

Revista científica CENTROS
30 de Junio de 2015 – Vol. 4 N° 1
ISSN: 2304-604X pp. 34-45

Recibido: 20/3/2015; Aceptado: 20/5/15

Se autoriza la reproducción total o parcial de este artículo, siempre y cuando se cite la fuente completa y su dirección electrónica.

<http://www.revistacentros.com>

indexada en



http://www.latindex.unam.mx/buscador/ficPais.html?opcion=1&clave_pais=33



EFFECTO DEL PORCENTAJE DE ETANOL EN EL CRECIMIENTO LARVAL DE *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

¹Miguel A. Osorio-Arenas y ²Alonso Santos Murgas

¹Programa Centroamericano de Maestría en Entomología; Vicerrectoría de Investigación y Postgrado; Universidad de Panamá. ^{1,2}Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología; Departamento de Zoología; Museo de Invertebrados G. B. Fairchild; Universidad de Panamá. E-mail: miguel0802@gmail.com; alonso.santos@up.ac.pa

RESUMEN

Se realizó un estudio con moscas de la especie *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) con el propósito de determinar el efecto en el crecimiento de sus larvas expuestas a diferentes concentraciones (5%,10%,15%) de etanol. El estudio se realizó en el Programa Centroamericano de Maestría en Entomología de la Universidad de Panamá, en condiciones de laboratorio, durante los días, 10 al 18 de diciembre de 2012. Por medio del ANOVA de una vía, se observó una diferencia significativa en el crecimiento de las larvas frente a los tratamientos, con respecto al control. Una

disminución en el crecimiento de las larvas de *Lucilia eximia*, siendo esta de importancia forense, producto del efecto del etanol, podría provocar resultados erróneos en las estimaciones de los intervalos postmortem si fuese usada en casos de investigación judicial.

PALABRAS CLAVES

Intervalo postmortem, entomología forense, entomotoxicología.

ABSTRACT

A study was carried out with fly species *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) in order to determine the effect on growth of larvae exposed to different concentrations (5%, 10%, 15%) ethanol. The study was conducted in the Central Masters Program in Entomology from the University of Panama, under laboratory conditions, during the day, 10 to 18 December 2012. Through one-way ANOVA, a significant difference was observed in the larval growth compared to treatment compared to control. A decrease in the growth of the larvae of *Lucilia eximia* this being forensically important due to the effect of ethanol may cause erroneous results in estimates of postmortem intervals if used in cases of judicial investigation.

KEYWORDS

Postmortem interval, forensic entomology, entomotoxicology.

INTRODUCCIÓN

El uso de los insectos con el fin de identificar fármacos y toxinas presentes en los tejidos de un cadáver es reciente y es llevada a cabo por la entomotoxicología, la cual es una rama de la entomología forense (Introna *et al.*, 2001). Los insectos carroñeros, al alimentarse de un cadáver pueden dejar restos (por ejemplo, excrementos, pupas, y exuvias) los cuales a veces se puede utilizar como muestra en examen toxicológico, cuando las muestras tradicionales, tales como sangre, orina o tejido muscular no están disponibles (Beyer *et al.*, 1980, Kintz *et al.*, 1990, Levine *et al.*, 2000).

Los estudios muestran que el uso antes de la muerte de diversos fármacos y toxinas pueden afectar las tasas de desarrollo de larvas, resultando en estimaciones inexactas de intervalos postmortem (PMI) basado en el desarrollo del insecto (Goff *et al.*, 1992, Bourel *et al.*, 1999b). Hay pocos datos sobre los efectos de las drogas y toxinas en el desarrollo del insecto carroña.

La importante de la entomotoxicología se basa en la investigación de los efectos de los fármacos y las toxinas en el desarrollo de artrópodos (Goff y Lord 1994). Drogas como la cocaína, fenobarbital y heroína, se han detectado en insectos que se alimentan de carroña. Los datos son escasos en la detección de numerosas otras drogas, incluyendo el etanol.

El etanol, o alcohol etílico, es el alcohol contenido en las bebidas como el vino, la cerveza y los licores. También se la conoce el consumo de alcohol o alcohol de grano. La fermentación de azúcares por levaduras es la más antigua química orgánica sintética producida por el hombre (Morrison y Boyd 1983). El alcohol es euforigénico del sistema nervioso central (CNS) y depresor respiratorio, así como, también induce la tolerancia y la dependencia física (adicción) (Garriot 1996).

El etanol tiene gran miscibilidad. Pasa a través de la mucosa intestinal y entra en la sangre rápidamente. Algunos alcoholes se absorbe en el estómago, pero el sitio principal de absorción es el intestino delgado. Después de que se absorbe, se distribuye uniformemente por todo el cuerpo en varios órganos en proporción al contenido de agua de cada uno. El etanol puede ser excretado en la orina sin cambios, exhalado de los pulmones, y se excreta sin metabolismo a través de la piel. El hígado metaboliza el noventa por ciento del etanol absorbido por el cuerpo (Fenton 2002).

El etanol puede ser detectado en los cuerpos de las personas que han muerto sin importar la causa, pero tiene su mayor incidencia en las muertes por circunstancias violentas (Norton *et al.*, 1982, Baselt y Cravey 1980, Garriott 1993). El etanol es también una de las causas principales de muerte por envenenamiento (Garriott *et al.*, 1982,

Taylor y Hudson 1977, Caplan *et al.*, 1985). La detección de alcohol en los tejidos puede proporcionar información importante de las circunstancias de la muerte de un individuo.

Son pocos los estudios conocidos sobre este aspecto de la entomología forense. Solo se ha encontrado un trabajo sobre el efecto de la ingestión de etanol antes de la muerte en el patrón de desarrollo y sucesión de insectos en la carroña (Tabor *et al.*, 2005).

El objetivo de este estudio es determinar el efecto en el crecimiento de las larvas de *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) expuestas a diferentes concentraciones (5%,10%,15%) de etanol. El conocimiento sobre el efecto del etanol en el crecimiento de las larvas de importancia forense, es una información vital al momento de realizar las estimaciones postmortem. En Panamá, son pocos los trabajos realizados en el área de las ciencias forense y en especial en entomología forense, las aportaciones de este trabajo serán bases para investigaciones futuras en esta materia.

METODOLOGÍA

Dentro de los laboratorios de la Maestría en Entomología de la Universidad de Panamá se preparó una solución madre de agua destilada y etanol al 95 %, luego tres soluciones en concentraciones de (5%, 10%, y 15% etanol) la cual se utilizó para tratar la carne molida de res (sustrato utilizado para alimentación y crecimiento de las larvas), cada concentraciones de etanol presentaba una replica, más una control o testigo. Se utilizaron cuatrocientos veinte gramos de carne molida de res divididas en siete bolsas Ziploc ® 32 oz (SC Johnson & Son, Inc., Racine, WI) cada una de ella con 60 gramos (Fig. 2A). Luego se vertió en cada bolsa que contenía la carne las diferentes concentraciones de etanol hasta que la cubriera en su totalidad, exceptuando el control. Los Ziploc ® se sellaron se amasaron y se mezclaron a mano (Fig.2B) luego se colocaron en un refrigerador. Después de un período de veinticuatro horas, el exceso de solución se vertió fuera de la bolsa. La carne se extrajo del Ziploc ® y se colocó en papel aluminio dentro de envases de plástico con un revestimiento de arena de aproximadamente una pulgada (Fig.2E). Parte de la carne molida de res no tratada, se utilizó como sustrato para la oviposición de las moscas de *Lucilia eximia* y obtener los

huevos. Los racimos de huevos (aproximadamente 120 huevos) se colocaron en la carne por cada envase (Fig.2C). Se marcaron los envases y colocaron dentro de una cámara climática con temperatura promedio de 28.46 °C y 34.40 % de humedad relativa, bajo luz constante.

Los huevos se observaron cada hora para determinar el tiempo de eclosión inicial ($t = 0$) para cada envase. Una vez se dé la eclosión de los huevos, será extraído el papel aluminio de la carne y colocada nuevamente en los envases los cuales fueron tapados con medias delgadas de mallas cortadas y amoldadas a los envases, este tipo de material permite la transferencia de oxígeno a las larvas.

Las muestras de larvas se recogerán cada ocho horas empezando desde la eclosión del huevo ($t = 0$) pasando por la etapa de alimentación, hasta la pupa. Un muestreo consistirá en tres larvas seleccionadas al azar por taza para un total de 21 larvas por muestra para saber su estadio. Las larvas se colocan directamente en fijador Kholes hasta una hora antes del tiempo de muestreo siguiente. El fijador causa en las larvas una extensión por completo de manera que se puedan medir. Longitud y estadio (se determina por el número de espiráculos posteriores) se registraron para cada larva (Fig.2G). El muestreo de larvas continuo hasta que el sustrato (carne molida) se agotó o hasta que el 90% de los individuos hayan migrado fuera de la carne para pupar (Fig.2I).

Por medio del programa STATISTICAL 7, se realizó una transformación de los datos con la función matemática Arcotangente (ArcTan), para cumplir con el supuesto de homogeneidad; realizado esto, se analizó por medio de un ANOVA simple el efecto entre los tratamientos y el control. Se realizó un análisis de Dunnett de los datos de desarrollo de *Lucilia eximia*, basados en la longitud larval frente a la concentraciones (5%,10%,15%) de carne molida etanol-tratada y no tratada.

RESULTADOS

En total 105 especímenes de *Lucilia eximia* fueron examinados, para determinar su longitud y estadio larval. La temperatura promedio a la que se sometió el estudio fue 28.46°C y una humedad relativa de 34.40%. El desarrollo promedio por estadio de las larvas de *L. eximia* alimentadas de carne molida con etanol en las tres concentraciones y el control en condiciones de laboratorio se muestran en el Cuadro N°.1 y 2.

Cuadro N.º. 1. Efectos del etanol en el desarrollo larval de <i>Lucilia eximia</i> en los diferentes tratamientos y el control durante el estudio.					
MUESTRA	DIA	HORA	T°	HR	OBSERVACIONES
0	0	10:15 p. m.	31°C	28%	Movimiento de las larvas dentro del corion, segmentación definida, sin eclosión (Fig. 2D).
0	0	11:15 p. m.	31.4°C	28%	Indicios de segmentación en los huevos de las carnes tratadas con alcohol (5%, 10%, 15%).
2	1	4:08 p. m.	29.5°C	30%	Tratamiento 5%: Larvas tamaños levemente similares a el control pero mas pequeñas (segundo estadio).
3	2	12:01 a. m.	25.5°C	43%	Tratamiento 5%: Larvas levemente mas pequeñas al control pero de segundo estadio. Tratamientos 10% y 15%: Larvas de segundo estadio y larvas muertas. Control: Larvas de tercer estadio. (Fig. 2H)
4	2	8:10 a. m.	29°C	29%	Tratamiento 5%: Larvas de segundo a tercer estadio. Tratamiento 10%: Larvas de segundo estadio. Masas de huevos y larvas muertos y oscurecidos producto del alcohol (Fig. 2G). Tratamiento 15%: Larvas oscurecidas, muertas en segundo estadio de desarrollo. (Fig. 2F). Control: larvas migraban para pupación.
5	3	4:12 p. m.	30.3°C	31%	Tratamiento 5%: Larvas de tercer estadio alimentándose, sin migrar. Tratamientos 10% y 15%: Eclosión tardía, presencia de una larva viva. Control: Movimiento debajo de la arena posicionándose para
6	Tratamiento 5%: Larvas enterradas en proceso de pupación (Fig. 2I). Tratamientos 10% y 15%: Crecimiento detenido en el segundo estadio, larvas no lograron sobrevivir. Control: Continuaron su desarrollo hasta adulto.				

Cuadro N.º. 2. Desarrollo promedio en milímetros por estadio en las larvas de <i>Lucilia eximia</i> durante el estudio				
Tamaño promedio de larvas por estadio (mm)	Tratamientos			Control
	5%	10%	15%	
Larva 1	1.78	1.4	1.17	1.97
Larva 2	3.7	1.83	1.21	3.08
Larva 3	7.79	0	0	8.9

El diseño completamente aleatorizado de un factor calculado sobre el control y los tratamientos para determinar el efecto en el crecimiento de las larvas con respecto a las concentraciones de etanol, donde $F(3, 101) = 38.246$ $p < 0,05$; indica que existe diferencia significativa. La prueba de comparación múltiple de Dunnett reveló que sólo existe diferencia

significativa entre las concentraciones 10% y 15% tratados con etanol $p < 0,05$, tanto el control y la concentración 5% no tuvo efecto.

DISCUSIÓN

Los comportamientos de alimentación y oviposición de los insectos consumidores de carroña dependen grandemente de las condiciones ambientales a las que están expuestos, dichas conducta de oviposición conjuntamente con las de desarrollo son las que brindan las bases a las estimaciones de intervalos postmortem (PMI). Tabor *et al.*, (2005) demostraron que las larvas que se alimentan de los tejidos de cerdos que habían sido tratadas con etanol antes de la muerte (entre 15 o 17%) requiere aproximadamente 11,9 h más, en promedio, para llegar a la fase de pupa, que larvas que se alimentan de los tejidos de cerdo no tratados.

El presente estudio se demostró el efecto de las concentraciones de etanol en el desarrollo de las larvas de *L. eximia*, observado (Fig.1) donde, concentraciones de 10% de etanol disminuyen el crecimiento larval, lo que difiere con Tabor *et al.*, (2005), en su estudio realizado en *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae), que sugiere concentraciones de etanol superiores al 10% w/v, es decir, 15 y 17% producen una disminución en el crecimiento de *P. regina*. En el trabajo realizado por Monthei (2009), sobre *P. regina* indica el efecto del etanol como disuasorio de comportamiento de alimentación y desarrollo, el cual concuerda con el presente trabajo, ya que la muestra 5 luego de no encontrar larvas vivas en las concentraciones de 10 % y 15%, se presentan larvas de segundo estadio, lo que según Monthei, (2009) se debe a una disminución en la concentración del etanol a causa de su evaporación lo que permite a la larva reanudar su alimentación normal.

El tiempo que tomaron las larvas de *L. eximia* en este estudio para llegar a la fase de pupa en el control fue de 112 horas y para las larvas de tratamiento al 5% fue de 196 horas, con temperatura promedio de 28.46°C, en ambos casos no concuerda con la literatura ya que por ejemplo el tiempo requerido por *P. regina* alimentada en el estudio

de Tabor *et al.*, (2005), con lomo de cerdo sin tratar llegó a la fase de pupa en aproximadamente 11,9 horas; en el caso Anderson (2000) encontraron que las larvas tomaban entre 217-268 horas para alcanzar la fase de pupa a una temperatura constante de 23°C. Byrd y Allen (2001) encontraron que las larvas requieren un promedio de 359 y 320 horas para llegar a la etapa de pupa a temperaturas constantes de 20 y 25°C, respectivamente. Monthei (2009), con *P. regina* le tomó un máximo de 197 horas para llegar a la fase de pupa en los animales del grupo control a diferencia de este estudio donde el control tomo 112 horas en llegar a la fase pupa.

CONCLUSIONES

Este estudio proporciona información válida sobre los efectos del etanol sobre el crecimiento de larvas de *L. eximia*. Los resultados sugieren que las concentraciones de etanol menores a 10% tienen poco o ningún efecto aparente sobre el crecimiento de las larvas, sin embargo concentraciones de 10% o más, pueden afectar el desarrollo de las larvas y por lo tanto las estimaciones del PMI.

REFERENCIAS

ANDERSON, G. S. 2000. Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). *Journal of Forensic Sciences*, 45: 824-832.

BASELT, R. C., and CRAVEY, R. H. 1980. Forensic toxicology. In *Toxicology, the Basic Science of Poisons*, 2nd ed. MacMillan, New York, pg. 663.

BEYER, J. C., ENOS, W. F., and STAJIC, M. 1980. Drug identification through analyses of maggots. *Journal of Forensic Sciences*, 25: 411-412.

BOUREL, B., HEDOUIN, V., MARTIN-BOUYER, L., BECART, A., TOURNEL, G., DEVEAUX, M., and GOSSET, D. 1999b. Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Forensic Sciences*, 44: 354-358.

BYRD, J. H. and ALLEN, J. C. 2001. The development of the black blow fly, *Phormia regina* (Meigen). *Forensic Science International*, 120: 79-88.

CAPLAN, Y. H., OTTINGER, W.E., PARK, J., SMITH T. D. 1985. Drug and chemical related deaths: Incidences in the state of Maryland, 1975-1980. *Journal of Forensic Sciences*, 30: 1012-1021.

FENTON, J. 2002. *Toxicology: A Case-Oriented Approach*. CRC Press, Boca Raton, FL.

GARRIOTT, J. C., DI MAIO, V.J.M., and PETTY, C. S. 1982. Death by poisoning: a ten-year survey of Dallas country. *Journal of Forensic Sciences*, 27: 868-879.

GARRIOTT, J. C. 1993. Drug use among homicide victims. *American Journal of Forensic Medical Pathology*, 14: 51-53.

GARRIOTT, J. 1996. *Medicolegal Aspects of Alcohol*, 3rd Edition. Lawyers & Judges Publishing Co. Inc., Tucson, AZ.

GOFF, M. L. 1992. Problems in estimating the postmortem interval resulting from wrapping of the corpse: a case study from Hawaii. *Journal of Agricultural Entomology*, 9: 237-243.

GOFF, M. L. and LORD, W. D. 1994. Entomotoxicology: a new area for forensic investigation. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 15: 51-57.

KINTZ, P., GODELAR, A., TRACQUI, A., MANGIN, P., LUGNIER, A. A., and CHAUMONT, A. J. 1990. Fly larvae: a new toxicological method of investigation in forensic medicine. *Journal of Forensic Sciences*, 35: 204-207.

LEVINE, B., GOLLE, M., and SMIALEK, J. E. 2000. An unusual drug death involving maggots. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 21: 59-61.

MONTHEI, D. R. 2009. Entomotoxicological and Thermal Factors Affecting the Development of Forensically Important Flies. Tesis Doctoral. Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University.

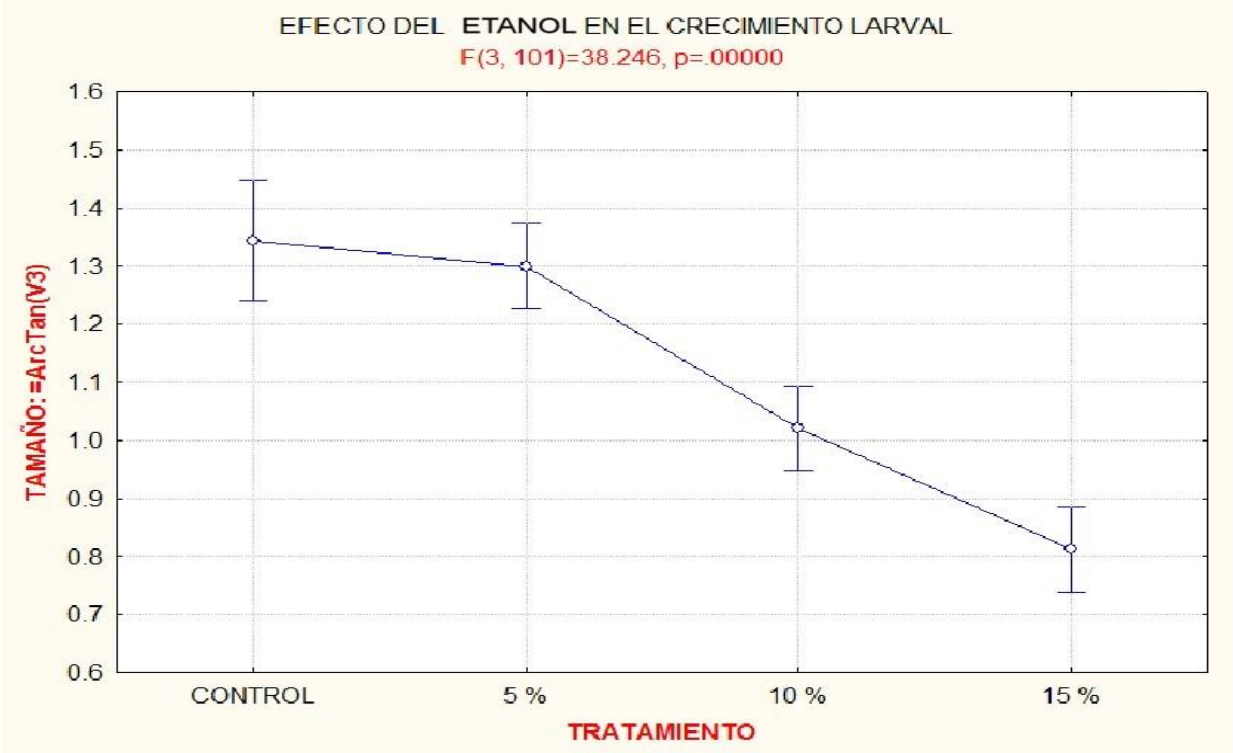
MORRISON, R. T. and BOYD, R. N. 1983. *Organic Chemistry*, Allyn & Bacon, Boston, pp. 463-464.

NORTON, L. E., GARRIOTT, J. C., and DI MAIO, V. J. M. 1982. Drug detection at autopsy: a prospective study of 247 cases. *Journal of Forensic Sciences*, 27: 66-71.

TABOR, K. L., FELL, R. D., BREWSTER, C. C., PELZER, K., and BEHONICK, G.S. 2005. Effects of antemortem ingestion of ethanol on insect successional patterns and development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 42: 481-489.

TAYLOR, J. L. and HUDSON, R. P. 1977. Acute ethanol poisoning: a two-year study of deaths in North Carolina. *Journal of Forensic Sciences*, 22: 639-653.

Fig.1. Muestra el efecto del alcohol en el crecimiento de las larvas de *Lucilia eximia*, expuesta a tres concentraciones de etanol (5%, 10%, 15% y control).



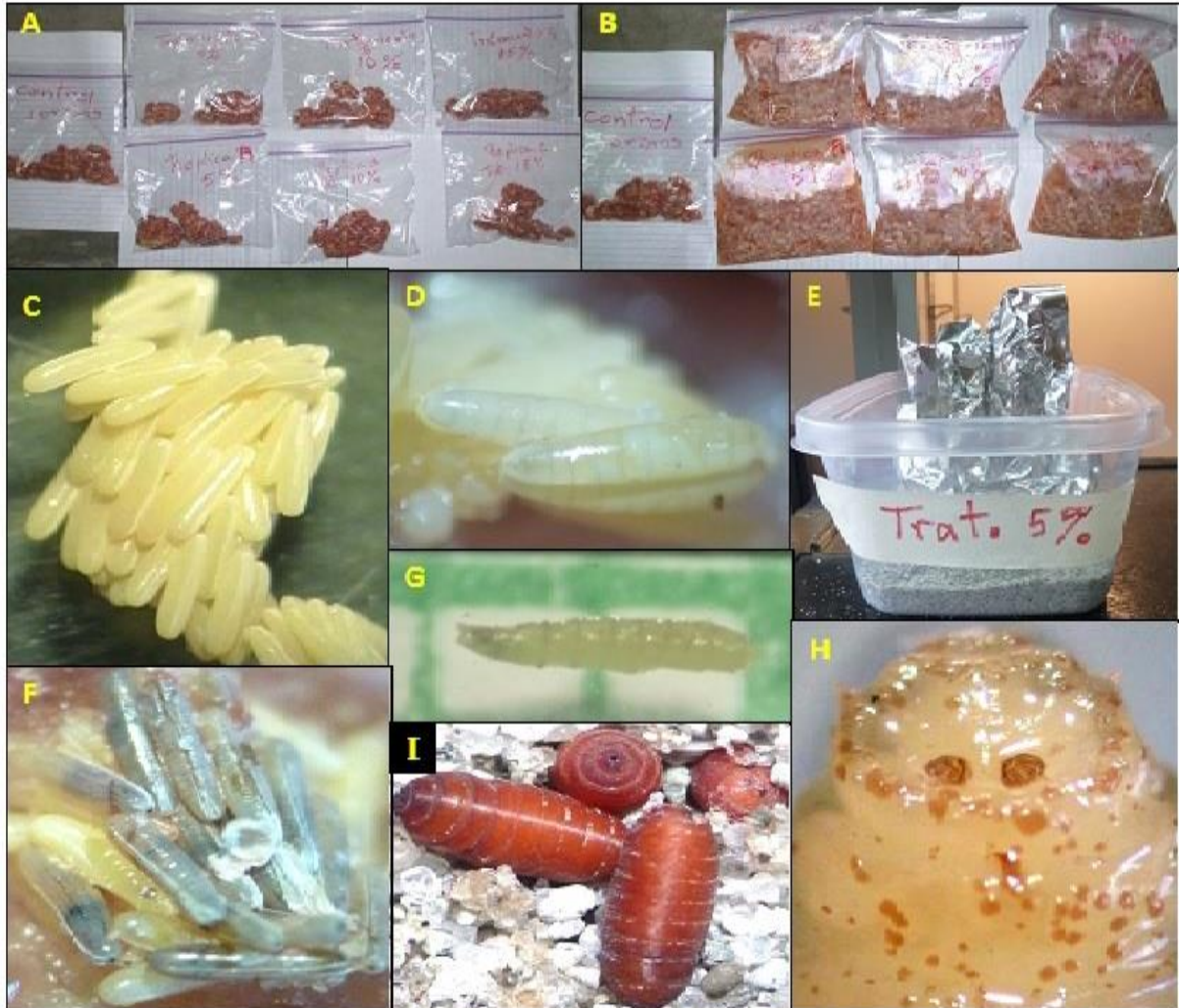


Fig.2. Plot de fotografías del estudio del Efecto del Etanol en el Crecimiento larval de *Lucilia eximia* de importancia forense.

- A. Carne molida de res sin tratamiento
- B. Carne molida de res con tratamiento
- C. Masas de huevos de *L. eximia*
- D. Segmentación de la larva dentro del huevo
- E. Tratamiento 5% con carne en papel aluminio
- F. Efecto del etanol sobre la masa de huevos
- G. Larva de primer estadio cuando era medida
- H. Espiráculos posteriores de larva de tercer estadio de *L. eximia*
- I. Pupas de *L. eximia*