

PRIMER ESTUDIO SOBRE LA REDUCCIÓN CADAVERICA EN CONDICIONES SUMERGIDAS EN LA PENÍNSULA IBÉRICA, EMPLEANDO UN MODELO DE CERDO DOMÉSTICO (*SUS SCROFA* L., 1758) EN EL RÍO MANZANARES (COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID)

J. MORALES RAYO¹
G. SAN MARTÍN PERAL¹
M. I. SALOÑA BORDAS²

Resumen: La Entomología Forense en la Península Ibérica se ha centrado hasta la fecha en los artrópodos terrestres, especialmente en los hexápodos, estando poco estudiados los artrópodos acuáticos, así como otros organismos no artropodianos. En este estudio se presentan resultados pioneros en Europa sobre reducción cadavérica en medio acuático. Durante 30 días (finales de primavera-principios de verano de 2011), se sumergieron dos cerdos domésticos muertos (*Sus scrofa* L., 1758) en el río Manzanares (Comunidad Autónoma de Madrid), en la zona del monte El Pardo perteneciente a la población de Mingorrubio. Se recogen los cambios físicos según avanzaba la descomposición, siendo diferentes a los descritos en tierra firme. Se propone un modelo de sucesión faunística durante la putrefacción mediante un estudio macroscópico y microscópico, así como se valora la importancia forense de los organismos unicelulares, todo con el fin de elaborar una base de datos que ayude a estimar el intervalo *post-mortem* en condiciones subacuáticas y poder identificar las alteraciones físicas en un cadáver sumergido en agua dulce. Cabe destacar la descripción de una nueva fase de descomposición observada en un cadáver, denominada fase de producción de

1. Dpto. de Biología (Zoología), Facultad de Ciencias UAM, Cantoblanco, C/ Darwin 2, 28049 Madrid, España, jesus.moralesr@hotmail.com, guillermo.sanmartin@uam.es

2. Dpto. de Zoología y Biología Celular Animal, Facultad Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU, Barrio de Sarriena s/n, 48940 Bilbao, España, m.salona@ehu.es

gases abdominales manteniéndose en estado sumergido, en la cual los artrópodos terrestres no tienen acceso al cadáver y se ralentiza la velocidad de reducción cadavérica. Igualmente se observa el desplazamiento de la mayoría de las especies acuáticas cuando el cadáver flota debido a los gases abdominales, favoreciendo la llegada de califóridos, los cuales no sobreviven si no acceden a un lugar adecuado y seco para pupar.

Palabras clave: Reducción cadavérica, Entomología Forense, sucesión faunística, organismos unicelulares, intervalo *post-mortem*, medio dulciacuicola.

Abstract: Research on Forensic Entomology in the Iberian Peninsula has been just focused up to now in terrestrial arthropods, in special hexapods, remaining unknown the influence of aquatic arthropods as well as other organisms. In addition, the unicellular organisms of forensic importance have been properly considered. In this research, we show pioneer results for Europe referred to the carcass reduction in an aquatic environment. For 30 days, from the end of spring until the beginning of summer, two dead tamed swines (*Sus scrofa* L., 1758) were submersed in the river Manzanares, in the proximity of El Pardo, in Mingorrubio village (Comunidad Autónoma de Madrid). In this research, the faunal succession associated to submersed carcasses during putrefaction is established, both for macroscopic and microscopic organisms. We have designed and elaborated a database that will help us to estimate the post-mortem interval and the likely contact with fresh water of a found corpse in solid ground. A special mention should be done to a new phase of decomposition observed in one of the corpses, described as the stage of production of abdominal gases during a submerged state. Moreover, air-exposed carcasses removed the presence of aquatic invertebrates and allowed the arrival of blowflies during the bloating stage which were not able to complete their development in the absence of an adequate environment where to pupariate.

Key words: Cadaveric reduction, Forensic Entomology, faunal succession, unicellular organisms, *post-mortem* interval, freshwater environment.

I. INTRODUCCIÓN

La Entomología Forense estudia los artrópodos que acuden a los cadáveres y que nos aportan información útil en investigaciones policiales y judiciales (1). Sin embargo, debería desarrollarse una nueva disciplina que abordara más grupos de organismos, pues algunos Filos no arthropodios tradicionalmente ignorados, como los equinodermos (2) o los moluscos (3), pueden intervenir en la reducción cadavérica en determinados entornos no accesibles a los insectos. Además, es frecuente centrar este tipo de estudios en los hexápodos, cuando los crustáceos son un Orden de artrópodos eminentemente acuático que interviene de forma significativa en la re-

ducción cadavérica en estos entornos (3). De forma muy especial, las bacterias acuáticas influyen directamente en este proceso (4).

La aportación más destacada de la Entomología Forense está asociada a la estimación del intervalo *post-mortem*, pues algunas de las especies de la comunidad sarcosaprófaga se asocian a etapas concretas del proceso de descomposición (5). 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, siendo necesario el conocimiento específico previo de las faunas regionales para evitar errores interpretativos (5).

Sólo una pequeña parte de los trabajos relativos a la descomposición cadavérica trata sobre el efecto de la entomofauna y de otros organismos, porcentaje que se reduce hasta el mínimo si se trata de proyectos realizados en medios acuáticos. Caben destacar el trabajo mencionado de *Merritt y Wallace, 2010* en Norteamérica (3), o el realizado por *Barrios y Wolff, 2011* en Colombia (6) entre otros. A día de hoy, no hay documentado ningún trabajo de investigación en Europa sobre sucesión faunística cadavérica en ambientes acuáticos, aunque sí se realizaron una serie de experimentos con cadáveres de cerdos sumergidos en un tanque de agua rica en diatomeas (7), es decir, en un ambiente no natural, además de un estudio sobre las heridas producidas por insectos en un cadáver encontrado en un río (8).

Cuando los restos cadavéricos se encuentran sumergidos en agua, la sucesión es muy diferente a la ocurrida en tierra firme, dado que el agua actúa de barrera a la colonización de los dípteros necrófagos, principales responsables de la reducción cadavérica en medio terrestre (3). El proceso está influenciado por muchos factores, como el tipo de cuerpo acuático (lago, río, estuario, océano, etc), la estación climática, la temperatura del agua, la fauna o la zona bioclimática (3). El proceso de descomposición, además, se retarda debido a que la temperatura corporal se pierde más rápido que en el aire.

El objetivo de este trabajo es elaborar un estudio de sucesión faunística en el Río Manzanares de la Comunidad Autónoma de Madrid asociada a la descomposición de dos cerdos domésticos (*Sus scrofa*), modelo animal más semejante en la putrefacción al ser humano (9), con el fin de ayudar a establecer el intervalo *post-mortem* en este río, así como observar si existe algún tipo de patrón en la aparición de organismos unicelulares.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

El proyecto de investigación fue realizado en el curso medio del Río Manzanares, en la zona de Mingorrubio (coordenadas: 40° 32' 122 N 3° 46' 5022 O; en decimal: 40.553611°, -3.780556°, altura 690 metros), el cual se extiende alrededor del Monte El Pardo, una zona boscosa situada al norte

del municipio de Madrid. Está considerado como el bosque mediterráneo más importante de la Comunidad de Madrid. Respecto al río Manzanares, su riqueza taxonómica varía de 17 a 37 taxones, según la zona donde se mida ésta. Se observa un patrón de evolución longitudinal en el que la riqueza, abundancia de macroinvertebrados y diversidad aumentan rápidamente desde la cabecera, alcanzando los valores máximos en el tramo medio, zona donde se desarrolló el presente estudio, para disminuir bruscamente en la desembocadura (10). Nuestro estudio se llevó a cabo durante la primavera/verano de 2011, en el período comprendido desde el día 6 de Junio hasta el día 6 de Julio de ese mismo año (duración de 30 días).

Para el desarrollo de este estudio, se sumergieron los cadáveres de dos cerdos domésticos de 5 kg aproximadamente cada uno adquiridos en una granja situada en Zamora, los cuales tenían 15 días al ser sacrificados. Ambos cerdos fallecieron en la finca zamorana de una estocada en el corazón a las 10.00 am, la cual nos servirá como la causa de la muerte en la simulación de un hipotético caso. El mismo día de la muerte se inició la experimentación (día 0), a las 18.00 pm, asegurando ningún tipo de contaminación por parte de dípteros y sin previa refrigeración. Los cerdos se metieron en jaulas metálicas para que el proceso no se viera alterado por los vertebrados (11) y así observar sólo el efecto de los invertebrados y de los organismos unicelulares. Estas jaulas se amarraron a un árbol en un caso y a una argolla en otro con cuerdas con gran resistencia a la fuerza elástica, para que no fueran arrastradas por la corriente y poder sacarlas los días de muestreo una vez se sumergiesen en el río. Cada uno de ellos fue colocado en una zona donde la columna de agua sufría pocos movimientos y fueron separados por una distancia de unos 50 metros, con la diferencia de que uno de ellos fue colocado al lado de una pequeña cascada (un metro de altura aproximadamente), la cual provocaba una pequeña agitación en el área donde se encontraba ese sujeto experimental (ver Figuras 1 y 2). Cada una de las jaulas tenía un fondo suficientemente profundo para que las especies acuáticas quedaran encerradas en él una vez se tirase de la cuerda para proceder al muestreo. La fauna macroscópica recolectada era conservada en etanol de 70°, a excepción de las larvas de dípteros, que se conservaron en etanol de 80°. Posteriormente se procedía al raspado de distintas zonas del cuerpo y a la recogida de agua estancada en el fondo de la jaula para su posterior análisis en el laboratorio. Todos los muestreos se realizaron a las 18.00 p.m. aproximadamente, siendo el primero el 9 de Junio, tres días después de la colocación de los cerdos en el río, al que llamaremos día 3 (D3) y así sucesivamente, partiendo siempre del día de origen o día 0 (D0, 6 de Junio) para la enumeración. Durante las tres primeras semanas se realizó el muestreo dos veces (D3 y D7, D10 y D14, D17 y D21), mientras que en las dos últimas se llevó a cabo sólo una vez (D24 y D30).

Para el trabajo de campo fue preciso diseñar un protocolo específico, partiendo del uso de indumentaria adecuada para el trabajo de campo, protegida por una bata, gafas de laboratorio, guantes de látex y mascarilla, para después desplazar la jaula metálica y depositarla en tierra firme. Se inicia

con la realización de un registro por fotografías realizadas mediante una cámara réflex Canon EOS 40D, a excepción de algún caso que se utilizó una cámara digital Olympus FE-47, para tener registro de los cambios de descomposición producidos en los cerdos a lo largo de los días. Luego se procede al muestreo explicado anteriormente, empezando por la recogida de invertebrados macroscópicos mediante probetas de plástico, pinzas y mangas entomológicas, seguida de la toma de muestras de agua y del raspado a partir de probetas de plástico y espátulas entomológicas respectivamente. Por último, se procede a la anotación del estado de descomposición para el posterior etiquetado de las muestras.

Cada día se recogieron muestras macroscópicas de todos los taxones observados, que acudían a los restos cadavéricos para poder establecer el momento de colonización y abandono del cadáver, evitando esquilmar las poblaciones para permitir el correcto desarrollo de las distintas especies en los restos cadavéricos (1). Para proceder a una correcta identificación de los seres vivos macroscópicos recolectados, tanto larvas como adultos, se observaron en el laboratorio bajo lupa binocular Nikon SMZ-1 y microscopio óptico Olympus CH-2, ayudados por claves dicotómicas y guías de campo especializadas en invertebrados, citadas todas en «Resultados y discusión». En el caso de los organismos unicelulares e invertebrados microscópicos recogidos mediante el raspado y la toma de muestras de agua, utilizamos un microscopio PCE-TM 2000 para su identificación.

Una vez identificado y registrado todo el material, se estableció la posible sucesión, enumerando cronológicamente los invertebrados macroscópicos por un lado y los organismos microscópicos por otro, e indicando el estado de descomposición al que se encontraron asociados. Esto se realizó elaborando una matriz de presencia y ausencia para cada cadáver (12). Asimismo, se indicó el estadio en que se recogieron de los restos cadavéricos.

III. RESULTADOS

En los estudios en medios acuáticos no se consideran las mismas fases de la descomposición que en el medio terrestre, habiendo sido descritos un primer estado fresco sumergido, una fase de flotación temprana, una fase de flotación en estado de descomposición, una fase de flotación en estado de descomposición avanzada y un estado correspondiente a los restos esqueléticos hundidos (3). El estado fresco sumergido está definido como el período de tiempo entre que el cadáver permanece inicialmente sumergido hasta que empieza a flotar y alcanzar la superficie. La duración de esa fase varía entre 2 a 13 días y depende de varios factores como la localización geográfica, el microhábitat y la estación del año (3). La fase de flotación temprana es consecuencia de la producción de gases en el interior del abdomen, provocando que los restos asciendan a la superficie debido a la

disminución de la densidad del cuerpo, dejando expuestas amplias zonas del cuerpo, principalmente del abdomen. Del cadáver emanan fluidos y gases por el ano y los tejidos toman una coloración verdosa (fase cromática enfisematosa). La duración de esta fase de descomposición va a depender en gran medida de la estación del año, pues en primavera puede ser de 6-8 días y en invierno de 23-37 días (3). La fase de flotación temprana es consecuencia de la producción de gases en el interior del abdomen, provocando que los restos asciendan a la superficie debido a la disminución de la densidad del cuerpo. Esto deja expuestas amplias zonas del cuerpo, principalmente del abdomen, y favorece la llegada de insectos terrestres. Durante la fase de flotación en estado de descomposición, lo más notable es la intensa actividad de las larvas de dípteros, que hace que se observen numerosos orificios en la parte expuesta de los restos. En función de la región geográfica, esta fase se prolongará en mayor o menor medida, pudiendo variar entre 8 y 331 días (3). En la fase de flotación en estado de descomposición avanzada, la mayoría de los tejidos expuestos sobre la superficie del agua han desaparecido debido a la actividad de las larvas de dípteros, las cuales comenzarán a migrar una vez finalizado su desarrollo, cayendo la mayoría al agua y muriendo. La duración de esta fase varía entre 12 y 171 días (3). La última fase es la de los restos esqueléticos hundidos, siendo su duración muy variable y quedando sobre el sustrato únicamente huesos y restos de piel (3).

Si bien los dos cadáveres se dispusieron a una distancia de 50 metros en el mismo cauce del río, las condiciones ambientales fueron suficientemente variables como para producir importantes diferencias en los dos procesos de reducción cadavérica. Mientras para uno de los cadáveres los días se encuadran en las cuatro primeras fases de descomposición antes descritas (3), salvo que el cuarto estadio sólo fue observado en sus inicios sin llegar a observar el último estadio, el segundo cerdo mostró un proceso netamente diferente. Por las diferencias observadas entre ambos modelos, procederemos a detallar independientemente lo observado en cada caso. Empezaremos por el primer cadáver, en donde las condiciones favorecieron el desarrollo de las cuatro fases de descomposición previamente descritas, al cual llamaremos cerdo 1, y continuaremos con el cuerpo en donde no se produjo flotación o cerdo 2, donde observamos una nueva fase no descrita en estudios previos y que denominamos fase de producción de gases abdominales en estado sumergido.

Se han recogido 6 taxones adscritos a 5 Órdenes diferentes de la Superclase Hexapoda (=Insecta), identificando el Género o la especie cuando fue posible, una especie del Subfilo Crustacea (Filo Arthropoda), una de la Clase Turbellaria (Filo Platyhelminthes), así como ejemplares sin identificar de los Filos Nematoda, Rotifera y Gastrotrichia. Del Superfilo Protozoa, ha sido posible identificar un Género, junto a 30 Géneros de algas unicelulares. Las identificaciones se efectuaron con ayuda de claves y guías coordinadas por *Barrientos et al., 2004* para Artrópodos (13), *Smith, 1986* para adultos y larvas del Orden Diptera (14), *Zahradník, 1985* para adultos del Orden Coleoptera

(15), y *Needham y Needham, 1982* para identificar los adultos del Orden Hemiptera y los organismos microscópicos (19).

Así, los invertebrados y otros organismos encontrados en el cerdo 1 fueron los siguientes:

CERDO 1

Fue colocado en una parte léntica del río donde la velocidad de corriente era baja, rodeada de una zona boscosa que aportaba sombra al área donde fue depositado el cadáver. Se observaron las cuatro primeras fases de descomposición descritas por *Merritt y Wallace, 2010* (3). Todos los datos bióticos están recogidos en las Tablas 1, 2 y 3 por lo que pasamos a resumir los resultados más relevantes asociados a cada fase de descomposición cada- vérica.

Estado fresco sumergido (FS1)

Este período se observó únicamente entre el día en que se inició la experimentación (D0) y el D3. Aunque mientras se preparaban las cuerdas para sujetar la jaula el cerdo no emitía malos olores, se observó la llegada y ovoposición de la primera oleada de dípteros califórinos durante la recogida de muestras. Estas puestas de huevos tuvieron lugar cerca de los orificios del cerdo, incluido el del corazón, aunque también los depositaron a lo largo del abdomen. Las puestas de huevos no tuvieron éxito tras ser sumergido de nuevo el cerdo, aunque posteriormente se encontró una larva viva de la Familia Chironomidae (Orden Diptera) el día 3.

En el día 3, junto con la larva de Chironomidae nombrada anteriormente, se capturaron coleópteros adultos de la Familia Hydrophilidae, los cuales pueden ser herbívoros o carnívoros, observándose un número considerable de ellos alrededor del cadáver (6-9). Además, también se recolectaron el único hemíptero que se observó, del Género *Gerris*, y homópteros acuáticos, los cuales doblaban en número a los coleópteros. Junto a estos, se encontraron restos de una cabeza de Psocoptera que pudiera proceder del día de la inmersión (D0) y una puesta de Homoptera. Aunque no se recolectaron, se observó un par de cangrejos de la especie autóctona *Austropotamobius sp.* cuya amplia dieta incluye restos de materia orgánica y de carroña (ver Figura III).

Respecto a las muestras de raspado, prolifera el alga verde *Crucigenia*, aunque el número es muy bajo, además de aparecer otras algas como *Proto- coccus* y la diatomea *Diatoma* (F. Bacillariophyceae).

En las muestras de agua recogidas, la presencia de organismos es mucho más notable, habiendo un gran número de algas verdes del Género *Scenedes- mus*. También se encontraron organismos fotosintéticos, como algas verdes de los géneros *Crucigenia*, *Pediastrum*, etc. y del género *Frustulia* como repre-

sentante de las diatomeas. Junto a lo anteriormente descrito, aparecieron protozoos ciliados, de los cuales sólo se pudo identificar a *Paramecium*.

Fase de flotación temprana (FT1)

Este período fue observado en el día 7. Al quedar el cadáver expuesto, se observaron dípteros poniendo sus huevos y una larva I, habiendo desaparecido todos los invertebrados macroscópicos que se encontraron en el cadáver el día 3, a excepción de los cangrejos de río (en esta ocasión había 3) (ver Figura IV).

A nivel macroscópico, sólo se recogieron restos del exoesqueleto de dípteros identificados como *Lucilia cf. caesar* (F. Calliphoridae). En el raspado se recolectó un gran número de nematodos, protozoos ciliados y algas de los géneros *Scenedesmus* y *Protococcus*.

En las muestras de agua, también se encontró un importante número de organismos del Género *Scenedesmus*, habiendo poca abundancia de otros Géneros como *Pediastrum*, *Protococcus*, *Ankistrodesmus* (alga verde) o *Melosira* (diatomea).

Fase de flotación en estado de descomposición (FD1)

Este período corresponde a los días 10 a 24. A la llegada al cadáver el día 10, se percató que el olor era evidente al haber aflorado el cadáver a la superficie. La cantidad de dípteros adultos en su entorno había aumentado considerablemente y ya se observaba actividad larvaria, las cuales se agrupaban en masa en una zona del abdomen (ver Figura 5), lo que nos hace suponer que la colonización se había iniciado en los días precedentes. Las larvas se encontraban en los estadios I y II siendo identificadas como *Lucilia caesar* y *Calliphora vomitoria*. Respecto a los crustáceos, sólo se observó un cangrejo de río autóctono en el interior de la jaula. El día 14 seguía habiendo dípteros adultos en igual abundancia (se capturaron dos adultos de *Lucilia caesar*) y las larvas se distribuían más ampliamente por el abdomen, además de alojarse en el corazón, resguardándose del agua en las cavidades de este último y, posiblemente, en el interior del cuerpo. El abdomen tenía multitud de pequeños orificios debido a la intensa actividad larvaria, recogiéndose ya estadios larvarios III tempranos de *Calliphora vomitoria* y de *Lucilia caesar* (ver Figura VI). No se encontró ningún crustáceo. En los días 17 y 21 el olor era ya muy fuerte. El número de larvas de *Lucilia caesar* era superior a *Calliphora vomitoria*, probablemente porque el Género *Lucilia* domina en entornos cadavéricos en los meses estivales (16-17). La actividad de los dípteros adultos continuaba alrededor del cadáver con el fin de posarse y ovopositar, mientras las larvas se encontraban alimentándose de todo el abdomen en el día 17 (ver Figura VII). En el día 21, las larvas aparecían ya de forma masiva en todas las partes expuestas del cuerpo mientras los adultos seguían poniendo huevos, quedando expuestas ya las vísceras y parte de la tibia, del fémur y de las costillas (ver figura VIII). A pesar de no disponer de medios para registrar la temperatura ambiente, era apreciable la ma-

yor sensación térmica alrededor del cadáver frente a las proximidades, probablemente debido a la intensa actividad de la masa larvaria. En ambos días se encontraron dos cangrejos de río autóctonos; en un sencillo ensayo se observó como éstos optaban por volver al agua lo más rápido posible si eran puestos en tierra firme junto al cadáver en lugar de mantenerse en el entorno cadavérico. En el día 24 no se encontró ninguna larva (ver figura 9), lo que pudo estar asociado a la migración de la masa larvaria. No había casi ningún díptero adulto y no apareció ningún crustáceo, pero lo que sí se encontró fue una gran cantidad de ejemplares del Género *Gerris*. Como último apunte sobre las muestras macroscópicas recogidas, decir que en cada uno de los días comentados siguieron apareciendo restos del exoesqueleto de dípteros adultos sobre el cadáver, igual que en el día 7.

En las muestras de raspado, aparecieron nematodos todos los días (el número de ejemplares por porta preparado fue de 6-8, bajando a 2-4 el día 24) así como protozoos ciliados el día 10. Por otro lado, se observó un incremento de la riqueza específica de algas según avanzaba el estado de descomposición, siendo las más abundantes encontradas en la fase de flotación las siguientes:

- Día 10: *Scenedesmus* fue el más representativo, aunque también fue importante la presencia de *Botryococcus* (alga verde).
- Día 14, 17 y 21: *Scenedesmus* y *Protococcus*, pero el porcentaje de organismos en comparación con el día 10 fue mucho menor.
- Día 24: *Scenedesmus*, *Protococcus*, *Docidium* (désmodo) y *Nytzchia* (diatomea), todos en igual abundancia y sin cambiar el bajo número de organismos.

En las muestras de agua recogidas, los nematodos estuvieron presentes en todas menos en la del día 14, siendo su abundancia muy baja los días 17, 21 y 24. El día 10 y 14 se observaron rotíferos y protozoos ciliados, volviendo a aparecer los últimos el día 24. Repitiendo el paso anterior, las algas más abundantes en esta fase fueron las siguientes:

- Día 10: *Scenedesmus* y *Protococcus* en alto número, aunque también fue importante la presencia de *Pediastrum*.
- Días 14-21: *Scenedesmus* y *Protococcus* en gran abundancia.
- Día 24: *Scenedesmus*, *Protococcus* y *Melosira*, todos en baja proporción.

Fase de flotación en estado de descomposición avanzada (FDA1)

Esta fase se observó en el último día de estudio, día 30, por lo que sólo fue estudiado su inicio. El cadáver estaba totalmente irreconocible y el olor era menos fuerte que en días pasados, debido seguramente a la reducción de las vísceras. Además, eran bastante visibles gran parte de los huesos del

animal, algunos totalmente limpios, como los de las patas posteriores (ver figura 10). La cantidad de ejemplares del Género *Gerris* era mayor que la encontrada el día 24, mientras que los dípteros habían desaparecido, y aparecieron de nuevo los cangrejos de río autóctono (en este caso, un par).

En las muestras de raspado el número de ejemplares era muy bajo, más que en el día 24, apareciendo sólo *Scenedesmus* y *Protococcus*.

En el caso de las muestras de agua, la abundancia era algo mayor que en las de raspado, pero menor que en el día 24, encontrándose básicamente los Géneros *Scenedesmus* y *Protococcus*.

CERDO 2

A diferencia del modelo anterior, el cadáver fue colocado en una parte lítica del río, donde la velocidad de corriente era más alta y estaba influida por una pequeña cascada, flanqueada por un muro de piedra que provocaba ese salto de agua por un lado y por una zona boscosa por otro lado. El patrón de descomposición fue netamente diferente y no se ajustó al previamente descrito por *Merritt y Wallace, 2010* (3). El cadáver no llegó a flotar, debido a que la jaula quedó sumergida totalmente. Por ello, se observó una fase no descrita hasta la fecha en aguas continentales, aunque sí registrada en los estudios de *Anderson y Hobischak* para medio marino (2). Es la fase de producción de gases abdominales en estado sumergido, la cual sucede tras el estado fresco sumergido. Los resultados están recogidos en las Tablas 4 y 5.

Lamentablemente, no se pudo seguir la evolución del cerdo 2 tras el día 10 por actos de vandalismo. Aunque se repitió el experimento con otro cadáver de cerdo cerca de ese lugar, al surgir el mismo problema a los tres días de su ubicación, optamos por finalizar el estudio y sólo se presentan los resultados obtenidos hasta el día 10 para este segundo ensayo.

De forma resumida se detallan los resultados asociados a las dos fases de descomposición observadas:

Estado fresco sumergido (FS2)

Al igual que en el cerdo 1, esta fase sólo se vio los días 0 y 3, y se observó la ovoposición de la primera oleada de dípteros califóridos el mismo día de inicio del estudio (ver Figura XI). Estas puestas de huevos también tuvieron lugar en la incisión realizada en el corazón y alrededor de los orificios naturales del cerdo, además de realizarlas a lo largo del abdomen. No se recogió ninguna muestra con el fin de observar qué sucedía con las puestas una vez sumergido el cadáver. Es interesante destacar que el cadáver no emanaba ningún tipo de mal olor perceptible. Sin embargo, aunque los dípteros colonizaron y ovopositaron en el cadáver durante la preparación del ensayo, no se detectó actividad larvaria derivada de las puestas del D0 en los muestreos de días posteriores.

En el raspado realizado el día 3, se encontraron organismos fotosintéticos, siendo *Nyctschia* y *Scenedesmus* los más representativos, aunque el número de organismos totales de la muestra era bajo.

En las muestras de agua recogidas el día 3, el número de ejemplares era mayor, predominando *Scenedesmus* y *Protococcus*, seguidos de *Mesotaenium* y de otras algas mucho menos representativas.

Fase de producción de gases abdominales manteniéndose en estado sumergido (SGA2)

No conocemos antecedentes que describan esta fase para aguas continentales en ninguna de las fuentes consultadas, siendo observada durante los días 7 y 10, sin diferencias significativas a primera vista entre ambos días (ver figura XII). Tampoco se detectó mal olor ni actividad larvaria de dípteros durante el muestreo.

Así, el día 7, aparecieron los siguientes organismos:

- Muestras de raspado: *Scenedesmus* en gran número; en menor cantidad, otros organismos como *Protococcus* y *Melosira*.
- Muestras de agua: *Scenedesmus*, *Protococcus* y *Melosira* fueron los más abundantes, seguidos de *Synedra* (diatomea) y de protozoos ciliados. Además, se observaron gastrotricos y ejemplares de la Clase Turbellaria (platelmintos) entre otros organismos.

El día 10, en abundancia similar al día 7, se encontraron los siguientes seres vivos:

- Muestras de raspado: gran número de especímenes de *Scenedesmus*, *Protococcus* y *Melosira*, seguidos del Género *Synedra*.
- Muestras de agua: los más abundantes siguen siendo *Scenedesmus*, *Protococcus* y *Melosira*, pero también hubo un número importante de ejemplares de turbelarios y protozoos ciliados.

IV. DISCUSIÓN

En este estudio se presentan los primeros resultados de un estudio sobre reducción cadavérica en un medio acuático llevado a cabo en Europa. Para poder definir un modelo que nos permitiese estimar el intervalo *post-mortem* (I.P.M.) en este río, habría que repetir esta experimentación a lo largo del año y en diferentes partes del río Manzanares. Además, sería importante tomar la temperatura del agua y otras variables del medio para observar cómo influyen en la descomposición del cuerpo. También hay que destacar que en nuestro caso existe un orificio adicional de fácil entrada, por la heri-

da provocada durante el sacrificio de los individuos. Los resultados de nuestro estudio deben considerarse preliminares, pues sólo se centran en el final de la primavera y principio del verano, en una parte concreta del río y nos hemos visto afectados por actos vandálicos que han restringido una parte importante de la observación experimental del modelo 2. Por ello, los datos deben ser tratados con la debida prudencia de todo estudio preliminar. Aun así, se aporta información muy novedosa sobre la descomposición de restos cadavéricos en entornos sumergidos, resultados pioneros en Europa.

Aunque el proceso completo de descomposición en medios acuáticos se ha delimitado a las cinco fases antes definidas (3), ambos cadáveres han seguido patrones de descomposición diferentes. Uno de los cadáveres (cerdo 1) se estudió hasta el inicio de la fase de flotación en estado de descomposición avanzada, mientras que en el otro caso (cerdo 2), al estado fresco sumergido le sucedió una etapa distinta a la habitual, que hemos denominado fase de producción de gases abdominales en estado sumergido (SGA2), pues el cerdo no llegó a flotar debido a la interferencia de la jaula en la que estaba encerrado con la superficie del agua.

Se observan importantes diferencias con estudios previos realizados en otras regiones geográficas. Así, *Barrios y Wolff (2011)* no observan ningún tipo de desplazamiento (6), pues los escarabajos ditísidos aparecen el día 6 tras la exposición y permanecen en el cadáver durante 34 días. *Merritt y Wallace (2010)* destacan, sin embargo, que los coleópteros acuáticos sólo aparecen en el estado fresco sumergido (3), igual que en el cerdo 1. Además, en su trabajo nombran estados inmaduros de insectos, como larvas de la Familia Hydropsychidae (Orden Trichoptera) y larvas de la Familia Heptageniidae (Orden Ephemeroptera), además de isópodos acuáticos y otros crustáceos no detectados en este estudio. La región bioclimática así como la época del año, parecen ser factores influyentes en la biota, ya que definen tanto el hábitat como la vegetación, el tipo de suelo y las condiciones meteorológicas del área, y condicionan la diversidad biológica y con ello el proceso de colonización y reducción de un cadáver.

Por la complejidad de los dos modelos estudiados, presentamos de forma separada la discusión referente a ambos casos de estudio.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN EL CERDO 1

La jaula del cerdo 1 no quedó totalmente sumergida debido a la poca profundidad de las aguas en ese emplazamiento, permitiendo que el cadáver ascendiese a la superficie durante la producción de gases en el interior del abdomen en la fase de flotación temprana, dejando al descubierto una de las partes laterales del cadáver que fue inmediatamente colonizado por dípteros califóridos que no pudieron finalizar su desarrollo al sumergirse de nuevo el cadáver una vez finalizada la fase de flotación FD1. Por su ubicación en un entorno protegido, no se vio afectado por los actos de vandalismo antes mencionados, y fue posible seguir todo el proceso durante los 30

días del ensayo. Analizamos de forma separada los resultados observados para los organismos macroscópicos y para los microscópicos (agua y raspado).

— Muestras macroscópicas

La fauna asociada a los cuerpos totalmente sumergidos difiere de la de los cuerpos expuestos, enterrados o quemados, pero cuando se produce la flotación temprana, los insectos típicamente terrestres colonizan y ovipositan sobre el cadáver y en sus orificios, pudiendo completar el desarrollo si éste permanece expuesto a la atmósfera terrestre y las larvas encuentran un lugar adecuado y seco donde pupar. Además, si ha estado expuesto antes de la inmersión, no es descartable la presencia de larvas de dípteros, aparte de ectoparásitos como las pulgas o los piojos que pudiera tener antes de su muerte. De hecho, en nuestro caso, se observó colonización anterior al sumergimiento del cadáver por parte de los dípteros, pero los huevos no pudieron continuar su desarrollo al ser sumergido el cadáver poco tiempo después. En cuanto a las pulgas, piojos y otros ectoparásitos, no fueron observados en el cadáver antes de su inmersión. Respecto a las larvas de dípteros, es importante saber a nivel forense que estas no sobreviven mucho tiempo tras sumergir un cuerpo, lo que indica que si se encontraran vivas, éste habría sido trasladado recientemente desde un lugar expuesto. En este último caso, estudios previos como el de *Reigada et al. 2011*, han demostrado que no sólo sobreviven las larvas, sino también las pupas y sus parasitoides (20). La supervivencia de las pupas depende de la especie y del estado de desarrollo de la pupa; así, el porcentaje de supervivencia de pupas de 48 horas sumergidas durante 72 horas es de un 80% aproximadamente en *Chrysomya megacephala* y de un 25% aproximadamente en *Chrysomya putoria*, mientras que en los parasitoides inmaduros (3 días de edad), la supervivencia decrece después de estar 48 horas sumergidos, existiendo una proporción del 70% de la población inicial después de 48 horas y del 16% después de 72 horas (20).

En nuestra simulación, se encontró una larva de la Familia Chironomidae el D3, junto con larvas vivas de califóridos bajo el agua resguardadas en la incisión del corazón durante los días D17 y D21. Las larvas de Chironomidae se han descrito en el caso de un cadáver sumergido (21), si bien es posible que su colonización suceda antes de ser sumergido. Sin embargo, es altamente novedosa la supervivencia de las larvas de califóridos recogidas en D17 y D21, las cuales pueden respirar del aire retenido en los orificios que ellas mismas crearon cuando el cuerpo quedó expuesto, y sobrevivir varios días aunque estén rodeadas de agua.

Los cadáveres con heridas incisivas o contusas pueden experimentar velocidades diferentes de reducción cadavérica, pues las heridas son lugares de puesta preferente para los dípteros que contribuyen a acelerar la reducción cadavérica. Por esta razón, el cerdo I se descompondría más rápido en comparación con otro sin heridas. Por ello, hay que saber diferenciar estas heridas de las producidas *post-mortem* debido a la propia actividad de los insectos.

Su alimentación puede causar cambios considerables que resulten en la modificación de las heridas *ante-mortem* y *peri-mortem*, en la aparición de nuevas lesiones y en la pérdida de señas de identidad del muerto (8).

El principal problema en hábitats acuáticos es el actual desconocimiento de la posible existencia de insectos acuáticos estrictamente sarcosaprófagos comparables a los terrestres, pues se alimentan principalmente de algas, materia vegetal en descomposición o de otros insectos. A pesar de ello, se ha detectado que determinadas especies pueden actuar como sarcosaprófagos facultativos como ya observaron *Merritt y Wallace, 2010* (3), sin olvidar la acción de los crustáceos. La permanencia de los crustáceos en el cadáver durante los días donde más cantidad de larvas de dípteros había en él (D17 y D21) nos indica que la gran abundancia de larvas alimentándose de todo el cadáver no impide a los cangrejos nutrirse de la carroña, aparte de la posible depredación de los cangrejos sobre éstas. Sin embargo, cuando fueron separados del cerdo, estos volvieron inmediatamente al agua, por lo que si el cadáver fuera movido del río a la orilla, estos crustáceos decidirían no acompañarlo y quedarse en su hábitat natural. Es tanta la capacidad de carroñeo de estos artrópodos acuáticos que es muy posible que las patas posteriores casi totalmente devoradas observadas el día 24 fuera acción exclusiva de los cangrejos, a los que se les vió, además, alimentándose de éstas ese mismo día. Esto diferencia claramente el proceso de reducción cadavérica en un entorno sumergido frente a los hábitats terrestres expuestos, donde la musculatura apendicular es la última en desaparecer frente a la masa visceral que es rápidamente devorada por las larvas de dípteros necrófagos. Respecto a los vertebrados carroñeros, sería interesante observar la influencia de los peces y otros vertebrados, no considerados en este estudio. *Merritt y Wallace, 2010* (3) sólo anotan la llegada de peces en la fase de flotación en estado de descomposición avanzada.

La inexistencia de larvas de dípteros en el cadáver a partir del D24 pudo ser debida a su migración para pasar al estado de pupa, cayendo al agua donde probablemente murieron ahogadas o fueran depredadas. De hecho, se recolectaron larvas el D21 a punto de migrar. La reducción de tejido blando por su acción pudo favorecer que el cerdo volviera a quedar inundado debido a la entrada de agua por los grandes orificios creados por las larvas, siendo la apertura de las costillas la más evidente. Sólo aquellas que pudieran sobrevivir y flotar hasta la orilla serían capaces de enterrarse para pupar y completar su ciclo.

Tras el análisis de los resultados obtenidos, podemos resumir la sucesión faunística observada a lo largo de los días en el cerdo 1 en los siguientes puntos:

- En caso de cadáveres sumergidos, los primeros colonizadores macroscópicos son los crustáceos y los insectos acuáticos, tales como homópteros, coleópteros ditúscidos y hemípteros del Género *Gerris*. Corresponde al estado fresco sumergido.

- Sólo cuando el cadáver queda expuesto a la atmósfera terrestre, se produce una colonización de dípteros que provoca el desplazamiento de la fauna acuática, a excepción de los crustáceos depredadores. Corresponde al estado de flotación temprana y a gran parte de la fase de flotación en estado de descomposición.
- Con la muerte de las larvas al intentar emigrar para pasar al estado de pupa o por el simple hecho del hundimiento del cadáver, vuelven a proliferar los insectos acuáticos, aunque sólo se observaron heterópteros del Género *Gerris*. Los crustáceos seguían alimentándose del cadáver. Corresponde al final de la fase de flotación en estado de descomposición y, al menos, al principio de la fase en estado de descomposición avanzada.

— Muestras de agua y raspado

Las algas de los géneros *Scenedesmus* y *Protococcus* aparecen en casi todas las muestras y, generalmente, de forma abundante. Son recolectadas desde el principio hasta el final del experimento, sin llevar ningún tipo de pauta ligada ni a la descomposición del cadáver ni a la colonización por parte de otros organismos, por lo que su presencia podría estar unida a la gran riqueza de estos organismos en las aguas dulces (19). Otros dos géneros de algas también aparecieron de forma constante, pero únicamente en las muestras de agua (ver Anexo 3), todos los días en el caso de *Pediastrum* y a partir del día 10 en el caso de *Synedra*, con la diferencia de que su proporción respecto al total de organismos fue baja (representaban el 0-5%). Aunque las muestras de agua nos indiquen que *Synedra* es un organismo que llega al cadáver al inicio de la fase de flotación en estado de descomposición (D10), no es así, pues en el cerdo 2 se observó esta alga a partir del estado FS2 en las muestras de raspado (D3; ver Anexo 4) y a partir de la fase SGA2 en las muestras de agua (D7; ver Anexo 5), es decir, en estados de descomposición menos avanzados, sin olvidar que no se presenció en ninguna muestra de raspado del cerdo 1 (ver Anexo 2).

Los protozoos ciliados eran más comunes en las muestras de agua, siendo más fáciles de detectar cuando están vivos gracias a su movimiento, mientras que en las muestras de raspado conservados en alcohol se observan mal por su falta de pigmentación. No se ha observado ningún tipo de pauta definida respecto a su aparición y permanencia en el cadáver.

Aunque no se observe un patrón específico en la presencia y ausencia de algas y protozoos ciliados, la abundancia de ellos fue alta al principio y baja al final, ocurriendo este descenso mucho antes en el raspado. La disminución de estos organismos en el caso del raspado ocurrió a partir del día 14, mientras que en las muestras de agua tuvo lugar de forma evidente a partir del día 24. Aparte de esto, la presencia de cualquiera de estos organismos microscópicos acuáticos en un cadáver sobre tierra firme nos indicaría que el cuerpo ha permanecido sumergido en agua dulce. Si bien estos organismos unicelulares presentan una alimentación filtradora o fotosintética, por

lo que su presencia en el cadáver puede ser fortuita, su correcta identificación puede ser clave en la determinación del cauce de río donde un determinado cadáver ha permanecido sumergido. Además, si se corrobora mediante futuros estudios que la abundancia varía con el paso del tiempo, su dinámica sería una referencia importante para averiguar cuánto tiempo ha estado sumergido el cadáver en el medio dulciacuícola estudiado.

A pesar de la importante presencia de estos organismos, a nivel forense consideramos más novedosa la presencia de nematodos, que pueden alimentarse de tejidos desprendidos del cadáver. Los nematodos no fueron detectados hasta el día 10 (día en que se observan las primeras larvas de dípteros) desapareciendo todos para el día 30, tanto en las muestras de raspado como en las de agua (6 días después de que no se encontrara ninguna larva). Convendría seguir analizando durante los días posteriores para poder confirmar si ha sido debido al azar, si la actividad de las larvas de dípteros les proporciona la ayuda necesaria para alimentarse del cadáver o si la causa es la entrada en una nueva fase de descomposición, la de la fase de flotación en estado descomposición avanzada. Se precisan por tanto más ensayos para confirmar si los nematodos aparecen en el cadáver transcurridos unos días después del sumergimiento del cuerpo en las aguas. Lo que sí parece claro es que su aparición y estancia en el cadáver no están relacionadas con la abundancia de los organismos fotosintéticos, pues ésta fue disminuyendo según pasaban los días. Podría ser muy interesante realizar el seguimiento de estos animales en fases más avanzadas de descomposición para averiguar su relación con el proceso *post-mortem*, además de estimar qué especies dulciacuícolas son indicadores de la presencia de un cadáver en agua dulce.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN EL CERDO 2

La jaula del cerdo 2 permaneció completamente sumergida durante todo el estudio, por lo que el cuerpo del cerdo no pudo quedar expuesto al aire al chocar con la parte superior de ésta durante la fase hinchada. Por ello, a pesar de encontrarse aproximadamente a 50 metros de distancia, la descomposición de este cerdo fue muy diferente a la del cerdo 1. Las condiciones ambientales en un río pueden variar considerablemente en un mismo tramo y la presencia de barreras físicas llegan a condicionar todo el proceso de reducción cadavérica.

— Muestras macroscópicas

Al mantenerse sumergido, la fase de flotación en estado hinchado no se vio expuesta a ningún hexápodo terrestre que pudiera colonizarlo, limitando la reducción cadavérica a la acción de bacterias y organismos de agua dulce.

La colonización por los insectos acuáticos de un cuerpo sumergido parece ser bastante compleja y aun poco conocida. Uno de los factores que in-

fluyen en esta colonización es la velocidad de la corriente y/o la posición dentro de la columna de agua o profundidad (3). Los ambientes lóticos no favorecen la abundancia de macroinvertebrados acuáticos, los cuales se refugian bajo piedras o se entierran en el fondo y no acostumbra a salir a las zonas expuestas, razones por las cuales no se encontraron insectos acuáticos en el cerdo 2. Lo mismo ocurrió con los crustáceos.

— Muestras de agua y raspado

Al igual que en el cerdo 1, los organismos microscópicos más abundantes fueron las algas *Scenedesmus* y *Protococcus*, aunque en los días 7 y 10 también predominaba *Melosira*. La presencia de *Scenedesmus* y *Protococcus* sería consecuencia de la gran cantidad de organismos de estos géneros de algas en las aguas del río Manzanares, mientras que *Melosira*, a falta de más pruebas, podría ser un organismo que apareciese en un estado más avanzado, sin olvidar en este caso que el cadáver estuvo siempre sumergido. Si nos fijamos en los Anexos 2 y 3, observamos que no aparece en el día 3, como en el cerdo 2, aunque no sería una evidencia suficientemente fuerte como para llegar a afirmar que *Melosira* coloniza el cadáver y sus alrededores a partir del día 7, pues no hemos de olvidar que se trata de un organismo fotosintético y no necesita energía procedente de la ingesta de otros seres vivos, además de no tener relación con la presencia y ausencia del resto de organismos.

En este segundo caso, los protozoos ciliados solamente se encontraron los días 7 y 10 en las muestras de agua. Como indicamos anteriormente, que no se detectaran en las muestras de raspado pudo ser debido a que fueron inmediatamente fijados en alcohol, lo que dificulta su detección posterior. Sin embargo, la cantidad de seres vivos encontrados en las muestras de raspado no fue tan baja como en el cerdo 1, debido seguramente al contacto permanente de toda la superficie del cadáver con el agua. Además, la abundancia no disminuyó según pasaban los días. Una vez más, las explicaciones son múltiples y requieren de estudios más detallados, con mayor extensión en el tiempo y detenimiento; así, pudo ser debido a la lenta descomposición, al contacto total y permanente con el agua o al breve tiempo de experimentación que se pudo estudiar este cadáver, así como a otros factores ajenos al diseño.

Los nematodos no aparecieron en el cerdo 2, pero sí se encontraron platelmintos turbelarios los días 7 y 10, los cuales también pudieron alimentarse del cerdo en ausencia de sus depredadores. Una vez más insistimos en que habría que realizar más experimentos, en este caso para concretar la conexión entre los platelmintos y la reducción cadavérica, si éstos llegan al cadáver unos días después de la exposición del cuerpo en las aguas, ver cuánto tiempo están establecidos sobre los cerdos, etc. Sería también de interés observar si la ausencia de larvas depredadoras facilita a los turbelarios asentarse sobre el cadáver, y si un cambio en la abundancia de los organismos fotosintéticos alteraría la presencia de los platelmintos en el cadáver. Respecto a los nematodos, es posible que no aparecieran porque se

daban malas condiciones para ellos, como podrían ser la inmersión constante del cadáver en el agua, pues en el cerdo 1 aparecieron cuando el cerdo estaba flotando, la profundidad, la inexistencia de larvas en el cuerpo o la presencia de platelmintos, o por el reducido tiempo dedicado a su observación (10 días). Una vez más, necesitaríamos realizar más pruebas para concretarlo.

Como también se señaló en el modelo anterior (cerdo 1), la presencia de cualquier organismo acuático en un cadáver situado en tierra firme nos advertiría sobre su inmersión previa, así como los platelmintos turbelarios, al igual que los nematodos, podrían ser buenos indicadores del intervalo *post-mortem*, si bien se precisan de estudios más amplios en diferentes cauces y condiciones ambientales para confirmar esta hipótesis.

V. CONCLUSIONES

El desarrollo de este estudio pionero para Europa sobre el proceso de descomposición y colonización de un cadáver en entornos sumergidos, aporta información novedosa y abre puertas para nuevos trabajos de investigación que permitan resolver las importantes cuestiones aquí planteadas.

Las fuertes diferencias observadas entre las dos simulaciones dispuestas en un mismo cauce, nos obliga a tratar los presentes resultados con extrema prudencia. Destacamos, ante todo, que los resultados obtenidos sólo deberían ser aplicados en el área geográfica y estación anual indicadas en este trabajo. Es urgente el desarrollo de nuevas simulaciones en diferentes cauces de nuestra diversa geografía peninsular, incluyendo controles para cada modelo, para que la Biología Forense en entornos sumergidos sea validada y aceptada como pericia por los Tribunales de Justicia. Para ello, se requiere del desarrollo de investigaciones con modelos animales similares en distintas zonas geográficas de Europa y en distintos ambientes, ampliando el campo de estudio a otros organismos no artrópodos que muestran relación con la fauna cadavérica en entornos sumergidos. Sólo de esta manera podría plantearse la extrapolación de los resultados obtenidos a seres humanos. A modo de resumen, destacaremos como principales resultados en un área de la cuenca del Manzanares (Mingorrubio, Madrid) los siguientes:

1. De entre los grupos de seres vivos recogidos durante la descomposición cadavérica de los suidos, mediante muestreo realizado durante los sucesivos estadios de putrefacción, se consideran como indicadores forenses en entornos sumergidos de aguas continentales para determinar la data de la muerte a dípteros, coleópteros, hemípteros y homópteros. Los nematodos y los platelmintos parecen tener también importancia a nivel forense.

2. Los organismos unicelulares dulciacuícolas, sobretudo las algas *Scenedesmus* y *Protococcus* debido a su gran abundancia en el río Manzanares, sirven como indicadores de la presencia del cadáver en estas aguas dulces.
3. Las larvas de dípteros pueden sobrevivir bajo el agua cuatro días al menos, siempre y cuando el cadáver tenga alguna incisión profunda que les permita resguardarse. No obstante, no parecen capaces de sobrevivir durante la migración, perdiéndose la población íntegra al hundirse de nuevo el cadáver tras la reducción de sus tejidos blandos.
4. La llegada de dípteros al cadáver provoca que los hexápodos acuáticos abandonen el cuerpo.
5. Los cangrejos de río autóctonos sólo se mantienen junto al cadáver mientras está sumergido, abandonándolo si este es movido a tierra firme.
6. La profundidad y la velocidad de corriente influyen en un alto grado en la colonización primaria y su posterior evolución.
7. La velocidad de reducción de las partes blandas es mucho más lenta cuando el cadáver no queda expuesto en la fase de flotación temprana, ya que los artrópodos terrestres no pueden acceder a él.

Tras estos resultados pioneros, donde se aporta información novedosa que ayudará a establecer el intervalo *post-mortem* en cadáveres sumergidos en el río Manzanares durante el final de la primavera y el inicio del verano, proponemos avanzar en el conocimiento del proceso de reducción cadavérica en entornos sumergidos sobre las siguientes bases.

Para establecer modelos aplicables a otros cauces y medios acuáticos, será preciso llevar a cabo pruebas más exhaustivas, incidiendo especialmente en

- intensificar la periodicidad de los muestreos,
- medir la temperatura del agua y del ambiente y otros factores ambientales que puedan condicionar la distribución y el desarrollo de los organismos vinculados al proceso;
- comparar entre cerdos vestidos y desnudos, dado que las vestiduras favorecen la colonización, protegen al cadáver de la luz solar directa, le confieren cierta resistencia a la abrasión y afectan a la temperatura y humedad de los restos; entre cadáveres con heridas y sin heridas;
- comparar los resultados en distintas épocas del año y en diferentes cursos del río, lagos, etc.

Otra propuesta interesante sería variar el medio ambiente en un mismo modelo experimental. Esperamos haber abierto una nueva puerta a la investigación forense en nuestro país.

Por último, sigue pendiente el desarrollo de más estudios en ecosistemas marinos y estuarinos en Europa, como los llevados a cabo por *Colombage y Telisinghe, 2010* en Malasia (22), tras percatarse de la presencia de isópodos en la autopsia de un cadáver hallado en el mar, o los desarrollados por *Anderson y Hobischak, 2004* en Canadá (2).

VI. AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a Diego Fraile Fernández por su inestimable ayuda durante el trabajo de campo. Igualmente deseamos agradecer a la Dra. M^a Alejandra Perotti de la Universidad de Reading (UK) por la revisión crítica del manuscrito.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. GARCÍA-ROJO AM. Estudio de la sucesión de insectos en cadáveres en Alcalá de Henares (Comunidad Autónoma de Madrid) utilizando cerdos domésticos como modelos animales. *Boln. S.E.A.* 2004; 34: 263-269.
2. ANDERSON GS, HOBISCHAK NS. Decomposition of carrion in the marine environment in British Columbia, Canadá. *Int J Legal Med.* 2004; 118: 206-209.
3. MERRITT R, WALLACE J. The role of aquatic insects in forensic investigations. En: BIRD JH, CASTNER JL (ed). *Forensic Entomology. The utility of Arthropods in legal investigations.* 2^a ed, CRC Press. Boca Ratón FL; 2010: 271-321.
4. DICKSON G, POULTER R, MAAS E, PROBERT P, KIESER J. Marine bacterial succession as a potential indicator of postmortem submersion interval. *Forensic Science International.* 2011; 209: 1-10.
5. ARNALDOS MI, PRADO E CASTRO C, PRESA JJ, LÓPEZ-GALLEGO E, GARCÍA MD. Importancia de los estudios regionales de fauna sarcosaprófaga. Aplicación a la práctica forense. *Ciencia Forense.* 2006; 8: 63-82.
6. BARRIOS M, WOLFF M. Initial study of arthropods succession and pig carrion decomposition in two freshwater ecosystems in the Colombian Andes. *Forensic Science International.* 2011; 212: 164-172.
7. DI GIANCAMILLO A, GIUDICI E, ANDREOLA S, PORTA D, GIBELLI D, DOMENEGHINI C, GRANDI M, CATTANEO C. Immersion of piglet carcasses in water-The applicability of microscopic analysis and limits of diatom testing on an animal model. *Legal Medicine.* 2010; 12: 13-18.
8. VANIN S, ZANCANER S. Post-mortal lesions in freshwater environment. *Forensic Science International.* 2011; 212 (1-3): e18-e20.
9. CATTS E, GOFF M. Forensic entomology in Criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.* 1992; 37: 253-272.

10. CASADO C, LOSADA L, MOLLÁ S. Efecto de las áreas de protección especial en la comunidad de macroinvertebrados de los ríos de la cuenca alta del Manzanares (Sierra de Guadarrama, Madrid). *Limnetica*. 2011; 30 (1): 71-88.
11. ELLISON G. The effect of scavenger mutilation on insect succession at impala carcasses in Southern Africa. *J. Zool. Lond.* 1990; 220: 679-688.
12. WELLS J, LA MOTTE L. Estimating the postmortem interval. En: BYRD J, CASTNER J (ed). *Forensic Entomology: the utility of Arthropods in legal investigations*. 1ª ed. Boca Raton. CRC Press, 2001: 263-285.
13. BARRIENTOS JA (ed). *Curso práctico de Entomología*. Manuals de la Universitat Autònoma de Barcelona, 41. Asociación Española de Entomología. Alicante: CIBIO. Centro Iberoamericano de la Biodiversidad; Bellaterra: Universitat Autònoma de Barcelona, 2004.
14. SMITH K. *A Manual of Forensic Entomology*. New York: British Museum (Natural History) and Cornell University Press, 1986.
15. ZAHRADNÍK J. *Guía de los coleópteros de España y de Europa*. Barcelona: Omega, 1983.
16. CASTILLO MIRALBÉS M. Estudio de la entomofauna asociada a los cadáveres en el Alto Aragón (España). *Monografías Sociedad Entomológica Aragonesa*, 2002; 6: 94 pp.
17. MARTÍNEZ SÁNCHEZ AI, ROJO S, MARCOS-GARCÍA MA. Annual and spatial activity of dung flies and carrion in a Mediterranean holm-oak pasture ecosystem. *Medical and Veterinary Entomology* 2000, 14: 56-63.
18. SALOÑA BORDAS MI, MONEO PELLITERO J, DÍAZ MARTÍN B. Fenología de califóridos (Diptera, Calliphoridae) en la Comunidad Autónoma del País Vasco (C.A.P.V.). *Ciencia Forense* 2009-2010; 9-10: 93-104.
19. NEEDHAM J, NEEDHAM P. *Guía para el estudio de los seres vivos de las aguas dulces*. Barcelona, Bogotá Buenos Aires, Caracas, México, Río de Janeiro: Reverté, 1982.
20. REIGADA C, ZIBORDI GIÃO J, ALMEIDA GALINDO L, CONDE GODOY WA. Survival of submerged blowfly species and their parasitoids: Implications for post-mortem submersion interval. *Forensic Science International*. 2011, 212 (1-3): 126-129.
21. HAWLEY DA, HASKELL NH, MCSHAFFREY DG, WILLIAMS RE, PLESS JE. Identification of a Red «Fiber»: Chironomid larvae. *J. Forensic Sci.* 1989. 34 (3): 617-621.
22. COLOMBAGE S, TELISINGHE P. An unusual finding in a body recovered from the sea. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2010; 17: 289-290.

VII. ANEXOS

ORGANISMOS/DÍAS	0	3	7	10	14	17	21	24	30
Coleoptera, Hydrophilidae		■							
Heteroptera (<i>Gerris</i>)		■						■	■
Homoptera		■							
Psocoptera (cabeza)		■							
Diptera	■		■	■	■	■	■	■	
Calliphoridae (adulto)*	■		■	■	■	■	■	■	
<i>Lucilia caesar</i> (larva)				■	■	■	■		
<i>Calliphora vomitoria</i> (larva)				■	■	■	■		
Chironomidae (larva)		■							
CRUSTACEA									
<i>Austropotamobius</i> <i>sp.</i>		■	■	■		■	■		■

Tabla 1: Presencia (■) de organismos macroscópicos de posible interés forense en el cerdo 1 el día de inicio del experimento (día 0) y durante los estadios de putrefacción cadavérica correspondientes a fresco sumergido (día 3), flotación temprana (día 7), flotación en estado de descomposición (días 10 a 24) y flotación en estado de descomposición avanzada (día 30).

* No se procedió a la captura de dípteros adultos, a excepción de los restos de exoesqueleto del día 7 (*Lucilia caesar*) y a los adultos recogidos el día 14 (*Lucilia caesar*). Los dípteros adultos del día 0 fueron observados ovipositando antes de la introducción del cadáver en el agua y serían consistentes con los restos de exoesqueleto y las larvas identificadas como *Lucilia caesar*.

ORGANISMOS/DÍAS	3	7	10	14	17	21	24	30
Nematoda		■	■	■	■	■	■	
Protozoa		■	■					
<i>Scenedesmus</i>		■	■	■	■	■	■	■
<i>Protococcus</i>	■	■		■	■	■	■	■
<i>Crucigenia</i>	■							
<i>Diatoma</i>	■							
<i>Ophiocytium</i>	■							
<i>Kirchneriella</i>	■							
<i>Botryococcus</i>			■					
<i>Docidium</i>							■	
<i>Nitzchia</i>							■	
<i>Microspora</i>			■					
<i>Melosira</i>			■					
<i>Cyclotella</i>			■	■				

Tabla 2: Presencia (■) de organismos en las muestras de raspado de posible interés forense en el cerdo 1 durante los estadios de putrefacción cadavérica correspondientes a fresco sumergido (día 3), flotación temprana (día 7), flotación en estado de descomposición (días 10 a 24) y flotación en estado de descomposición avanzada (día 30).

ORGANISMOS/DÍAS	3	7	10	14	17	21	24	30
Nematoda			■		■	■	■	
Rotifera			■	■				
Protozoa*	■							
<i>Scenedesmus</i>	■	■	■			■	■	■
<i>Protococcus</i>	■							
<i>Crucigenia</i>	■							
<i>Pediastrum</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Frustulia</i>	■						■	
<i>Mougeotia</i>	■							
<i>Ankistrodesmus</i>		■	■					
<i>Melosira</i>		■	■	■			■	
<i>Tabellaria</i>		■				■	■	
<i>Desmidium</i>		■						
<i>Synedra</i>		■	■	■	■	■	■	■
<i>Botrycoccus</i>		■						
<i>Pinnularia</i>		■						
<i>Mesotaenium</i>			■					
<i>Cyclotella</i>			■					
<i>Ophiocytium</i>			■					
<i>Microspora</i>					■			
<i>Stephanodiscus</i>					■			
<i>Navicula</i>					■			
<i>Staurastrum</i>					■			
<i>Cosmarium</i>					■			
<i>Nitzschia</i>						■		

Tabla 3: Presencia (■) de organismos en las muestras de agua de posible interés forense en el cerdo 1 durante los estadios de putrefacción cadavérica correspondientes a fresco sumergido (día 3), flotación temprana (día 7), flotación en estado de descomposición (días 10 a 24) y flotación en estado de descomposición avanzada (día 30).

* El único protozoo que se pudo identificar correspondía al Género *Paramecium*, organismo perteneciente a la muestra de agua del día 3.

ORGANISMOS/DÍAS	3	7	10
<i>Scenedesmus</i>	■	■	■
<i>Nitzschia</i>	■		
<i>Protococcus</i>	■	■	■
<i>Synedra</i>	■	■	■
<i>Melosira</i>		■	■

Tabla 4: Presencia (■) de organismos en las muestras de raspado de posible interés forense recolectadas en el cerdo 2 durante los estadios de putrefacción cadavérica correspondientes a fresco sumergido (día 3) y a producción de gases abdominales manteniéndose en estado sumergido (días 7 y 10).

ORGANISMOS/DÍAS	3	7	10
Turbellaria		■	■
Gastrotrichia		■	
Protozoa		■	■
<i>Scenedesmus</i>	■	■	■
<i>Protococcus</i>	■	■	■
<i>Mesotaenium</i>	■	■	
<i>Cosmarium</i>	■	■	
<i>Pediastrum</i>	■	■	■
<i>Cyclotella</i>		■	
<i>Stephanodiscus</i>		■	
<i>Melosira</i>		■	■
<i>Ankistrodesmus</i>		■	
<i>Ophiocytium</i>		■	
<i>Synedra</i>		■	■

Tabla 5: Presencia (■) de organismos en las muestras de agua de posible interés forense en el cerdo 2 durante los estadios de putrefacción cadavérica correspondientes a fresco sumergido (día 3) y a producción de gases abdominales manteniéndose en estado sumergido (días 7 y 10).



Figura I: Emplazamiento del cerdo 1.



Figura II: Emplazamiento del cerdo 2. Día 0.



Figura III: Cerdo 1. Día 3. Cangrejo de río autóctono *Austropotamobius sp.* sobre restos del cadáver.



Figura IV: Cerdo 1. Día 7. Dípteros califóridos poniendo huevos (derecha) junto al cangrejo de río autóctono *Austropotamobius sp.* (izquierda).

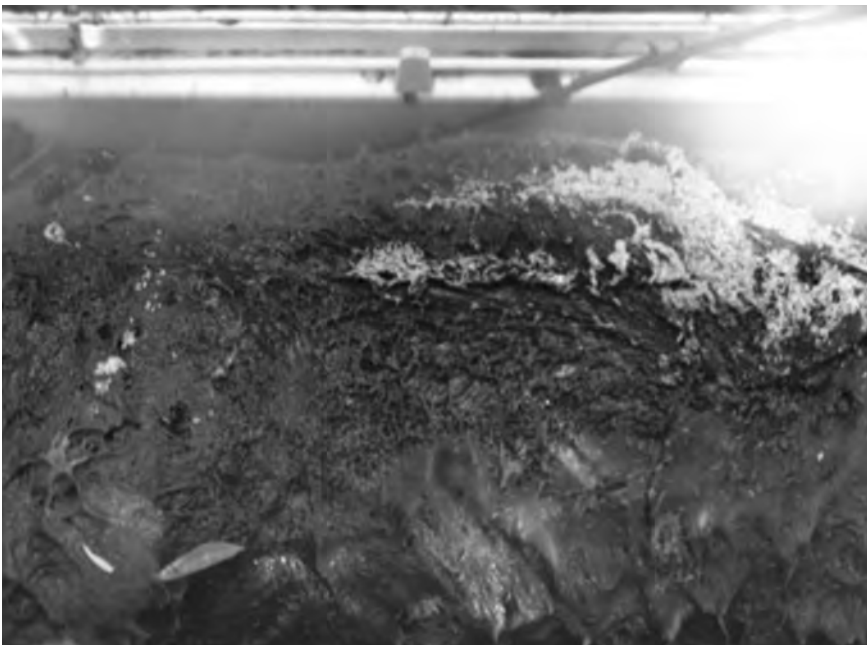


Figura V: Cerdo 1. Día 10, puesta y masa de larvas de díptero en fase I y II sobre el abdomen.

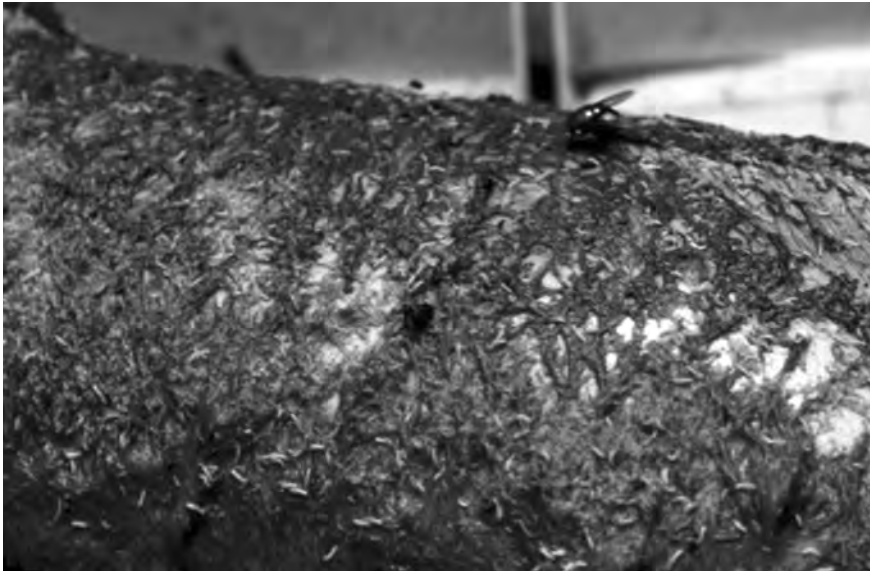


Figura VI: Cerdo 1. Día 14. Mosca califórida (*Lucilia cf. caesar*) adulta y larvas I y II sobre el abdomen del cadáver.



Figura VII: Cerdo 1. Día 17. Aumenta la población de larvas de califóridos sobre el abdomen del cadáver.



Figura VIII: Cerdo 1. Día 21. Los califóridos siguen llegando y se aprecia una importante masa larvaria en la región abdominal.



Figura IX: Cerdo 1. Día 24. Tras la migración no se aprecia ninguna larva en la cavidad abdominal; los califóridos siguen llegando atraídos por el olor de las vísceras en descomposición.



Figura X: Cerdo 1. Día 30. La mayor parte del cadáver continúa siendo devorado por *Austropotamobius sp.* como única presencia evidente junto a la chinche acuática del género *Gerris*.



Figura XI: Cerdo 2. Día 3, en estado fresco sumergido.



Figura XII: Cerdo 2. Día 10, en fase de producción de gases abdominales.