyo y col., 2004 (35)
Santiago (Chile)	Estatus bajo	34,7	65,3	NA	Cifuentes y col., 2004 (36)
Santiago (Chile)	Estatus alto	20,9	79,1	NA	Cifuentes y col., 2004 (36)
Puerto Rico	Viviendo en Ciudad de New York	17,6	53,3	29,1	Bonilla y col., 2004a (37)
San Luis Valley (EE.UU.)	Hispanos	34,1	62,7	3,2	Bonilla y col., 2004b (38)
Costa da Lagoa, Santa Catarina Island (Brazil)	Urbano general	7,7	75	17,3	De Souza y col., 2003 (39)
Sao Joao do Rio Vermelho, Catarina Island (Brasil)	Urbano general	18,7	53,3	28	De Souza y col., 2003 (39)
California (EE.UU.)	Hispanos	43	46,3	10,7	Bertoni y col., 2003 (40)
California (EE.UU.)	Hispanos	38,2	48,4	13,4	Bertoni y col., 2003
Nevada (EE.UU.)	Hispanos	57,9	34	8,1	Bertoni y col., 2003
SO EE.UU.	Hispanos	35,6	64,4	0	Bertoni y col., 2003
Florida (EE.UU.)	Hispanos	19,9	72	8,1	Bertoni y col., 2003
Nueva Jersey (EE.UU.)	Hispanos	9,1	84,5	6,4	Bertoni y col., 2003
Pennsylvania (EE.UU.)	Hispanos	0,2	82,9	16,9	Bertoni y col., 2003
SE EE.UU.	Hispanos	0	93,3	6,7	Bertoni y col., 2003
Virginia (EE.UU.)	Hispanos	21,3	63,8	14,9	Bertoni y col., 2003

0,158±0,367 europeos. Como también se ve para el cromosoma “Y”, la contribución de los amerindios a los afroecuatorianos es notable. La asimetría es menor que en los mestizos pero, de nuevo, los varones europeos parecen haber contribuido desproporcionadamente a los apareamientos mixtos.

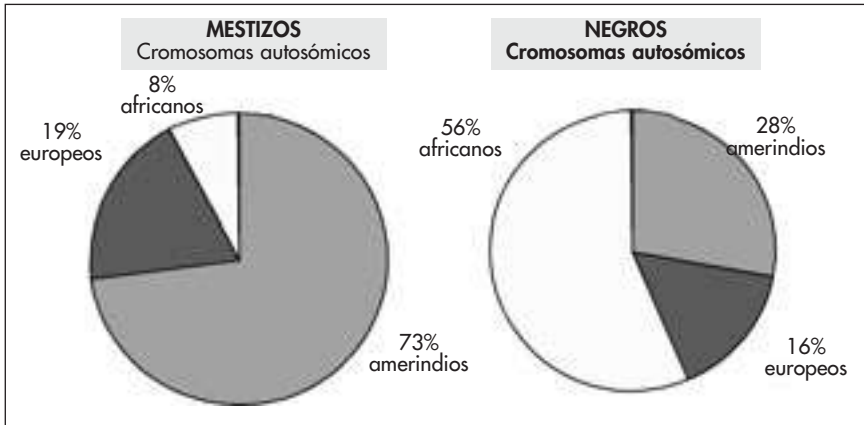


Figura VII. Mezcla genética en cromosomas autosómicos.
Se observa que los mestizos y negros son poblaciones trihíbridas.

REFLEXIONES ETNOGEOGRÁFICAS

Los resultados encontrados nos permiten establecer varias hipótesis sobre el Ecuador y Sur América, así como establecer ciertas inferencias sobre el poblamiento del país y origen de los ecuatorianos actuales. Se puede decir, en primera instancia, que este es un estudio inacabado que nos abre nuevas perspectivas futuras de investigación. Luego, habría que señalar que el volumen de información obtenido y los conocimientos adquiridos que son bastantes, siguen siendo insuficientes para entender este entramado étnico, geográfico y genético de los pobladores del nuevo mundo. A pesar de ello, este estudio nos permite realizar algunas reflexiones sobre nuestra compleja estructura étnica y genética actual que se detalla a continuación.

El Mestizo

Representa el grupo más numeroso de ecuatorianos que son genéticamente próximos a todas las poblaciones urbanas de América del Sur; poblaciones que se calculan abarcan más del 50% de todos los habitantes. Hablan español como herencia de la conquista española, aunque se han hispanizado muchos vocablos y términos de origen amerindio. Por otro lado, los ecuatorianos han emprendido un nuevo flujo migratorio hacia Europa, que es lento pero continuo. Esto significa que habrá un nuevo mestizaje dentro de las futuras generaciones de europeos.

Llama la atención que los mestizos tienen un ~70% de componente indígena amerindio nativo kichwa, siendo el más alto descrito hasta ahora. Esto significaría que somos un país mayoritariamente indígena en el cual el componente caucásico se ha diluido o dispersado a lo largo de los años.

Podría pensarse que este grado de mestizaje es similar en los países vecinos, que comparten nuestras costumbres y manifestaciones culturales.

De allí, que podríamos formular una *división etnogeográfica del subcontinente americano* de acuerdo a las tres raíces étnicas de mestizaje, en tres grandes grupos: los países andinos como Venezuela, Colombia, Perú, Bolivia y el norte de Chile, en quienes esperamos un componente amerindio nativo mayor; los países del cono sur Argentina, Chile, Uruguay y Paraguay, en los cuales habría un componente caucásico mayoritario, que posiblemente sea de los últimos dos siglos; y Brasil que por sí solo constituye un país megadiverso con un fuerte componente afroamericano.

Esta división coincide parcialmente con los estudios realizados sobre los límites genómicos de las poblaciones humanas, que agrupan genotipos de STRs autosómicos de acuerdo a la geografía y que establecieron 10 barreras genéticas, 4 de las cuales están en centro y sudamérica. Podemos afirmar que Centroamérica es más parecida a Norteamérica, que a la región subcontinental.

Los Kichwas

Se ubican a lo largo de todo el callejón interandino del Ecuador y, muy cercanos a los mestizos, constituyen el segundo grupo poblacional. Desde luego, su presencia ratifica el concepto de una América Indígena. Se conoce que antes del imperio incásico existieron poblaciones nativas originarias de Ecuador que fueron aparentemente asimiladas por los Incas, pero ¿existen en los actuales momentos descendientes de aquellas culturas originarias?

Si es así estaríamos ante la presencia de *subestructura poblacional en los kichwas actuales*, inferencia que requerirá futuros estudios poblacionales. Por otro lado, si todos los pueblos indígenas tuvieron un ancestro común no podríamos determinar con claridad si hay diferencias entre los grupos actuales. También se debería establecer qué sucedió con los predecesores.

Desde el punto de vista evolutivo, podemos formular también una *teoría sobre el flujo de las migraciones humanas en Ecuador*, las mismas que se dieron aparentemente por tres caminos: un grupo entró por el callejón interandino y son los ancestros de los kichwas actuales. Un segundo grupo entró y se ubicó en la costa ecuatoriana del Océano Pacífico y si así fue, en los actuales momentos debería haber algún grupo descendiente de ellos. Por una tercera ruta llegaron al oriente ecuatoriano y a la región amazónica pero pasaron las montañas y no volvieron, quedando fracciones de pueblos aislados por la geografía y aislados entre sí, lo que explicaría la presencia de los kichwas del oriente y a lo mejor de algunos grupos amerindios dispersos.

Analizando, la segunda ruta hacia la costa pacífica tendríamos que esperar que existiera un grupo étnico relacionado con los ancestros de los kichwas actuales y que además, hablaran algún idioma amerindio nativo;

situación que no se observa. A lo largo de toda la costa ecuatoriana no existen rastros antropológicos, de poblaciones amerindias nativas cercanas a los kichwas actuales.

Los estudios arqueológicos hallaron los restos humanos más antiguos de Ecuador en la península de Santa Elena hace ~11.000 años a.C. Sin embargo, no hay evidencias de que estos pueblos hayan subsistido o hayan emigrado, sino que aparentemente desaparecieron durante la expansión incásica. Tampoco se halla explicación sobre si estos primeros pobladores llegaron a través de la ruta continental hasta la costa como un grupo derivado de los ancestros de los amerindios kichwas actuales. Al contrario se han formulado hipótesis en las que se dice que, debido a su ubicación actual y su tradición de la pesca y la navegación, podrían ser originarios de otro sitio, a lo mejor de Oceanía.

Cabe señalar también que actualmente existe un pequeño pueblo de pescadores ubicados en el mismo sitio, en Santa Elena, que se autodefine como un grupo étnico diferente y son conocidos como los «cholos» de la costa. Hablan español, se los identifica como parte de los mestizos y viven de la pesca tradicional, desde que se les conoce. Podríamos sugerir que este pueblo tiene alguna relación de descendencia con los primeros pobladores, aunque no se descarta que sean un grupo mestizo.

Tampoco existe evidencia cultural de su cercanía con algún pueblo amerindio de la zona andina. Tampoco son similares a los mestizos de la provincia del Guayas donde se ubica geográficamente su pueblo. No están aislados pero aparentemente su fenotipo es diferente. Lo claro es que no hay evidencia de que haya algún grupo nativo amerindio que se mantenga hasta ahora, en la costa pacífica del Ecuador. Quedan aún preguntas sin responder, una de ellas sobre el origen de los primeros pobladores que se ubicaron en la península de Santa Elena y sobre la situación de sus descendientes, si los hubo.

Los Negros

Los resultados encontrados nos permiten formular también una *teoría de la mezcla negra del afroamericano*, o de su variabilidad intrapoblacional. Se ha demostrado claramente que los Negros son una población trihíbrida. Esto nos lleva a pensar en que en los actuales momentos existe en el Ecuador solo poblaciones derivadas o mezcladas, como los *mulatos*, frutos de la unión entre un caucásico y un negro y los *zambos*, descendientes de negros y amerindios. Por lo tanto, los descendientes de los negros africanos ya no deberían calificarse como negros, sino al contrario describirse como productos de una mezcla, tal como los mestizos. No es aconsejable utilizar en este caso el término *mestizo*, ya que significa la mezcla entre un amerindio y un caucásico.

Por otro lado, existen dos grandes asentamientos de origen negro en Ecuador. Uno ubicado en la provincia de Esmeraldas, en la costa ecuatoriana, y otro en la Provincia del Carchi, en la zona interandina. Aunque tie-

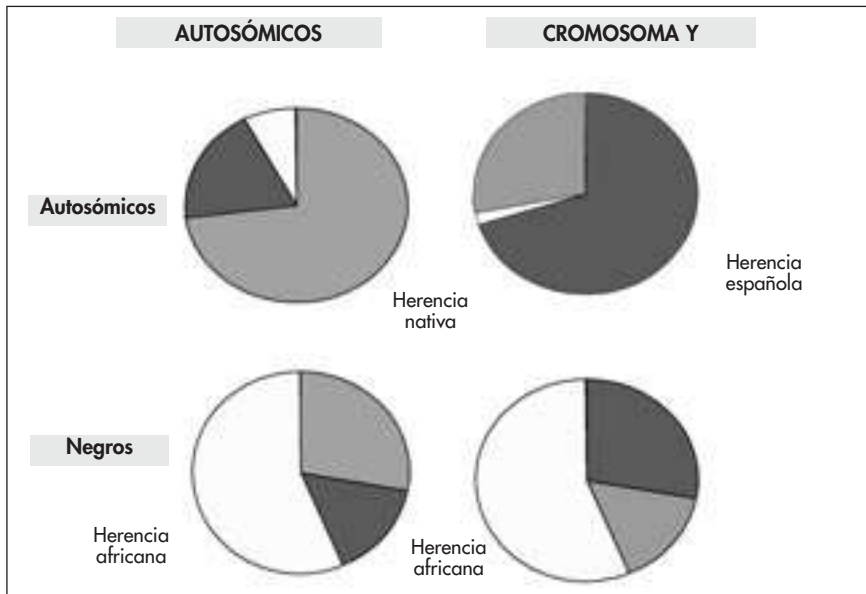


Figura VIII. Comparación del origen cromosómico de las poblaciones estudiadas.

nen un ancestro común presentan divergencias culturales. Se podría pensar que los negros del Carchi tienen un mayor componente amerindio.

Esto podría explicar las diferencias existentes entre los negros ecuatorianos y algunos de los negros afroamericanos de Estados Unidos, que tendrían un componente en la mezcla mayoritariamente caucásico *versus* el amerindio. También se tendría que diferenciar los componentes de la mezcla entre los negros y los componentes Na-Dene o Aleutianos, que probablemente existirían en Norte América.

Finalmente, se debe señalar que los estudios genéticos realizados constituyen la primera investigación formal sobre la etnogenética ecuatoriana.

CONCLUSIONES A LOS ESTUDIOS REALIZADOS

Primera

En mestizos, amerindios kichwas y negros afroamericanos, la diversidad haplotípica del cromosoma «Y» es alta y bastante próxima a uno; este parámetro es numéricamente idéntico a los parámetros forenses de información *a priori* como el poder de discriminación o el poder de exclusión. El conjunto de 12 *loci* analizados tiene amplio poder de discriminar individuos varones no relacionados en todas las tres poblaciones y se puede usar en casos forenses.

Segunda

Se ha confirmado y cuantificado con los marcadores STRs autosómicos que mestizos y afroecuatorianos son poblaciones trihíbridas. Los mestizos contienen ~73% de cromosomas autosómicos de origen amerindio, un ~19% europeo putativo y ~8% origen africano. Los afroecuatorianos se pueden estimar en el ~57% africanos, ~28% europeos y ~15% nativos americanos.

Tercera

Se observa en la mezcla una mayor contribución de los varones europeos a partir de cromosoma «Y». En mestizos las líneas europeas putativas alcanzan un ~70%, un ~2% son de origen africano y un ~28% de nativos americanos, lo que coincide con la introducción de linajes paternos durante la conquista española. En afroamericanos se observa un ~44% africanos, ~31% europeos y ~15% nativos americanos. En los kichwas el ~10% es de origen europeo putativo y un ~78% nativos americanos.

Cuarta

Mediante los STRs autosómicos se confirma que los mestizos tienen una pequeña distancia genética con los amerindios kichwas y luego, se acercan a los españoles y a las poblaciones caucasoides de la Península Ibérica y de Europa. Los kichwas, claramente nativos, se aproximan a los mestizos de la mayoría de poblaciones urbanas de los países del área andina, sobre todo en aquellos sitios donde existe una clara presencia indígena. Los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles, que a los africanos.

Quinta

Se encontraron 271 haplotipos del cromosoma «Y» diferentes. Siete haplotipos del cromosoma «Y» diferentes fueron compartidos entre kichwas y mestizos, uno entre mestizos y afroecuatorianos y uno entre kichwas, afroecuatorianos y mestizos. Este último resulta ser el haplotipo más frecuente en los europeos y, particularmente, en los españoles.

Sexta

Se confirma también por los STRs en el cromosoma «Y» que los afroecuatorianos son los más próximos a los guineanos pero están más próximos a los kichwas y a los españoles, que lo que lo están los guineanos. Los mestizos muestran una distancia pequeña a los kichwas, pero su distancia a los españoles es claramente más reducida que entre los kichwas y los españoles.

Los datos obtenidos son de enorme valor antropológico y forense, y constituyen una herramienta indispensable para trazar mejor la historia de Ecuador, en busca de los orígenes de los actuales pobladores del Nuevo Mundo.

REFERENCIAS Y FUENTES DE INFORMACIÓN:

1. CODENPE-SIDENPE-SIISE©, 2002. Available in: <http://www.codenpe.gov.ec> CODENPE means Consejo de Nacionalidades y Pueblos indígenas del Ecuador. SIDENPE means Sistema de Indicadores de Nacionalidades y Pueblos indígenas del Ecuador.
2. MOYA A. (2000). Ethnos, atlas etnográfico del Ecuador. Ministerio de Educación y Cultura, Quito, Ecuador.
3. VÁSQUEZ L, SALTOS N. (2003). Ecuador: su realidad. Fundación José Peralta.
4. GONZÁLEZ-ANDRADE F, SÁNCHEZ D, MARTÍNEZ-JARRETA B. (2003). Genetic profile of the Ecuadorian Mestizo population by using the Power-Plex 16 system kit. *Int J Forensic Sci Int.* 2003 Jul 29; 135 (1): 64-6.
5. GONZÁLEZ-ANDRADE F, SÁNCHEZ D (2004) Genetic Profile of the Quechuas (Quichuas) from Ecuador, South America, by analysis of STR loci. *Hum Biol, Oct; 76 (5): 723-30.*
6. GONZÁLEZ-ANDRADE F, SÁNCHEZ D, MARTÍNEZ-JARRETA B. (2005). DNA polymorphisms distribution on ethnic groups of Ecuador (South America). In: *Trends on DNA fingerprinting research*, Ed. Novapublishers.
7. BÄR W, BRINKMANN B, BUDOWLE B, et al (1997). DNA recommendations. Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Forensic Sci Int.* 1997 Jun 23; 87 (3): 181-4.
8. ISFG, International Society for Forensic Haemogenetics (1992). Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. *Forensic Sci Int.* 1992 Jul; 55 (1): 1-3.
9. BELL B, NIEVAS P, ABECIA E, MARTÍNEZ-JARRETA B, HINOJAL FONSECA R, MARTÍNEZ CORDERO A. (2000). Population genetics of the STR loci HUMCSF1PO, HUMF13A01, HUMFES/FPS and 12S391 in Asturias (Northern Spain) *Forensic Science Int;* 113: 21-23.
10. GONZÁLEZ-ANDRADE F. (2006). Ensayos médicos sobre genética: la genética molecular en la medicina ecuatoriana. Ed. Noción, Quito.
11. [http:// www.gep-isfg.org](http://www.gep-isfg.org)
12. SCHNEIDER, S, ROESSLI, D, and EXCOFFIER L. (2000). Arlequin: A software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.
13. [http:// cgi.uc.edu/download/haplo](http://cgi.uc.edu/download/haplo)
14. BANDELT HJ, FORSTER P, ROHL A. (1999). *Median-joining networks* for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol.* 16: 37-48.
15. [http:// www.fluxus-engineering. Com](http://www.fluxus-engineering.Com)
16. DUPANLOUP I, BERTORELLE G. (2001). Inferring admixture proportions from molecular data: extension to any number of parental populations. *Mol Biol Evol.* 18: 672-5.
17. [http:// www.yhrd.org](http://www.yhrd.org)

18. SALZANO FM. 2002. Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information. *Ann Braz Acad Sci* 74: 223-263.
19. BUILES JJ, BRAVO ML, GÓMEZ C, ESPINAL C, AGUIRRE D, GÓMEZ A, RODRIGUEZ J, CASTANEDA P, MONTOYA A, MORENO M, AMORIM A, GUSMAO L. Y-chromosome STRs in an Antioquian (Colombia) population sample. *Forensic Sci Int.* 2005 Nov 7; [Epub ahead of print].
20. YUNIS JJ, ACEVEDO LE, CAMPO DS, YUNIS EJ. Population data of Y-STR minimal haplotypes in a sample of Caucasian-Mestizo and African descent individuals of Colombia. *Forensic Sci Int.* (2005) 151(2-3): 307-13.
21. ROEWER L, CROUCHER PJ, WILLUWEIT S, LU TT, KAYSER M, LESSIG R, DE KNIJFF P, JOBLING MA, TYLER-SMITH C, KRAWCZAK M. Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. *Hum Genet.* (2005) 116(4): 279-91.
22. JOBLING MA, TYLER-SMITH C. (2003). The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nat Rev Genet.* 4: 598-612.
23. BORTOLINI MC, SALZANO FM, THOMAS MG, STUART S, NASANEN SP, BAU CH, HUTZ MH, LAYRISSE Z, PETZL-ERLER ML, TSUNETO LT, HILL K, HURTADO AM, CASTRO-DE-GUERRA D, TORRES MM, GROOT H, MICHALSKI R, NYMADAWA P, BEDOYA G, BRADMAN N, LABUDA D, RUIZ-LINARES A. (2003). Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am J Hum Genet.* 73: 524-39.
24. ZEGURA SL, KARAFET TM, ZHIVOTOVSKY LA, HAMMER MF. (2004). High-resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol Biol Evol.* 21: 164-75.
25. BELEZA S, GUSMAO L, LOPES A, ALVES C, GOMES I, GIOZUELI M, CALAFELL F, CARRACEDO A. Amorim A Microphylogeography and demographic history of Portuguese male lineages. *Ann Hum Genet* (in press).
26. BOSCH E, CALAFELL F, SANTOS FR, PÉREZ-LEZAUN A, COMAS D, BENCHEMSI N, TYLER-SMITH C, BERTRANPETIT J. (1999). Variation in short tandem repeats is deeply structured by genetic background on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet.* 65: 1623-38.
27. ABE-SANDES K, SILVA WA JR, ZAGO MA. (2004). Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-Brazilian populations. *Hum Biol.* 76: 77-86.
28. FLORES C, MACA-MEYER N, GONZÁLEZ AM, OEFNER PJ, SHEN P, PÉREZ JA, ROJAS A, LARRUGA JM, UNDERHILL PA. (2004). Reduced genetic structure of the Iberian peninsula revealed by Y-chromosome analysis: implications for population demography. *Eur J Hum Genet.* 12: 855-63.
29. PAREDES M, CRESPILO M, LUQUE JA, VALVERDE JL. (2003). STR frequencies for the PowerPlex 16 System Kit in a population from Northeast Spain. *Forensic Sci Int.* 135: 75-8.
30. ALVES C, GUSMAO L, LÓPEZ-PARRA AM, SOLEDAD MESA M, AMORIM A, ARROYO-PARDO E. (2005). STR allelic frequencies for an African population sample (Equatorial Guinea) using AmpFI STR Identifier and Powerplex 16 kits. *Forensic Sci Int.* 148: 239-42.
31. SLATKIN M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 139: 457-62.

32. SHRIVER MD, PARRA EJ, DIOS S, BONILLA C, NORTON H, JOVEL C, PFAFF C, JONES C, MASSAC A, CAMERON N, BARON A, JACKSON T, ARGYROPOULOS G, JIN L, HOGGART CJ, McKEIGUE PM, KITTLES RA. (2003). Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum Genet.* 112: 387-99.
33. MARTÍNEZ MARIGNAC VL, BERTONI B, PARRA EJ, BIANCHI NO. (2004). Characterization of admixture in an urban sample from Buenos Aires, Argentina, using uniparentally and biparentally inherited genetic markers. *Hum Biol.*; 76: 543-57.
34. LOYO MA, DE GUERRA DC, IZAGUIRRE MH, RODRÍGUEZ-LARRALDE A. (2004). Admixture estimates for Churuguara, a Venezuelan town in the State of Falcon. *Ann Hum Biol.* 31: 669-80.
35. CIFUENTES L, MORALES R, SEPÚLVEDA D, JORQUERA H, ACUNA M. (2004). DYS19 and DYS199 loci in a Chilean population of mixed ancestry. *Am J Phys Anthropol.* 125: 85-9. Bonilla C, Shriver MD, Parra EJ, Jones A, Fernandez JR. (2004a) Ancestral proportions and their association with skin pigmentation and bone mineral density in Puerto Rican women from New York city. *Hum Genet.* 115: 57-68.
36. BONILLA C, PARRA EJ, PFAFF CL, DIOS S, MARSHALL JA, HAMMAN RF, FERRELL RE, HOGGART CL, McKEIGUE PM, SHRIVER MD. (2004b). Admixture in the Hispanics of the San Luis Valley, Colorado, and its implications for complex trait gene mapping. *Ann Hum Genet.* 68: 139-53.
37. DE SOUZA IR, MUNIZ YC, DE M SALDANHA G, ALVES JUNIOR L, DA ROSA FC, MAEGAWA FA, SUSIN MF, DE S LIPINSKI M, PETZL-ERLER ML. (2003). Demographic and genetic structures of two partially isolated communities of Santa Catarina Island, southern Brazil. *Hum Biol.* 75: 241-53.
38. BERTONI B, BUDOWLE B, SANS M, BARTON SA, CHAKRABORTY R. (2003). Admixture in Hispanics: distribution of ancestral population contributions in the Continental United States. *Hum Biol.* 75: 1-11.

NORMAS DE PUBLICACIÓN

1. La revista *Ciencia Forense* considera para su publicación aquellos trabajos relacionados con la Medicina Forense en sus distintas áreas (Derecho Médico y Deontología, Tanatología, Patología Forense, Sexología Forense, Medicina Legal en la Infancia, Psiquiatría Forense, Genética Forense, Odontología Forense, Medicina Legal Laboral y Toxicología Forense).

2. La revista se dividirá en las siguientes secciones:

- REVISIONES. Artículos en los que se realice una puesta al día sobre temas de actualidad o de gran interés para la comunidad forense. Serán trabajos encargados por el Comité de Redacción. Los autores que espontáneamente deseen colaborar en esta sección pueden solicitarlo al director de la revista.
- ORIGINALES. Trabajos de investigación sobre cualquier tema de interés médico-legal.
- ORIGINALES BREVES. Trabajos de investigación o bien exposición de casos, que por sus características puedan ser publicados de forma abreviada. Deberán tener una extensión máxima de hasta 8 páginas DIN A-4, incluidas las tablas, figuras y referencias bibliográficas.
- OPINIÓN Y CUESTIONES A DEBATE. La revista brinda una oportunidad en esta sección al intercambio y a la discusión de ideas y opiniones sobre cuestiones polémicas o que necesiten de una reflexión profunda. Cualquier autor que espontáneamente desee colaborar en esta sección puede solicitarlo al director de la revista. La estructura del trabajo no ha de seguir el esquema que se exige en el caso de un artículo original de investigación.
- Otras secciones (NOTICIAS, CALENDARIO DE ACTIVIDADES, NOVEDADES EDITORIALES, etc.).

3. Los trabajos que se envíen para su publicación en la revista, habrán de ser inéditos y no estar pendientes de publicación en otra revista.

4. Se remitirán mecanografiados a doble espacio, por una sola cara, en papel DIN A-4, con 30 a 35 líneas de entre 60 y 70 espacios en cada página.

5. Se presentarán por triplicado, incluyendo tres copias de la iconografía y una copia en disquete indicando el nombre del primer autor, ini-

cio del título y programa utilizado. Serán precedidos de una hoja en la que se haga constar: título del trabajo, nombre del autor (o autores), dirección, número de teléfono y de fax; así como dirección de correo electrónico, si procede, situación académica o profesional y nombre de la institución académica a la que pertenece. Se acompañará de una carta de presentación en la que se solicita el examen de los mismos y la sección de la revista donde desearía que se publicase; en ella deben exponerse claramente que el trabajo no ha sido publicado previamente, que todos los autores están de acuerdo en su contenido y que ceden los derechos de publicación a la revista *Ciencia Forense*, de la Institución «Fernando el Católico».

TEXTO

Se recomienda la redacción de texto en estilo impersonal. Se estructurará el trabajo en los siguientes apartados: Resumen, Introducción, Material y Método, Resultados, Discusión y Bibliografía.

RESUMEN

Debe adjuntarse en español y en inglés. La extensión del resumen no ha de superar las 250 palabras, ni ser inferior a 150. El contenido del resumen estructurado para los originales se divide en cuatro apartados. Introducción, Material y Métodos, Resultados, y Conclusiones. En cada uno de ellos se ha de escribir, respectivamente, el problema motivo de investigación, la manera de llevar a cabo la misma, los resultados más destacados y las conclusiones que se derivan de estos resultados. Al final del resumen deben figurar hasta 6 palabras clave de acuerdo con Medical Subject Headings de Index Medicus.

INTRODUCCIÓN

Será breve y debe proporcionar sólo la explicación necesaria para que el lector pueda comprender el texto que sigue a continuación. No debe contener tablas ni figuras. Debe incluir un último párrafo en el que se expongan de forma clara el o los objetivos del trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este apartado se indica el tiempo que ha durado, las características de la serie estudiada, el criterio de selección, las técnicas utilizadas, proporcionando detalles suficientes para que el estudio pudiera repetirse sobre la base de esta información. Se han de escribir con detalle los métodos estadísticos.

RESULTADOS

Relatan, no interpretan, las observaciones efectuadas con el método empleado. Estos datos se complementan con tablas y figuras, considerando que no ha de repetirse en el texto la misma información.

DISCUSIÓN

Los autores tienen que exponer sus propias opiniones sobre el tema. Destacan el significado y aplicación práctica de los resultados; las consideraciones sobre una posible inconsistencia de la metodología y las razones por la cuales pueden ser válidos los resultados, la relación con publicaciones similares y comparación entre áreas de acuerdo y desacuerdo y las indicaciones y directrices para futuras investigaciones. Por otra parte debe evitarse que la discusión se convierta en una revisión del tema y se repitan los conceptos que han aparecido en la introducción. Tampoco deben repetirse los resultados del trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Cuando se considere necesario se citarán personas, centros o entidades que hayan colaborado o apoyado la realización del trabajo. Si existen implicaciones comerciales, también deben figurar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Se presentarán según orden de aparición en el texto con la correspondiente numeración correlativa. En el artículo constará siempre la numeración de la cita entre paréntesis, vaya o no vaya acompañado del nombre de los autores; cuando se mencionen éstos en el texto, si se trata de un trabajo realizado por dos, se mencionarán ambos y si se trata de varios se citará el primero seguido por la expresión *et al.*

En lo posible se evitarán las frases imprecisas como citas bibliográficas. No pueden emplearse como tales «observaciones no publicadas» ni «comunicación personal», aunque sí se pueden incluir así en el texto.

Las referencias bibliográficas deben comprobarse por comparación con los documentos originales, indicando siempre las páginas inicial y final. A continuación se dan unos ejemplos de formatos de citas:

Artículos de revista:

- CAPLAN RM. A fresh look at some lab ideas in counting medical education. *Möbius* 1983, 3 (1): 55-61.

Libros:

- CAMPBELL DT, STANLEY JC. Experimental and quasi experimental designs for research. Chicago: Rand McNally and Company, 1963.

6. Las fotografías se seleccionarán cuidadosamente, procurando que sean de buena calidad y omitiendo las que no contribuyan a una mejor comprensión del texto. Se aceptarán diapositivas o fotografías en blanco y negro, en casos especiales y previo acuerdo con los autores, se aceptarán diapositivas en color. El tamaño será 9x12 cm. Es muy importante que las copias fotográficas sean de calidad inmejorable. Las fotografías irán numeradas al dorso mediante una etiqueta adhesiva, indicando además el nombre del primer autor; con una flecha se señalará la parte superior; debe procurarse no escribir en el dorso ya que se producen surcos en la fotografía. Las ilustraciones se presentarán por separado, dentro de un sobre; los pies de las mismas deben ir mecanografiados en hoja aparte. Siempre que se considere necesario se utilizarán recursos gráficos para destacar la parte esencial.

7. Las gráficas (hasta un máximo de seis) se obtendrán a partir del ordenador con impresión de alta calidad. Se tendrá en cuenta las mismas normas del apartado anterior. Las fotografías y gráficas irán numeradas de manera correlativa y conjunta como figuras.

8. Las tablas se presentarán en hojas aparte que incluirán: la numeración de la tabla con caracteres arábigos, enunciado correspondiente; una tabla por hoja. Se procurará que sean claras y sin rectificaciones, las siglas y abreviaturas se acompañarán siempre de una nota explicativa al pie. Si una tabla ocupa más de un folio se repetirán los encabezamientos en la hoja siguiente. La revista admitirá tablas que ocupen como máximo una página impresa de la misma. Cuando se haya efectuado un estudio estadístico se indicará al pie de la tabla las técnicas empleadas y el nivel de significación, si no se hubiera incluido en el texto de la tabla.

9. El Comité de Redacción acusará recibo de los trabajos enviados a la revista e informará acerca de su aceptación. Siempre que el Comité sugiera modificaciones, los autores deberán remitir, junto con la nueva versión del artículo y tres copias, una carta que se expongan de forma detallada las modificaciones efectuadas, tanto las sugeridas por el propio Comité como las que figuran en los informes de los expertos consultados.

REVISTA CIENCIA FORENSE

NÚMEROS PUBLICADOS:

Volumen 1 (1998):
MONOGRÁFICO «MUERTE SÚBITA»

Volumen 2 (1999):
MONOGRÁFICO «MALOS TRATOS EN LA INFANCIA»

Volumen 3 (2001):
MONOGRÁFICO «MEDICINA LEGAL Y GERIATRÍA»

Volumen 4 (2002):
MONOGRÁFICO «DELITOS SEXUALES»
SECCIÓN ESPECIAL:
AVANCES EN GENÉTICA FORENSE I

Volumen 5-6 (2003-2004):
MONOGRÁFICO «DROGODEPENDENCIAS Y MEDICINA LEGAL»
SECCIÓN ESPECIAL:
AVANCES EN GENÉTICA FORENSE I (cont.)

Volumen 7 (2005):
MONOGRÁFICO «ODONTOLOGÍA FORENSE»

* * *

COLECCIÓN «ORFILA ROTGER»

Número 1:
González- Andrade F, Martínez-Jarreta B.
Técnicas Instrumentales en Genética Forense.
Zaragoza, 2001.

Número 2:
Vásquez P, Martínez-Jarreta B.
Documentos Médico-legales.
Zaragoza, 2002.

Revistas que se reciben en intercambio con *CIENCIA FORENSE*:

- Anales de Derecho. Murcia.
- Anales de la Universidad de Alicante. Alicante.
- Annali del 'Istituto Superiore di Sanita. Roma.
- Archivos de la Facultad de Medicina de Zaragoza. Zaragoza.
- Atti dell'Accademia medico-chirurgica di Perugia e Annali della Facolta di Medicina. Perugia (Italia).
- Clínicas Urológicas de la Complutense. Madrid.
- Conferencias y Comunicaciones. Anales de la Real Academia de Medicina. Zaragoza.
- Fontilles. Revista de Leprología. Fontilles (Alicante).
- Medicina & Historia. Revista de Estudios Históricos de las Ciencias Médicas. Barcelona.
- Medicina Militar. Revista de Sanidad de las Fuerzas Armadas de España. Madrid.
- Revista de Derecho Penal y Criminología. 2.^a época. Madrid.
- Revista Doxa. Cuadernos de Filosofía del Derecho. Alicante.
- Revista Goiana de Medicina. Goiás (Brasil).
- Seminario Médico. Jaén.
- Sesión Inaugural. Anales de la Real Academia de Medicina. Zaragoza.
- The European Journal of Psychiatry. Zaragoza.



INSTITUCIÓN «FERNANDO EL CATÓLICO» (C.S.I.C.)

Excma. Diputación de Zaragoza

Plaza España, 2

50071 Zaragoza (España)

CIENCIA FORENSE
Acuerdo de intercambio

Área: Medicina Legal y Forense

Directora: M.^a Begoña Martínez Jarreta

Secretario: José Aso Escario

Año de fundación: 1999

Periodicidad: Anual

Formato: 17 x 24 cm

Editor: Institución «Fernando el Católico»

Zaragoza (Spain)

ISSN 1575-6793

347.6(460.22)

Intercambio de Publicaciones: Tff. (34) 976 288 878 - 288 879 * Fax 288 869

E-mail: interch@ifc.dpz.es * [http:// ifc.dpz.es](http://ifc.dpz.es)

Correspondencia: Institución «Fernando el Católico», Excma. Diputación de Zaragoza, Intercambio de Revistas. Plaza de España, n.º 2. - 50071 Zaragoza (España).

Rogamos remitan este impreso cumplimentado

Revista o colección:

ISSN o ISBN Periodicidad:

Materia: Formato:

Entidad:

Dirección:

.....

CP: Ciudad: País:

Teléfono: Fax:

Referencia: E-mail:

Fecha

Firma

Fdo.:

