

OPERA LILLOANA Nº 54

María Rosana Ayón

— Editora —

— Primer libro sobre la especialidad escrito en Argentina —

Biología Forense

Botánica, ficología, micología, entomología, tafonomía
y genética aplicadas a la criminalística



Fundación Miguel Lillo
TUCUMÁN - ARGENTINA

BIOLOGÍA FORENSE

OPERA LILLOANA 54

Biología Forense

María Rosana Ayón

— Editora —

Servicio de Biología Forense, Departamento Técnico Científico,
Cuerpo de Investigaciones Fiscales, Ministerio Público de Salta.
Avda. Bolivia 4671, (CPA4408FV6) Salta Capital.
rosanaay@yahoo.com.ar



Fundación Miguel Lillo

Ministerio de Educación, Cultura, Ciencia
y Tecnología de la Nación

Ley 12.935 – Tucumán – República Argentina

— 2019 —

Ayón, María Rosana

Biología Forense / María Rosana Ayón. - 1a ed. - Tucumán : Fundación Miguel Lillo, 2019.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-950-668-037-4

1. Biología. 2. Criminalística. 3. Ciencias Forenses. I. Título.
CDD 570

Opera lilloana

Serie monográfica de la Fundación Miguel Lillo que incluye temas de botánica, zoología y geología en trabajos de investigación original.

Correo electrónico: actazooloagica@lillo.org.ar

ISSN 950-668-010-8

Fundación Miguel Lillo, 2019.

www.lillo.org.ar

Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina.

Telefax +54 381 433 0868

www.lillo.org.ar

Editor Área Zoología

Mariano Ordano (Fundación Miguel Lillo y CONICET / Unidad Ejecutora Lillo, Tucumán, Argentina).

Editor gráfico

Gustavo Sánchez (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Editor web

Andrés Ortiz (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Secretaría editorial Área Zoología

Felipe Castro (Fundación Miguel Lillo y Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina).

Pamela Gómez (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Eduardo Martín (Fundación Miguel Lillo y Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina).

María del Pilar Medina Pereyra (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Hugo Pablo Pereyra (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Franco Pucci Alcaide (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Guido van Nieuwenhove (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Florencia Vera Candiotti (CONICET / Unidad Ejecutora Lillo, Tucumán, Argentina).

María Paula Zamudio (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

María Eugenia Pérez (Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina).

Consultas bibliográficas y ventas

Centro de Información Geo-Biológico del Noroeste Argentino,

Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina.

Correo electrónico: biblioteca@lillo.org.ar

Ref. bibliográfica: Ayón, M. R. [Ed.]. 2019. «Biología Forense». *Opera lilloana* 54, Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

ISBN 978-950-668-037-4

Las opiniones y contenidos de los trabajos son exclusiva responsabilidad de los autores y no coinciden necesariamente con las posiciones de los editores o de *Opera lilloana*.

Derechos protegidos por Ley 11.723

Editado en Argentina.

Contenido

El rol de la biología en las ciencias forenses	9
MARÍA ROSANA AYÓN	
Una visión general de los indicios biológicos	11
ALEJANDRA GUINUDINIK	
<u>Capítulo 1</u>	
Criminalística	34
HÉCTOR ROLANDO BARBOZA	
<u>Capítulo 2</u>	
La botánica y su aplicación en las ciencias forenses	52
OLGA MARTÍNEZ	
<u>Capítulo 3</u>	
Aplicaciones forenses de las microalgas	62
NATALIA V. MATTANO, NORA I. MAIDANA	
<u>Capítulo 4</u>	
Micología forense	80
MARÍA CECILIA TRANCHIDA, MARTA NOEMÍ CABELLO	
<u>Capítulo 5</u>	
Entomología forense	92
MARÍA ROSANA AYÓN	

Capítulo 6

Patología forense 118
CLAUDIA MARCELA PORTELLI

Capítulo 7

Tafonomía forense 129
NOELIA INÉS ZANETTI

Capítulo 8

Genética forense 160
CECILIA MIOZZO

Micología forense

María Cecilia Tranchida, Marta Noemí Cabello

Instituto de Botánica C. Spegazzini UNLP-CIC-CONICET. Calle 53#477. Cp. 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina. ctranchida@conicet.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La micología es una rama de la biología, definida como la ciencia que estudia todos los grupos de hongos, Chitridiomycota, Mucoromycota, Zoopagomycota, Ascomycota, Basidiomycota y hongos imperfectos (Spathofora *et al.*, 2016). El término hongo o fungi hace referencia a organismos eucariotas, heterótrofos, cuyas paredes celulares son de quitina, entre los que se encuentran los vulgarmente llamados mohos, levaduras y setas. Los hongos se asocian a otros organismos de diferentes maneras: patógenos (causándole enfermedad al huésped), como comensales (sin perjudicarse ni beneficiarse mutuamente), mutualistas (siendo ambos organismos beneficiados por la asociación) o saprobios (degradando materia orgánica) (Alexopoulos y Mims, 1979).

El patrón de distribución geográfica de los hongos no ha sido tan estudiado como el de plantas o animales, pero estos organismos también presentan distribuciones particulares y preferencias de hábitats. Los hongos se dispersan generalmente por esporas de origen sexual o asexual; un hongo puede presentar ambos tipos de esporas en su ciclo de vida. Estas son útiles para la caracterización taxonómica, ya que posibilitan la determinación incluso a nivel de especie. La dispersión de las esporas, ya sea de forma individual o en masas, puede ser pasiva (por semillas, insectos, trozos de madera, heces de herbívoros, gotas de lluvia, etc.) o activa (un ejemplo es el género *Pilobolus*) (Alexopoulos y Mims, 1979). Las esporas por sí solas pueden ser indicativas de hábitats específicos, ya que a menudo son indicadores secundarios de especies de plantas (Wiltshire, Hawksworth, Webbe y Edwards, 2014). Su tafonomía también es compleja, pero hay evidencia de que la mayoría cae muy cerca de donde se reproducen, por lo tanto pueden caracterizar áreas pequeñas (Malloch y Blackwell, 1992; Galante, Hortony Swaney, 2001)

Hasta hace muy poco tiempo, el uso de la Micología como evidencia en casos criminales y su empleo como prueba ante la justicia estaban restringidos a casos relacionados con especies venenosas o psicotrópicas. Sin embargo, durante los últimos años se han registrado algunas situaciones en las cuales la presencia de los hongos ha sido tenida en cuenta como prueba válida ante la justicia (Hitosugi *et al.*, 2006; Tranchida, Bravo Berruezo, Stenglein y Cabello, 2018).

El término micología forense es relativamente nuevo y hace referencia al empleo de los hongos como evidencia para la resolución de casos con intervención judicial (Carter y Tibbett, 2003). El objetivo principal de esta rama de la biología forense es datar intervalos post-mortem y post-entierro a partir de la biota fúngica hallada en la superficie de un cuerpo o en el entorno relacionado a un entierro clandestino.

EVIDENCIA TRAZA

Las esporas de hongos, al igual que otros elementos palinomórficos, pueden ser transportadas mediante el contacto con algún elemento y son sometidas a consideraciones tafonómicas (Wiltshire, 2009a). Generalmente, cualquier superficie puede considerarse fuente de estructuras palinomórficas, siendo el suelo, sedimentos, plásticos, telas y vegetación las mayores fuentes para las investigaciones criminales. Pero las esporas de hongos (incluyendo líquenes) proveen evidencia traza en situaciones en las que otros tipos de estructuras son escasas o están ausentes (Wiltshire, 2009a).

La capacidad del hongo para desarrollarse depende de la existencia de un suministro adecuado de nutrientes. Para encontrar especies de hongos en estudios de campo, los micólogos se valen de su vista, lupa de mano y propia experiencia. Esto sumado a métodos de muestreo de vegetación y suelos, resulta en una buena forma de obtener muestras forenses de palinomorfos que pueden dar evidencia de especies, incluso extraordinariamente raras (Hawksworth y Wiltshire, 2011).

Existen pocos casos en la literatura que informan de hongos utilizados como rastro de evidencia en la escena del crimen; se pueden destacar dos ejemplos del Reino Unido. El primero se trata del homicidio de una mujer joven, cuyo cuerpo fue arrojado a una cama de ortigas. La ortiga (*Urtica dioica* L.) puede estar relacionada con alrededor de 92 especies de hongos, de los cuales aproximadamente 17 son conocidos por su relación con esta planta (Ellis y Ellis, 1997, 1998). Esporas de *Periconia* sp. y *Torula herbarum* (Pers.) Link, se encontraron en preparaciones palinológicas de la escena del crimen y también en el coche del sospechoso. Esto resultó un importante sustento ecológico y palinológico, evidencia que demuestra un vínculo entre el sospechoso y el lugar donde el cadáver había sido depositado (Hawksworth y Wiltshire, 2011).

El segundo caso ocurrió en un contexto de narcotráfico, donde un sospechoso de homicidio se ocultó en una arboleda en Romford, Essex. El ensamblaje de polen de la escena del crimen fue muy similar al asociado en artículos confiscados al sospechoso y la víctima. Las esporas de un hongo patógeno de ciprés *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert formaron parte de ese conjunto de palinomorfos. Además, esporas de *Endophragmiella* sp. fueron encontradas en la hojarasca y el vehículo usado durante la huida (Wiltshire, 2009b). Este fue un caso donde, a pesar de que los perfiles palinológicos de las muestras control y muestras colectadas para búsqueda de evidencia fueron similares, las esporas de los hongos proporcionaron una resolución adicional que añadió poderosa información para el tribunal.

La precisión de los datos de polen se ven reforzados por las esporas fúngicas, y proporcionan un mayor nivel de correlación entre muestras de comparación y ob-

jetos recuperados de sospechosos. Los hongos generalmente se encuentran en baja concentración en preparaciones palinológicas, significando que debe existir un gran número de palinomorfos para encontrar hongos. Así, las esporas raras mejoran el valor de esta clase de evidencia de rastreo (Wiltshire *et al.*, 2014). Esto está demostrado por un caso de violación investigado por la policía Inglesa en 2009, donde el relato de la víctima y el sospechoso discrepaba, entre otros aspectos, respecto del lugar. Diecinueve hongos característicos de hojas muertas y ramas de plantas leñosas se encontraron en la ropa y calzado de la víctima y/o sospechoso. La alta proporción de taxones coincidentes con el sitio descrito por la víctima resultó definitiva para la identificación de la escena real y la ulterior confesión del sospechoso y resolución del caso (Hawksworth, 2009a; Wiltshire, 2009a).

INTERVALO POST-MORTEM

En la actualidad y de forma casi sorprendente, es prácticamente nula la información sobre el papel de hongos en la descomposición de los cadáveres humanos (Janaway, 1996; Carter, Yellowlees y Tibbett, 2007). Janaway, Percival y Wilson (2009) comentaron que los hongos del suelo podrían estar involucrados en la superficie del cuerpo. Aunque los humanos sanos pueden tener infecciones micóticas, los hongos involucrados suelen ser especies especializadas, tolerantes a la temperatura del cuerpo humano y capaces de evadir el sistema inmune. Las infecciones comunes van desde hongos dermatofíticos, que parasitan la superficie de la piel, cabello y uñas, a infecciones invasivas, como candidiasis o aspergilosis que desarrolla en distintos tejidos (McGinnis, 1980; Ajello y Hay, 1998; de Hoog, Guarro, Gene y Figueras, 2000). En individuos inmunocomprometidos, una variedad de agentes fúngicos menos especializados pueden ocasionalmente invadir de forma oportunista los tejidos humanos (Smith, 1989).

Los hongos observados durante autopsias médicas pocas veces han sido tenidos en cuenta por los investigadores. Lo estudiado hasta el momento indica que se tratan de organismos sin relevancia médica no especializados, que solo colonizan y descomponen la superficie de los tejidos después de la muerte. Información clave en patología forense se pueden observar en el trabajo de Sakkudo y Knight (2004) que corresponde a un caso de crecimiento fúngico extenso luego de 6 semanas de ocurrido el deceso. Otro ejemplo está documentado por Dolinak, Matschey y Lew (2005), donde el desarrollo de hongos fue evidente luego de meses en un cadáver embalsamado. Sin embargo, los hongos involucrados generalmente no han sido identificados ni siquiera a nivel de género, ni fueron considerados como herramienta forense.

Los primeros investigadores en apreciar que el crecimiento fúngico en cadáveres tenía un papel en la determinación de la hora de la muerte fueron van de Voorde y van Dijck (1982). Estos autores hicieron aislamientos de la piel de una mujer hallada muerta en una habitación en Bélgica. Incubaron el material aislado a la misma temperatura que la que tenía el cuerpo encontrado y midieron los tamaños de las colonias fúngicas diariamente. Estimaron que la mujer había muerto

al menos 18 días antes del hallazgo, y eso estuvo de acuerdo exactamente con la posterior confesión por parte del homicida. Los hongos involucrados en este caso fueron: *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum candidum* Link, *Hormodendrum* sp., *Mortierella* sp. y *Penicillium chrysogenum* Thom.

Posteriormente, Ishii, Hitosugi, Yaguchi, Nishimura, Hosoya y Tokudome (2006) informaron crecimiento de hongos en la superficie de un cuerpo momificado encontrado en una casa abandonada, y en restos esqueléticos descubiertos en un bosque; a partir de esto sugirieron que los hongos «pueden revelar hábitats locales». Identificaron *Aspergillus chevalieri* Thom y Church, *Aspergillus repens* (Corda) Sacc, junto a *Aspergillus rubrum* (Jos. König, E. Spieckermann & W. Bremer) Thom y Church y *Gliocladium* sp. (en realidad probablemente una especie de *Clonostachys* sp). Los datos obtenidos concordaron con los resultados de las autopsias correspondientes.

Otro caso donde la incorporación de hongos como evidencia forense resultó fundamental, fue el hallazgo de un cadáver en un sistema de tuberías en Londres. El intervalo post-mortem, al inicio subestimado por las bajas temperaturas, ausencia de insectos y carroñeros, pudo finalmente determinarse por evidencia micológica (Wiltshire, 2005).

En 2009 la policía de Escocia llevó a cabo un estudio (Hawksworth, 2009b) sobre un homicidio en un lugar confinado, de tal forma que no se registraba actividad de fauna cadavérica. El cultivo de hongos detectado en el mobiliario, la recreación experimental de condiciones de humedad acordes (al menos 95% de humedad relativa) (Onions, Allsopp y Eggins, 1981), y la evaluación de la tasa de aumento de tamaño de las colonias permitieron establecer la fecha de la muerte. Las tres especies principales involucradas en esta investigación fueron *Mucor plumbeus* Bonord, *Penicillium brevicompactum* Dierckx y *Penicillium citrinum* Thom.

Las colonias fúngicas en cadáveres humanos, o asociadas a ellos, pueden dar indicaciones de tiempo de muerte, ya que hay información sobre las tasas de crecimiento de muchas especies. Pero la confiabilidad de cualquier estimación depende de la precisión de la identificación del hongo, el método de almacenamiento del cuerpo y la disponibilidad de datos como temperatura y humedad en el sitio. Todavía hay pocos datos precisos sobre tasas reales de crecimiento en tejidos humanos muertos, especialmente bajo diferentes condiciones de temperatura y humedad.

LOCALIZACIÓN DE CUERPOS

El entierro de cadáveres humanos en ambientes naturales y seminaturales ocurre mayormente como intento de ocultar la evidencia de un crimen, y la habilidad para localizar estas tumbas clandestinas puede ser una de las tareas más importantes del proceso de investigación (Tranchida y Cabello, 2017). El primer estudio experimental parece ser el de Parkinson *et al.* (2009), quienes intentaron comparar los cambios en las comunidades de hongos en el suelo en respuesta a la descomposición de cadáveres humanos en la superficie. Sus resultados expusieron que las muestras control fueron significativamente diferentes a las muestras tomadas bajo los cadáveres. A

pesar de lo innovador del ensayo, no se evaluó la sucesión fúngica del suelo bajo la influencia de cuerpos en descomposición y tampoco se identificó a nivel específico la micobiota desarrollada. Anteriormente, Carter y Tibbett (2003) realizaron ensayos en suelos de bosques donde simulaban el aporte de compuestos nitrogenados que un cuerpo humano en descomposición haría al suelo y pudieron diferenciar, a grandes rasgos, dos grupos fúngicos heterogéneos durante la sucesión que denominaron: «hongos del Nitrógeno», a los que aparecen en una etapa temprana como hongos imperfectos, Ascomycetes, y Basidiomycetes saprótrofos, que esporulan entre uno y 10 meses después de la incorporación del Nitrógeno al suelo; y «hongos de la post-putrefacción», a los que lo hacen de forma tardía, que pueden esporular entre uno y cuatro años luego del aporte nitrogenado, como Basidiomycetes que forman ectomicorrizas. El potencial de los hongos para la detección de lugares de entierro fue mencionado por Sagara (1992) y ha sido resaltado por Carter y Tibbett (2003), y Tibbett y Carter (2003). Sin embargo existe al día de hoy una amplia discusión acerca de la aplicación de estos organismos en la detección de tumbas clandestinas, debido al poco número de casos que sustentan esta evidencia y a la identificación de las especies que los autores antes mencionados realizaron en sus trabajos. Por otro lado los hongos pueden ser indicadores de alteraciones en la escena del crimen, donde ramas o materia vegetal haya sido movida o alterada. Los hongos son geotrópicos, y en el caso de las setas (hongos de sombrero) el estipe o pie crece de manera vertical y el píleo o sombrero de manera horizontal; cuando son movidos enseguida buscan reorientarse para seguir creciendo de esta forma, mostrando deformaciones, haciendo posible reconocer si la escena del crimen ha sido alterada. La policía de Gales se basó en la reorientación de esporóforos de *Marasmius* sp. para desestimar un testimonio durante la identificación de la tumba supuestamente intacta de una víctima de homicidio (Hawksworth y Wiltshire, 2011).

El tiempo es un factor crítico para el empleo de estos datos como evidencia en tales investigaciones. Simples experimentos podrían llevarse a cabo para evaluar el tiempo requerido para la reorientación del hongo.

LOS HONGOS COMO AGENTES DE ENVENENAMIENTO, ALUCINACIONES Y CAUSA DE MUERTE

Es conocido el consumo de hongos por el ser humano, siendo común la intoxicación por especies mal identificadas. La ingesta accidental o deliberada, puede llegar a ocasionar graves enfermedades, e incluso la muerte. Esta situación se ve agravada si quien colecta hongos silvestres no se encuentra entrenado en la identificación, o no cuenta con una guía apropiada para el reconocimiento de las especies de la región.

En la mayoría de los casos, los resultados no son fatales pero varían según la cantidad consumida y la tolerancia de los individuos. En algunas situaciones, la aparición de los síntomas es rápida, mientras que en otras, pueden no ser evidentes por varios días. Las especies de hongos más tóxicas son aquellas que producen amanitinas, giromitinas, muscarinas y orellaninas, correspondientes a los géneros *Amanita*

Dill. ex Boehm, *Gyromitra* Fr., *Conocybe* Fayod e *Inocybe* (Fr.) Fr. y *Cortinarius* (Pers.) Gray, respectivamente; de las cuales solo pequeñas cantidades pueden resultar fatales (Benjamin, 1995). El número de especies realmente venenosas es acotado, pero un gran número puede causar trastornos gástricos. Desafortunadamente algunas de las especies venenosas son bastante comunes y para el público no especialista pueden parecer similares a otras especies comestibles. En casos de intoxicación donde no se cuenta con ejemplares intactos para el examen, las esporas y otros restos microscópicos en el contenido de estómago e intestino pueden usarse para determinar la especie. Esto resulta indispensable para el diagnóstico y tratamiento correctos (Margot, Farquhar y Walting, 1984).

El uso de hongos como alucinógenos, neurotrópicos o drogas psicoactivas, tiene sus raíces en la antigüedad tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo. En todos los países que han firmado la Convención de la ONU de 1971, el uso de sustancias psicotrópicas derivadas de hongos es controlado por la legislación. Por ejemplo, el uso y posesión de setas que producen drogas como la psilocibina y la psilocina son ilegales. Existen al menos 216 especies de hongos que se sabe poseen sustancias neurotrópicas, siendo las de los género *Psilocybe* (Fr.) P. Kumm. y *Amanita* las más conocidas y buscadas con este fin. Sin embargo, las concentraciones de psilocibina o amanitina pueden variar ampliamente dentro de una sola especie como resultado de factores biológicos o ecológicos (Stamets, 1996; Guzmán, Allen y Gartz, 2000; Guzmán, 2009).

En escenas del crimen es común encontrar especies fúngicas que no son de la región, debido a su exportación y tráfico. No obstante, se pueden detectar los compuestos psilocina y psilocibina mediante métodos de cromatografía de capa fina (TLC), por cromatografía de gases, espectrometría de masa (GC-MS), cromatografía líquida de gases (GLC), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y espectroscopia. Los métodos químicos son especialmente valiosos para detectar la presencia de hongos alucinógenos en preparaciones en forma de polvos, tabletas o cápsulas (Heim, Genest, Hughes y Belec, 1996; Cole, 2003).

Si bien no es normalmente fatal el uso irresponsable de las especies antes mencionadas, éste puede conducir a la muerte ya sea como resultado de un comportamiento errático bajo la influencia de las drogas que contienen, o como resultado de mezclar extractos de los hongos junto con otras drogas.

EL DESARROLLO DE LA MICOLOGÍA FORENSE EN LA ARGENTINA

La Micología Forense como línea de investigación en la Argentina surge en el año 2012, en el marco de las investigaciones desarrolladas en el Instituto de Botánica Carlos Spegazzini, Universidad Nacional de La Plata junto al CONICET. El objetivo general que plantean los investigadores es: i) estimar intervalos post-mortem a partir de los hongos hallados en cadáveres; ii) conocer el intervalo post-entierro a partir de la biota fúngica del suelo en fosas clandestinas.

El estudio más destacado en el intento de establecer el intervalo post-entierro se realizó sobre el caso de la desaparición de un individuo, reportado a la policía local (Tranchida, Centenoy Cabello, 2014). El cuerpo fue hallado pasados 24 días del reporte de su desaparición en un descampado de la provincia de Buenos Aires. Al momento del hallazgo, aspectos de la vegetación, datos climatológicos, y las diferencias de composición específica de la biota fúngica entre muestras de suelo tomadas bajo el cadáver y en sitios control permitieron estimar la fecha del deceso. En el suelo bajo el cuerpo se identificaron: *Dichotomomyces cejpui* (Milko) D.B. Scott, *Talaromyces trachyspermus* (Shear) Sotolk y Samson, *Talaromyces udagawae* Stolk y Samson, *Talaromyces flavus* (Klöcker) Sotolk y Samson, *Penicillium restrictum* J.C. Gilman y E.V. Abbott, *Penicillium purpureescens* (Sopp) Raper y Thom y *Penicillium frequentans* Westling mientras que en las muestras control fueron identificadas *Mucor hiemalis* Wehmer, *Mortierella* sp., *Absidia* sp., *P. frequentans*, *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luannsa-ard, Houbraken Hywel-Jones y Samson, *Trichoderma koningii* Oudem, *Fusarium oxysporum* Schltdl, *Clonostachys rosea* (Link) Schroers, Samuels, Seifert y W. Gams, *Aspergillus terreus* Thom, *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. La diferencia en cuanto a la composición de especies de las muestras bajo el cadáver y las muestras control, están relacionadas con los compuestos nitrogenados que recibe el suelo por la descomposición de los restos humanos. Según Tibbett y Carter (2003), los hongos de suelos forestales tratados experimentalmente con urea, amonio u otros compuestos nitrogenados como los que libera el cuerpo al descomponerse, pueden formar estructuras de esporulación en un tiempo mucho menor al que lo harían en suelos sin tratamiento con nitrógeno. Como se mencionara anteriormente, los denominados «hongos del Nitrógeno» y de la «post-putrefacción», son grupos de organismos descomponedores que intervienen en diferentes etapas del proceso de sucesión intrínseco que ocurre durante la descomposición natural de un cuerpo. Los hongos del nitrógeno se hallan en las primeras etapas de la sucesión, e incluyen Ascomycetes y Basidiomycetes saprótrofos. De acuerdo con Sagara (1992), y Fukiharuy Hongo (1995), *D. cejpui*, *T. trachyspermus*, *T. flavus*, y *T. udagawae*, que pertenecen a los Ascomycota, corresponderían a los hongos de fase temprana o «del nitrógeno», y el hallazgo de estas especies con sus cuerpos fructíferos es un buen indicador de un período de 25 días post-entierro del cuerpo. Este estudio es el primer registro para Argentina y América del Sur de hongos de suelo aislados e identificados a partir de un sitio donde ocurrió la descomposición de un cuerpo en condiciones naturales.

Por otro lado se realizan estudios de hongos asociados a cuerpos humanos en descomposición y el intervalo post-mortem. El número de estudios sobre la relevancia del papel de los hongos que intervienen en la descomposición de cadáveres, ha ido en aumento en los últimos años, como lo demuestra un creciente número de publicaciones en micología forense (Schwarz *et al.*, 2015).

En Argentina, los primeros pasos se han dado estudiando la diversidad de hongos sobre cuerpos con diferente intervalo post-mortem (IPM, conocido por las autopsias e investigaciones policiales). El primero (cadáver 1) con un IPM de 4 meses (encerrado en una habitación donde la temperatura fue de entre 8 y 17°C), hallado en posición supina, con notable estado de descomposición y evidente crecimiento fúngico en toda su superficie, el resultado de la autopsia realizada concluyó

que la muerte se debió a causas naturales por paro cardiorrespiratorio; el segundo cuerpo (cadáver 2), fue encontrado aproximadamente 20 horas (IPM) después del reporte de desaparición de la víctima, en posición supina en el piso de un edificio en construcción, la temperatura promedio fue de 12 °C, la autopsia determinó que la causa de la muerte era fractura de cráneo.

Las muestras fueron tomadas mediante técnicas microbiológicas estándares con material estéril y procesadas según Tranchida *et al.* (2018).

A partir del cadáver 1 fueron aisladas e identificadas colonias de *Chrysosporium merdarium* (Link) J.W. Carmich, *Cladosporium cladosporioides* (Fresenius) de Vries, *Arthrimum arundinis* (Corda) Dyko y B. Sutton, *Microascus brevicaulis* Abbott, *Aspergillus niger* Tiegh., *A. terreus* Thom, *Candida guilliermondii* (Castell.) Langeron y Guerra (Saccharomycetes; Saccharomycetaceae), y *Candida lipolytica* (F.C. Harrison) Diddens & Lodder ; mientras que a partir del cadáver 2 solo fueron aisladas *A. terreus*, *A. niger* y *C. guilliermondii*.

Es conocida la patogenicidad de *M. brevicaulis* en humanos debido a su actividad queratinolítica, por lo que es capaz de infectar las uñas (Cox e Irving, 1993). No hay información disponible actualmente sobre el rol particular de actividades enzimáticas y metabólicas de especies obtenidas de cadáveres (Ajello, 1998).

Se sabe que los hongos del suelo son capaces de invadir la superficie de un cuerpo sin vida debido a la falta de barreras inmunológicas presentes y activas en el cuerpo humano vivo y saludable (Sagara, Yamanakay Tibbett, 2008; Janaway *et al.*, 2009). Por el contrario, las especies de hongos que son patógenos para los seres humanos, pueden tolerar las temperaturas corporales de los mamíferos y superar las barreras de inmunidad.

El presente estudio aporta valiosa información a los pocos trabajos previos en micología forense, siendo esta la primera cita de las especies *Chrysosporium merdarium*, *Cladosporium cladosporioides*, *Arthrimum arundinis* y *Candida lipolytica* en asociación con cadáveres humanos. El grupo de hongos hallados en el cadáver 1, dan un indicio de la biota fúngica que puede identificarse a partir cuerpos humanos con IPM de cuatro meses durante el otoño-invierno en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Por otro lado según Hawksworth y Wiltshire (2011) los hongos pueden colonizar el cuerpo entre los 3 y 7 días posteriores al deceso, por lo que mediante la biota fúngica aislada del cadáver 2 se pudo estimar que su IPM fue menor a 72 hs.

Debido a que los registros acerca de los hongos como herramienta para establecer tiempo y lugar de muerte son todavía preliminares y hasta el momento estudiados en casos aislados, con resultados no obtenidos por experimentación sistemática, el avance de la micología forense en la Argentina postula a nuestro país entre los pioneros en la implementación de esta nueva herramienta.

CONSIDERACIONES GENERALES ACERCA DE LA MICOLOGÍA FORENSE

Los hongos claramente pueden proporcionar datos útiles y por esta razón las comunidades fúngicas pueden ser propuestas como herramienta forense. La escasa

cantidad de datos obtenidos a partir de estudios de campo resulta de la falta de investigadores forenses entrenados en esta disciplina, sumado a la poca información acerca de que los hongos pueden contribuir significativamente en la investigación. Una caracterización completa de los aislamientos fúngicos a nivel de especie en cada caso forense es fundamental para obtener la información necesaria sobre las colonias de hongos aisladas, como sus requerimientos nutricionales, temperatura óptima y actividades enzimáticas, que permitirán a los investigadores determinar el IPM y el lugar de la muerte. La obtención de tales datos, sin embargo, requiere personal capacitado en el área de micología con énfasis en las ciencias forenses. Esto es el principal inconveniente ya que existen pocos lugares en el mundo donde se estudia la implicancia de los hongos como evidencia forense., Sumado al escaso número de investigadores formados y entrenados en la identificación sistemática del gran número de especies de hongos descritos, el cual se incrementa año a año. A la falta de profesionales se suma la falta de guías de identificación de hongos, por ejemplo alucinógenos y venenosos que ayuden al reconocimiento de las especies halladas en las escenas de crimen. Puede emplearse la identificación molecular de las especies, para lo que es necesario una base de datos sólida con secuencias cuya identificación morfológica de las colonias haya sido precisa, y se sabe que actualmente en GenBank existen errores en este aspecto.

Por otro lado, es necesario que los oficiales de la justicia conozcan acerca del actual desarrollo de esta herramienta y su implicancia como evidencia judicial, ya que son quienes deben solicitar la toma de las muestras, el análisis de las mismas y el aporte que de ellas se pueden obtener para la resolución de casos. En vista de lo anterior, las situaciones en que la justicia puede considerar el uso de la micología se puede resumir de la siguiente manera:

- Como parte integral de la evaluación ecológica en las escenas del crimen, especialmente en situaciones al aire libre.
- Cuando el momento de la muerte o la deposición es incierto y las colonias de hongos son evidentes en restos humanos, vestimenta o artículos asociados. Esto es particularmente importante si no es posible obtener datos a partir de la entomología. Si hongos y fauna cadavérica se encuentran juntos, los hongos se pueden considerar como una línea independiente de evidencia.
- Cuando se encuentran hongos en las posesiones de un sospechoso, en contenido intestinal, o en alimentos y bebidas asociados con muertes o comportamiento neurotrópico.

A nivel mundial se están realizando poco a poco tareas de investigación para proporcionar información adicional a las causas judiciales a partir de la micología. Cabe resaltar la necesidad de obtener datos de casos reales como de experimentación a campo, tarea que hoy debería ser prioridad para los grupos de investigación en el área. El fruto del esfuerzo conjunto de los investigadores, convertirá sin duda a la micología forense en una herramienta sólida y bien establecida que ayude a resolver casos complejos en todo el mundo.

LITERATURA CITADA

- Ajello, L., Hay, R. J. (1998). Medical mycology. En Topley Wilson's Microbiology and Microbial Infections (487-496). London: Arnold.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C. W. (1979). Introductory Mycology. New York: Wiley J. and Sons.
- Benjamin, D.R. (1995). Mushrooms: Poisons and Panaceas. A Handbook for Naturalists, Mycologists, and Physicians. New York: W.H Freeman.
- Carter, D.O., Tibbett, M. (2003). Taphonomicmycota: fungi with forensic potential. Journal of Forensic Science, 48, 168-171.
- Carter, D.O., Yellowlees, D., Tibbett M. (2007). Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems, Naturwissenschaften, 94, 12-24.
- Cole, M.D. (2003). The analysis of psilocybin and psilocin from fungi. En The Analysis of Controlled Substances (127- 137). New York: J. Wiley.
- Cox, N.H., Irving, B. (1993). Cutaneous 'ringworm' lesions of *Scopulariopsis brevicaulis*. British Journal Dermatology, 129(6), 726-728.
- deHoog, G.S., Guarro, J., Gene J., Figueras, M.J. (2000). Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed. Netherlands:Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Dolinak, D., Matschey, E.W., Lew, E. O. (2005). Forensic Pathology: Theory and Practice. Amsterdam: Elsevier.
- Ellis, M.B., Ellis, J.P. (1997). Microfungi on Land Plants: An Identification Handbook, 2nd ed. England: Richmond Publishing.
- Ellis, M.B., Ellis, J.P. (1998). Microfungi on Miscellaneous Substrates: An Identification Handbook, 2nd ed. England: Richmond Publishing.
- Fukiharu, T., Hongo, T. (1995). Amonia fungi of Iriomote Island in the Southern Ryukyus, Japan and new ammonia fungus, *Hebelomaluchuense*. Mycoscience, 271 (36), 425-430.
- Galante, T.E, Horton, T. R., Swaney D.P. (2001). 95% of basidiospores fall within 1 m of the cap: a field- and modelling-based study. Mycologia, 103, 1175-1183.
- Guzmán, G. (2009). The hallucinogenic mushrooms: diversity, traditions, use and abuse with special reference to the genus *Psilocybe*. En Fungi from Different Environments (256-277). England: Science Publishers. .
- Guzmán, G., Allen, J. W., Gartz, J. (2000). A worldwide geographical distribution of the neurotropic fungi, an analysis and discussion. Annales del MuseoCivico de Rovereto, 14, 89-280.
- Hawksworth, D. L. (2009 a). Report on Identification of Fungal Spores, Report to Wiltshire Constabulary.
- Hawksworth, D. L. (2009b). Final Report on Mycological Findings Associated with Operation Lynx, Report for Tayside Police, Dundee.
- Hawksworth, D.L., Wiltshire P. E. J. (2011). Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. Forensic Science International, 206, 1-11.
- Heim, R., Genest, K., Hughes, D. W., Belec, G. (1966). Botanical and chemical characterization of a forensic mushroom specimen of the genus *Psilocybe*. Journal of Forensic Science Society, 6, 192-201.

- Hitosugi, M., Ishii, K., Yaguchi, T., Chigusa, Y., Korus, A., Kido, M. (2006). Fungi can be a useful forensic tool. *Legal Medicine*, 8, 240–242.
- Ishii, K., Hitosugi, M., Yaguchi, T., Nishimura, K., Hosoya, T., Tokudome, S. (2006). Analysis of fungi detected in human cadavers. *Legal Medicine*, 8, 188–190.
- Janaway, R. C. (1996). The decay of buried human remains and their associated materials. En: *Studies in Crime: An Introduction to Forensic Archaeology* (58–85). London: Routledge.
- Janaway, R. C., Percival, S.L., Wilson, A. S., (2009). Decomposition of human remains. En *Microbiology and Aging: Clinical Manifestations*(313–334). New York: Springer.
- Margot, P., Farquhar, G., Watling, R. (1984). Identification of toxic mushrooms and toadstools (agarics) – an on-line identification program. En *Databases in Systematics* (249–261), London : Academic Press.
- Malloch, D., Blackwell, M. (1992). Dispersal of fungal diaspores. En *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem* (147–171).New York: Marcel Dekker.
- McGinnis, M. R. (1980). *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. New York: Academic Press.
- Onions, A. H. S., Allsopp, D., Eggins, H. O. W. (1981).*Smith's Industrial Mycology*. London: Edward Arnold.
- Parkinson, R. A., Dias, K. R., Horswell, J., Greenwood, P., Banning, N., Tibbett, M., Vass, A. A. (2009). Microbial community analysis of human decomposition in soil. En *Criminal and Environmental Soil Forensics* (379-394). Dordrecht: Springer Science and Business Media.
- Sagara, N. (1992). Experimental and epigeous fungi. En *The fungal community. Its organization and role in the ecosystem* (427-428). New York: Marcel Dekker.
- Sagara, N., Yamanaka, T., Tibbett, M. (2008). Soil fungi associated with graves and latrines: toward a forensic mycology. En *Soil analysis in forensic taphonomy: chemical and biological effects of buried human remains* (67-107). USA: CRC Press.,
- Saukko, P., Knight, B. (2004). *Knight's Forensic Pathology*. London: CRC Press.
- Schwarz, P., Dannaoui, E., Gehl, A., Felske-Zech, H., Birngruber, C. G., Reinhard, B., Dettmeyer, R. B., Verhoff, M. A. (2015). Molecular identification of fungi found on decomposed human bodies in forensic autopsy cases. *International Journal of Legal Medicine*, 129, 785-791.
- Smith, J. M. B. (1989). *Opportunistic Mycoses of Man and Other Animals*. Wallingford: CAB International.
- Spatafora, J. W., Chang, Y., Benny, G. L., Lazarus, K., Smith, M. E., Berbee, M. L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev I., Gryganskyi, A., James, T. Y., O'Donnell, K., Roberson, R. W., Taylor, T. N., Uehling, J., Vilgalys, R., White, M. M., Stajich, J. E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108(5), 1028-1046.
- Stamets, P. (1996). *Psilocybin Mushrooms of the World and identification guide*. California: Ten Speed Press.

- Tibbett, M., Carter, D.O. (2003). Mushrooms and taphonomy: the fungi that mark woodland graves. *Mycologist*, 17, 20-24.
- Tranchida, M. C., Centeno, N. D., Cabello, M. N. (2014). Soil fungi: Their potential uses a forensic tool. *Journal of Forensic Science*, 59, 785-789.
- Tranchida, M. C., Cabello, M. N. (2017). The Mycology as Forensics Tool. *Advanced Techniques in Biology and Medicine*, 5, 226.
- Tranchida, M. C., Bravo Berruezo, L. E., Stenglein, S. A., Cabello, M. N. (2018). Mycobiota associated with human cadavers: First record in Argentina. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 51 (2), 39-47.
- van de Voorde, H., van Dijck, P. J. (1982). Determination of the time of death by fungal growth. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, 89, 75-80.
- Wiltshire, P. E. J. (2005). Estimated Time of Death of a Corpse on a Railway Line at Ruislip Station. London: Report for British Transport Police.
- Wiltshire, P.E.J. (2009 a). Forensic ecology, botany, and palynology: some aspects of their role in criminal investigation. En *Criminal and Environmental Soil Forensics* (129-149). Dordrecht: Springer Science and Business Media. .
- Wiltshire, P. E. J. (2009 b). Report on Palynological Analysis of Comparator Samples, Clothing and Footwear in the Case of R. v. I. Wiltshire, Report to Wiltshire Constabulary.
- Wiltshire, P. E.J, Hawksworth, D. L., Webbe, J. A., Edwards, K. J. (2014). Palynology and mycology provide separate classes of probative evidence from the same forensic samples: A rape case from southern England. *Forensic Sciences International*, 244, 86-195.