

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ENTOMOTOXICOLOGÍA DE METALES PESADOS”

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

PRESENTA

EDGAR JOSUÉ VÁZQUEZ CORTÉS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO

TUTORA: MARÍA ELENA BRAVO GÓMEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA CD.MX

AÑO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Gracia Mora María Isabel
VOCAL: Cañizares Macias María del Pilar
Secretario: Bravo Gómez Maria Elena
1er SUPLENTE: Gavilán García Irma Cruz
2do SUPLENTE: Gutierrez Flores Selena

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Facultad de Medicina, Licenciatura en ciencias forenses

ASESORA DEL TEMA

Dra. Maria Elena Bravo Gómez

SUSTENTANTE

Edgar Josué Vázquez Cortés

ÍNDICE

Índice de figuras y tablas y gráficas	3
Abreviaturas	4
1.-Presentación	6
2.-Introducción	8
2.1.- Entomotoxicología	9
2.2.- Interacción metal-insecto	17
2.3.- Metales pesados en el ambiente	19
2.4.- Entomotoxicología ambiental y metales pesados	22
2.5.- Estudios del efecto de metales sobre especies de interés ambiental"	24
2.6.- Entomorremediación	26
2.7.- Entomofagia	27
2.8.-Entomotoxicología forense y metales pesados	29
2.8.1- Insectos de interés forense	30
2.9.-Estudios reportados sobre el efecto de metales en entomofauna de interés forense	34
3.- Discusión	37
4.- Conclusión	43
5.- Bibliografía	44

Índice de figuras y tablas y gráficas

Fig 1. Reorganización de la entomotoxicología dentro de la ecotoxicología. Revisiting the concept of entomotoxicology, Hodecek, 2020.	16
<i>Tabla 1. Sucesión ecológica en cadáveres K. Smith (1986)</i>	32
Grafica 1: Enfoque de los artículos publicados entre 2016 y 2021	38
Gráfica 2: Enfoque de los artículos publicados sobre entomotoxicología forense entre 2016 y 2021	39
Gráfica 3: Enfoque de los artículos publicados sobre entomotoxicología ambiental entre 2016 y 2021	39
Gráfica 4: Cantidad de artículos referentes a entomotoxicología de metales pesados citados por década	41
Gráfica 5: Cantidad de artículos publicados para metales de interés	41
<i>Gráfica 6: Cantidad de artículos publicados por género de de insectos de interés</i>	42

Abreviaturas

Al: Aluminio

As: Arsénico

Ba: Bario

Bi: Bismuto

BSFL: (Por sus siglas en inglés) Larva de la mosca *Black Soldier*

Ca: Calcio

Cd: Cadmio

Cr: Cromo

Cu: Cobre

Fe: Hierro

Ga: Galio

GSR: (Por sus siglas en inglés) residuos de arma de fuego

Hg: Mercurio

K: Potasio

MCFS: (Por sus siglas en inglés) Sedimentos de tierra contaminados con metales

Mg: Magnesio

Mn: Manganeseo

Mo: Molibdeno

Ni: Niquel

P: Fósforo

Pb: Plomo

PMI: Intervalo Postmortem

S: Azufre

Sb: Antimonio

Se: Selenio

Si: Silicio

(SWASV): Voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada

Zn: Zinc

1.-Presentación

Las primeras prácticas realizadas con el fin de estudiar las consecuencias toxicológicas de xenobióticos en insectos, propuestas después de los trabajos de Campbel en 1926, eran lideradas y con el enfoque completo de entomólogos por lo que en muchas ocasiones dejaban fuera la visión del químico en el laboratorio y del toxicólogo en la farmacocinética.

Dando una visión mucho más global de la entomotoxicología y la manera en la que se desarrolla en el más reciente siglo es que se ha realizado este trabajo monográfico de actualización.

Así, a partir de una búsqueda exhaustiva de bibliografía referente al campo de la entomotoxicología, con un enfoque particular en los metales pesados como xenobióticos de interés, surge el objetivo de construir una base de datos actualizada en la que se pueda respaldar la información veraz y concisa referente al campo de la entomotoxicología de metales, sus nuevos prospectos, más recientes aplicaciones y hallazgos para más adelante formular nuevos proyectos en los que la entomotoxicología represente soluciones eficientes para problemáticas reales en nuestro país.

Para alcanzar estas metas y con el fin de recolectar la información de mayor veracidad, se realizó una búsqueda global de artículos científicos en bases de datos como *Springer Link, Elsevier, Pubmed, Scifinder* y *Google Académico* con el fin de contextualizar y entender el desarrollo de la entomotoxicología a lo largo de la historia. De esta información se seleccionaron aquellos artículos que tienen como xenobióticos de interés los metales pesados. Posteriormente, se buscó bibliografía con el tópico de metales pesados e insectos para encontrar la relación que la entomotoxicología tiene con otras ramas de estudio. Entendidos los antecedentes, se analizaron los artículos encontrados para entender la dirección en la que la entomotoxicología apunta y en un último paso se realizó una búsqueda y recopilación actualizadas comprendidas desde 2016 a 2021 de los avances y propósitos dentro de este campo. Las principales palabras clave empleadas en los motores de búsqueda son:

- *Entomotoxicology*
- *Forensic Entomotoxicology*
- *Ecotoxicology*
- *Heavy Metal pollution*
- *Heavy metals effects on insects*

De manera complementaria se buscaron los metales de interés: Ba; Bi; Cu; Fe; Hg; Mg; Mo; Se; Zn; Al; As; K; Pb; Si; Ca; Cd; Ga; Mn; P; S, Sb, Ni, Cr.

Y los insectos: *Diptera Chrysomya, Megaelia, Chironomus, Lucilia, Sarcophaga, Drosophila, BSFL, Calliphora. Aedes*

2.-Introducción

La primera vez que se hace referencia a la entomotoxicología es en 1926 con un pequeño artículo publicado por F.L. Campbell en el que precisa que el estudio del envenenamiento en los insectos se ha visto oscurecido por la falta de un nombre significativo.

Desde entonces, él describe la necesidad de probar los insecticidas en laboratorios, cooperar con el desarrollo de la entomología económica y construir un conocimiento similar a la toxicología de vertebrados o la farmacología humana, enfocada a la determinación cuantitativa de los efectos que los insecticidas tienen sobre los insectos.

Para estudiar todas estas nuevas interrogantes, Campbell define en una nueva disciplina a la que nombra como "*Insect Toxicology*" (Campbell, 1926).

Su definición no sería del todo aceptada por el gremio científico pero despertó interés en el tema y en años posteriores surgieron más estudios enfocados en las consecuencias del envenenamiento en insectos. Aunque los principales objetivos eran estudiar la efectividad de los insecticidas (Williamson, 1924; Herrick & Griswold, 1932), su enfoque se diversificó en el estudio del ciclo de vida de los insectos, así como, de otros xenobióticos.

Aunque en un principio la entomotoxicología y la toxicología de insectos significan lo mismo, el enfoque desarrollado a partir de los trabajos de Campbell es distinto al enfoque con el que surge la entomotoxicología tiempo después y de forma paralela en la medicina legal. Los trabajos de Campbell abrieron la puerta a posteriores estudios ecológicos y el análisis de otros xenobióticos de entre los que destacan los metales pesados y los efectos ambientales que estos producen. Con un panorama más amplio de estudio, la toxicología de insectos fue acogida por la ecotoxicología extendiendo sus objetivos para determinar cambios en el comportamiento de los insectos, el impacto de los contaminantes en las comunidades, cambios fisiológicos atribuibles al envenenamiento, cambios en parámetros biológicos y los dos más importantes; el uso de insectos como bioindicadores y el transporte de contaminantes en las redes tróficas.

2.1.- Entomotoxicología

La entomotoxicología ha tomado parte como una ciencia nueva que se desarrolla y expande y aunque la toxicología de insectos de Campbell (1926) es el trabajo pionero en este campo, el origen de esta disciplina no puede ser atribuido por completo a él pues la primera vez que se hace referencia a la entomotoxicología es bajo un concepto que Campbell no imaginaba: la ciencia forense. Así, el estudio de los efectos causado por xenobióticos en insectos toma en sus inicios dos rumbos: el análisis ambiental y repercusiones ecológicas y su uso dentro de la ciencia forense.

En 1980 Beyer documentó por primera vez la posibilidad de identificar la presencia de xenobióticos en un cadáver mediante el análisis de las larvas que se alimentasen de él (Beyer,1980). Beyer sustenta su estudio bajo la premisa fundamental de que estos xenobióticos sólo pueden encontrarse en el insecto por una razón: porque estaban presentes en los tejidos vivos. La idea no habría sido tan atractiva sin el componente innovador, por lo que Beyer resalta que es debido a la descomposición exhaustiva del cuerpo, la sangre, el tejido y la misma inviabilidad de estos para ser empleados como una muestra toxicológica lo que abre las puertas al uso de insectos carroñeros en la detección de xenobióticos, debido a que la presencia de gusanos y larvas es abundante, su muestreo y recolección resulta un procedimiento sencillo.

Por este estudio la ciencia forense se convirtió de gran atracción para los entomólogos de la época. La relación entre los cadáveres y los insectos era evidente, pero hasta entonces poco vislumbrada.

En 1986 Lord & Stevenson (Lord & Stevenson, 1986) dividen la entomología forense en tres aspectos; la entomología urbana correspondiente a infestaciones o pestes de jardín. La entomología referente a los productos perecederos referida a la infestación o contaminación de productos de almacén con insectos y a tercera categoría y más amplia correspondiente a la medicina legal concretamente a la ciencia forense en la cual se estudian los insectos que se son encontrados en los restos de víctimas, comúnmente relacionadas con situaciones violentas como asesinatos, suicidios, violaciones e incluso abuso físico y contrabando.

En ese mismo año, Kenneth Smith (Smith, 1986) va más allá y publica *El Manual de la entomología forense*, la pieza angular de todos los futuros ensayos entomotoxicológicos. En su manual, Smith resalta la importancia del estado del cuerpo ya sea que se encuentre enterrado o expuesto, inmerso en el agua, quemado e incluso en estado de momificación. Enfatiza en la ubicación geográfica, la temperatura y humedad, los ciclos de luz y sombra, la época del año y su periodicidad diaria así como en la disponibilidad y competencia por comida. Todo esto con un enfoque particular en la afección de la entomofauna cadavérica que circunde el cuerpo, ya sea en la atracción de especies o en el cambio de su comportamiento.

Desde entonces Smith sabía que la información sobre esta área es escasa y confiaba en que eventualmente el área se completaría, señalando un “banco de datos” que haría mucho más cómodas las futuras investigaciones resaltando con particularidad:

1. El efecto de la comida, la bebida y los hábitos de trabajo antes de la muerte en la tasa de descomposición y la subsecuente fauna Postmortem.
2. Efectos de la causa de muerte en la posterior sucesión ecológica.
3. Efecto de la manipulación de un cuerpo después de muerto en la subsecuente fauna
4. Efecto de la ubicación geográfica y la localización ecológica del cuerpo en la subsecuente fauna.
5. Los efectos de importancia derivados de condiciones específicas de humedad y temperatura.
6. Estudiar la historia de vida, la biología, comportamiento y fisiología de los insectos que colonizan los cadáveres por sí mismos y seleccionar un tipo de carroña específico para las líneas de investigación.

Smith además realiza el primer gran compilado de especies de interés, recopilando más de diez familias de insectos, señala la oportunidad de emplearlas como un método zoológico para determinar el tiempo de muerte de un cuerpo a partir del estudio de la sucesión en la fauna colonizadora y propone que para poder obtener estimar el tiempo de muerte es necesario reconocer cada especie y su estadio así como saber el tiempo que tardan en colonizar a diferentes temperaturas. Esto también puede conducir a saber si el cuerpo fue movido durante su descomposición.

Para saber qué especies son clave durante una investigación se propone una jerarquización debido a la sucesión ecológica.

1. Especies necrófagas

Son aquella que se alimentan de la carne en descomposición directamente y constituyen la categoría más importante para la investigación pues son con las que se establece el tiempo de muerte al ser las primeras en llegar.

2. Depredadores y especies parásitas de las especies necrófagas

La segunda categoría más importante en la ciencia forense, son aquellas que se alimentan de las especies necrófagas.

3. Especies omnívoras

Son aquellas que se alimentan tanto del cadáver como de sus habitantes.

4. Especies foráneas.

Son aquellas que utilizan el cadáver como una extensión de su medio ambiente

Como Campbell lo había mencionado para su propio trabajo, la carencia de un nombre y una definición concreta había ensombrecido el campo. Sería en 1991 que Nolte & Pincer (Nolte & Pincer, 1991) llamarían a la entomología forense como *entomotoxicología* y en ese mismo año, Pounder (Pounder, 1991) recopilando los trabajos de Beyer, Nolte, y Kintz, quien se había dedicado a estudiar las larvas de las moscas como una herramienta para el análisis toxicológico de un cuerpo, (1, 2, 3) define a la entomotoxicología como la detección de drogas presentes en la descomposición de un cadáver mediante el análisis de las larvas, principalmente moscas, que se alimentaron de él.

La principal razón para el uso de artrópodos la da, Goff y Catts un año después. Ellos sugieren el uso de artrópodos en las investigaciones forenses porque la fauna correspondiente suele cambiar de manera subsecuente a medida que la descomposición avanza, por lo que el cadáver, que es una fuente temporal de alimento, es explotada por una gran diversidad de organismos que comprenden desde los microorganismos hasta los vertebrados excavadores en la que los artrópodos constituyen el mayor grupo de esta fauna y en la cual, los insectos predominan.

Goff y Catts encuentran en el uso de insectos una herramienta para la estimación del Intervalo Postmortem (PMI). Debido a que los insectos y principalmente las moscas, son los primeros en encontrar un cuerpo en descomposición, la ovoposición en el cadáver actúa como un reloj biológico en el cual la subsecuente determinación del tiempo de desarrollo de la mosca es la base para la determinación del tiempo que el cuerpo lleva muerto.

Para la estimación del PMI proponen dos formas. Durante el proceso de descomposición, la estimación se basa en el periodo de tiempo necesario para que cada especie de la muestra llegue a su fase adulta una vez colectadas de la escena del crimen. La mayoría de las veces estas son larvas de moscas detritívoras que muestran el mayor periodo de desarrollo. La clave de esta idea consiste en asumir que las moscas llegaron relativamente pronto a la muerte o al momento en el que el cadáver quedó expuesto.

La segunda forma de aproximarse a determinar el PMI está dirigida hacia los cuerpos que se encuentran en estados avanzados de descomposición. En estos casos, el PMI se estima a partir de la composición de la comunidad de artrópodos y su relación con los patrones de sucesión esperados. (Goff & Catts, 1992)

Tres años después (Goff & Lord, 1994) Goff no sólo respalda el uso de insectos como herramienta para la estimación del PMI sino también como matriz biológica y encuentra que múltiples drogas tienen distintos efectos sobre distintas especies recopilándolos y describiendo a la entomotoxicología como una nueva área para la investigación forense y definiéndola como el uso de insectos para el análisis toxicológico en ausencia de tejido y fluidos normalmente empleados en la investigación de una muerte.

La entomotoxicología tomó un papel mucho más relevante como una herramienta de gran utilidad en la investigación de muertes relacionadas con el abuso de drogas, así mismo, para la investigación de muertes que estuvieran vinculadas a envenenamientos ya sea accidentales o como causas de suicidio.

Aunque las investigaciones sobre el potencial uso de insectos como matriz biológica continuaron avanzando, tuvieron que pasar casi 7 años (Goff *et al.*, 2001) para que las limitaciones de la entomotoxicología salieran a la luz pues debido a todos los factores que afectan el desarrollo de los insectos, la estimación del PMI podía diferir de la realidad dependiendo de la sustancia causante del envenenamiento así como de las condiciones ambientales en el que la entomofauna cadavérica se desarrollara. De esta forma, la entomotoxicología comenzó a tener interés en la forma en la que los xenobióticos afectan a los artrópodos para realizar correcciones en sus tiempos de desarrollo y así poder hacer una estimación del PMI mucho más exacta, sin embargo, las múltiples limitaciones encontradas y atribuidas no sólo a las especies empleadas sino también a la individualidad de estas (historia de vida, patrones de alimentación, etc.) además de que no existen, hasta la actualidad, procedimientos estandarizados para el uso de estos insectos en la estimación del PMI, volvieron este objetivo bastante complicado de unificar entre especies, técnicas, xenobióticos e incluso condiciones experimentales.

Estas limitaciones tuvieron como idea original estudiar la manera en la que los xenobióticos afectan a los insectos y así encontrar un patrón entre las condiciones en las que se desarrolla el insecto y la concentración del xenobiótico presente en el cadáver con el objetivo de realizar una corrección sobre el PMI, sin embargo, estas opciones fueron poco a poco descartadas debido a la imposibilidad de controlar la entomofauna correspondiente a la sucesión ecológica en tiempo real por lo que la entomotoxicología empezó a virar más hacia el uso de insectos para detectar toxinas presentes en un cadáver mediante su presencia en las larvas de las moscas carroñeras. Este propósito se fortaleció con múltiples estudios que demostraron la utilidad de los insectos en ensayos cualitativos y cuantitativos que arrojaban una correlación entre la concentración de alguna droga presente en el tejido de un cuerpo y el desarrollo del insecto mediante la bioacumulación de este.

La principal razón por la que esta nueva aplicación de la entomotoxicología gana fuerza la explica Gosselin al enlistar todas las limitaciones que se presentan al momento de determinar el PMI pues no sólo importa la especie que se seleccione para realizar el ensayo sino también su estado de desarrollo y actividad alimenticia. La oviposición y el desarrollo del insecto se ven afectados también por los factores ambientales como el fotoperiodo y la temperatura lo que representa un gran problema para establecer el PMI. Además, debido a la variable distribución de los xenobióticos dentro del cuerpo, su concentración también puede variar dependiendo de su distribución y por lo tanto, la concentración será diferente en distintos tejidos, lo que conlleva que incluso en un mismo cuerpo, haya distintas tasas de desarrollo para insectos que crezcan en distintos sustratos. Para Gosselin el mayor interés de la entomotoxicología es la determinación del abuso de drogas justo después de la muerte, especialmente en restos esqueletizados pues todas estas variables no representan una limitación para la detección de xenobióticos en los insectos (Gosselin *et al.*, 2011).

Esta nueva aplicación de los insectos como evidencia para corroborar la presencia de xenobióticos en casos de sobredosis y envenenamientos es lo que abrió la posibilidad de unificar dos campos que compartían un mismo sustento teórico pero que apuntaban a distintos objetivos. Hasta este punto, la entomotoxicología tenía una visión meramente enfocada a las ciencias forenses y la medicina legal, incluso la entomología forense, como alguna vez se había descrito comenzaba a quedar rezagada ante estas nuevas definiciones y conceptos pues los insectos tomaban otra aplicación para las ciencias forenses más allá de aquellas que tenían que ver con infestaciones de productos perecederos o plagas.

Campbell había propuesto en 1926 analizar cómo los insecticidas afectaban el desarrollo de los insectos, una tarea bastante similar a la que se había desarrollado desde la perspectiva forense pues aunque tenían propósitos distintos, la materia de estudio era la misma y hasta entonces no se había tomado en cuenta el trabajo que Campbell había realizado sobre los efectos en los parámetros biológicos de los insectos ni la perspectiva ecológica, fue hasta 2017 que Erica da Silva brinda una definición más completa y señala que la entomotoxicología forense es el uso de especies de insectos como una evidencia indirecta de contaminación toxicológica en ausencia de matrices forenses como la sangre, la orina, agua o suelo, en la determinación de la presencia de un tóxico en el ambiente del insecto el cual puede ser un cuerpo en descomposición, un río o un paisaje entero. La mayoría de estos estudios están enfocados en los efectos que tiene el tóxico sobre diversas especies de insectos o en su detección dentro de los insectos.

Da Silva (da Silva *et al.*, 2017) es la primera en separar la *entomotoxicología forense* y emplear el término *entomotoxicología forense ambiental* en 2017, la cual se ha enfatizado en el uso de insectos como bioindicadores de contaminación ambiental mientras que la *entomotoxicología forense médico-legal*, se ha enfocado

en el uso de insectos como sustituto o para muestras aproximadas cuando un cadáver está demasiado avanzado en su descomposición como para proveer muestras toxicológicas.

Da Silva hace notar que lo que la idea de estimar el PMI que había dado a luz a la entomología forense, era ahora la aplicación secundaria de la entomotoxicología.

En este año se menciona a los metales pesados por primera vez como un xenobiótico de interés en la medicina forense y se estudian de particular interés especies asociadas a la sucesión ecológica de un cadáver, además, da Silva se refiere por momentos a la *entomotoxicología forense ambiental* como *ecotoxicología*.

Recopila un total de diez familias de insectos carroñeros pero remarca que la lista de objetivos es mucho más larga y enuncia a la familia de las moscas (Díptera, Calliphoridae) como la más estudiada. Enumera una lista de características para seleccionar un modelo ideal de insecto para este tipo de estudios.

Los criterios que el insecto modelo debe seguir son:

1. Deben estar asociados con casos forenses y deben ser insectos que tengan una relación directa con el cadáver, ya sea por alimentación u oviposición. En la ecotoxicología, deben estar en constante contacto con el sistema a estudiar.
2. Las especies deben estar dispersar geográficamente, ser comunes y abundantes. Para esto se puede permitir buscar grupos que contribuyan a la comparación de datos en los que la entomotoxicología es escasa.
3. Su crianza debe ser relativamente sencilla para facilitar la investigación.

Hace también una crítica a la entomotoxicología al no contar con parámetros de estandarización en cuanto a sus protocolos, atribuibles a lo reciente del campo pero que pueden conllevar a varios errores prácticos.

La principal crítica que realiza es la manera en la que estos experimentos se conducen, pues se prioriza la visión del entomólogo quien puede actuar con sesgo sin considerar los aspectos toxicológicos y que pudiera repercutir en el resultado del estudio.

Todas estas definiciones, aunque mucho más concretas, aún dejan cabos sueltos e incertidumbre, con fin de aclarar esto, Hodecek propone un nuevo concepto de la entomotoxicología englobando no sólo las consecuencias sino los parámetros de estudio definiéndola como el análisis de los efectos ocasionados por xenobióticos en insectos y el uso de xenobióticos presentes en los cuerpos de los insectos como

evidencia de contaminación ambiental. Donde el ambiente puede ser concebido como carroña, suelo, agua, un paisaje completo o incluso el cuerpo humano.

Con esta definición el campo de la entomotoxicología se abre las puertas no sólo a su estudio con fines de obtener una investigación médico-legal sino también a todas las exámenes toxicológicas donde los objetos de interés sean los insectos como pueden ser los efectos causados por los insecticidas y repelentes como la acumulación de metales pesados en sus cuerpos.

Con esta definición el campo de la entomotoxicología es ahora mucho más diverso que lo que se había desarrollado hace cuarenta años. Dentro de los principales objetivos se incluyen la posibilidad de detectar un xenobiótico en particular; la relación cuantitativa entre la cantidad de xenobiótico obtenida del cuerpo del insecto con el monto detectado en la dieta del insecto; la influencia del xenobiótico en el crecimiento, la morfología y su salud en general del insecto estudiado y el ensayo de nuevos y diferentes métodos y aproximaciones para detectar xenobióticos.

Hodecek realiza una ligera aclaración sobre la entomotoxicología y la ecotoxicología, pues aunque son igual de válidas como en su momento lo propuso da Silva, la entomotoxicología es de hecho una rama de la ecotoxicología que le permite describir estudios toxicológicos en los que los objetivos de interés son los insectos.

De esta forma la entomotoxicología quedó reorganizada como un subcampo de la ecotoxicología que puede dividirse como forense o ambiental basada en sus resultados. La entomotoxicología forense abarca los estudios con aplicaciones médico-legales. Cuando el resultado del estudio es brindar nuevas evidencias dentro de una investigación en curso o mejorar la metodología de las ciencias forenses. La entomotoxicología ambiental tiene un mayor campo de aplicaciones que su contraparte médico-legal. Sus resultados están más enfocados en la parte ecológica aunque puede abarcar aplicaciones médicas (no precisamente incluidas en la medicina legal) diferenciándose únicamente en el estado del cuerpo donde habitan los insectos; si el ambiente donde se estudia el insecto es un cuerpo vivo, sus aplicaciones son clínicas, mientras que si es un cuerpo muerto, las aplicaciones son forenses (Hodecek, 2020).

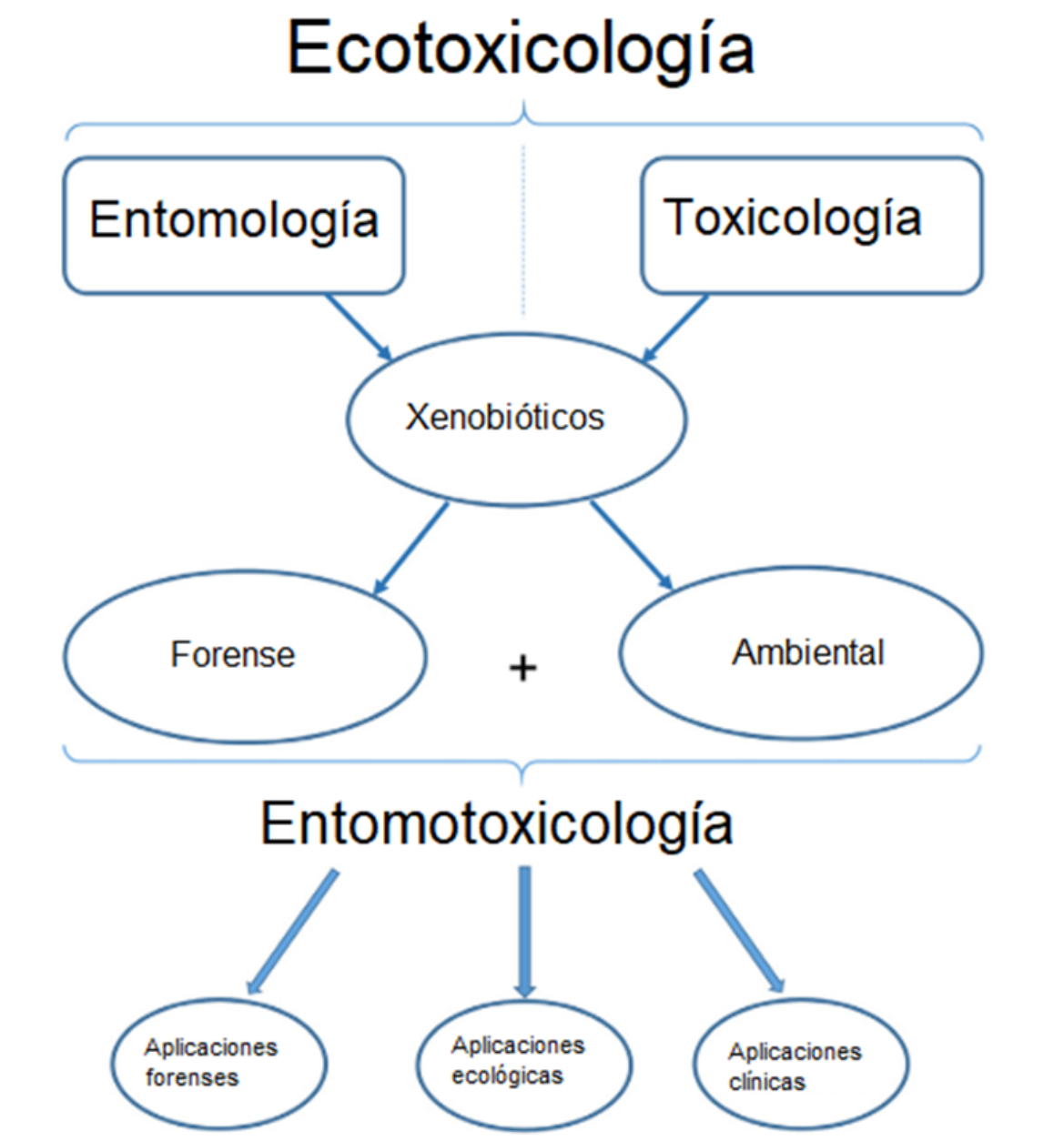


Fig 1. Reorganización de la entomotoxicología dentro de la ecotoxicología. Revisiting the concept of entomotoxicology, Hodecek, 2020.

En esta tesis se apoya la reorganización de la entomotoxicología dentro de la ecotoxicología de la manera que Hodecek la propone así como su definición complementarí a la propuesta por da Silva pues esto no sólo abre un panorama mucho más amplio de estudio para la entomotoxicología sino que también la perfila a nuevos intereses, mejores prácticas y una mayor certeza en sus análisis.

2.2.- Interacción metal-insecto

La interacción que tiene el insecto con el metal desde el medio abiótico tampoco es trivial, los metales, como muchas de las especies químicas, se ven afectadas por el medio, su especiación y disponibilidad pueden variar dependiendo de las condiciones en las que se encuentren.

Debido a que la acumulación del xenobiótico es la característica más importante para poder considerar a un insecto como una matriz biológica, es importante considerar las condiciones en las que este es administrado.

Al igual que las condiciones ambientales como humedad, temperatura, ciclos de luz y sombra (Nabity *et al.*, 2006, 2007; Ong *et al.*, 2018; Thomas *et al.*, 2016) entre otros que afectan el desarrollo del insecto, las condiciones del medio afectan directamente la administración del xenobiótico. Krantzberg y Stokes señalan el efecto que tiene el pH de las superficies en la incorporación de los metales pesados al momento de que el insecto engulle algún sustrato contaminado. En su estudio emplean a los quironómidos (una familia de los dípteros) para desentrañar la manera en la que las distintas concentraciones de H^+ intervienen directamente en la absorción y posterior acumulación de metales pesados, en los que la acumulación de metal en el cuerpo tanto de las larvas como de los adultos varía con la con la acidez. Encuentran que hay una pérdida en la cantidad de metales durante la emergencia del imago lo que indica que es el exoesqueleto de la larva donde se lleva la mayor absorción de metales.

La acumulación de metales como Cd, Al, Cu y Ni disminuye proporcionalmente con la disminución del pH. Para Krantzberg y Stokes esto es debido a que a altas concentraciones de H^+ , los protones compiten por los sitios de unión contra los otros cationes mientras que a niveles alcalinos de pH, algunas trazas de metales que se encuentran en los sedimentos pueden transferirse con mayor facilidad a la cadena alimenticia debido a la formación de complejos superiores (Krantzberg & Stokes, 1988).

Complementario a esto Krantzberg realiza un estudio para determinar los factores morfológicos que intervienen en la acumulación de metales pesados excluyendo el ambiente químico. Repitiendo con los quironómidos, Krantzberg emplea larvas en cuarto estadio y las somete a diferentes concentraciones de cadmio, manganeso, calcio, níquel, hierro y cobre. Encuentra que la acumulación de cada elemento difiere con respecto al tamaño y la edad de la larva. Mientras el factor de peso corporal es relevante sólo en amplios rangos de biomasa, el tamaño afecta directamente pues las larvas más grandes acumulan mayores cantidades de hierro, manganeso, calcio y níquel. Por otra parte, las larvas más jóvenes (del cuarto estadio) presentan una mayor acumulación de cadmio, manganeso, calcio, níquel, hierro y cobre (Krantzberg, 1989).

Para comprender la efectividad que un insecto puede tener al momento de acumular metales es necesario hablar de la carga corporal del individuo, pues esta puede ser variable en dos sentidos; siendo que la acumulación total sea constante mientras que la acumulación en los tejidos de insecto no como lo señalan Yasunobu y Suzuki (Aoki et al., 1984) quienes al trabajar con cadmio y la mosca *Sarcophaga peregrina*, encuentran que es gracias a una proteína que el metal logra fijarse en el organismo, siendo de esta forma que el 90% de cadmio es fijado en el tracto digestivo, la grasa corporal y los tubos de Melpighian. Adicional a esto, la metamorfosis vuelve a jugar un papel crucial en la acumulación de metales pues, la mayor parte del cadmio se acumula en la etapa larvaria y conserva hasta la fase de pupa, sin embargo, una vez que emergen los adultos, ocurre una excreción que reduce la carga del cadmio hasta en un 53% (Yasunobu & Suzuki, 1984).

Procesos de absorción y excreción como estos son llevados a cabo por todos los insectos, los quironómidos, por ejemplo, son capaces de acumular cadmio y zinc en cantidades mayores cuando se encuentran en la fase larvaria o pupal que una vez que emergen como imago. La manera en la que acumulan los metales es altamente variable dependiendo del insecto y del metal pues, así como el cadmio y el zinc se transfieren entre los estadíos y las fases de los quironómidos, contaminantes como el cobre sólo son acumulados en la larva y su transmisión hacia la pupa y el imago es casi nula. Timmermans y Walker sugieren la posibilidad de que este sea eliminado en la exuvia o por la piel de la larva debido a que estas estructuras contienen pequeñas cantidades de cobre (Timmermans & Walker, 1989).

2.3.- Metales pesados en el ambiente

Debido a las funciones ecológicas de los insectos como principal fuente de proteína en los ecosistemas (Schowalter, 2013, 2016), su creciente relación con la urbanidad (Frankie & Ehler, 1978) y lo sensible que son a cambios en su ambiente (Novotny *et al.*, 2002). Estudiar los efectos que tienen los metales pesados a nivel toxicológico en los insectos resulta de importancia al buscar evaluar el estado de contaminación de un paisaje no sólo a nivel cuantitativo, sino también cualitativamente y en función de sus repercusiones ecológicas.

En esta sección los metales pesados están contemplados dentro de la definición de Alloway refiriéndose de manera amplia a aquellos metales o metaloides con potencial de causar problemas de toxicidad (Alloway, 2013) y con base en la tabla periódica agrupando en esta categoría a los elementos de transición, lantánidos, actínidos y un grupo heterogéneo donde se incluyen el bismuto, los elementos que forman óxidos anfóteros (Al, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Sb y Po) así como los metaloides Ge, As y Te (Appenroth KJ, 2010)

Al ser un componente natural de la Tierra, los metales pesados son considerados contaminantes persistentes del medio ambiente debido a que una vez que quedan expuestos a la superficie, estos ya no pueden ser destruidos o degradados y aunque la emisión de metales pesados al medio ambiente pueda darse de forma natural mediante procesos geoquímicos, las principales fuentes de contaminación resultan ser antropogénicas; actividades como la minería en las que se obtiene metales que no resultan de interés comercial, son comúnmente desechados repercutiendo a largo plazo en la zonas aun cuando la actividad minera haya cesado (Duruibe *et al.*, 2007).

La exposición a metales pesados es mayor en las zonas mineras pero su contaminación no tiene un parámetro restringido. Los metales pesados pueden ser acarreados al mar o a otros desemboques acuíferos mediante la lluvia ácida, disueltos en corrientes de ríos o arroyos. Esta contaminación de mantos acuíferos, tanto superficiales como subterráneos resulta en la posterior contaminación de los suelos (Garbarino *et al.*, 1995). Derivado de esto, la contaminación puede integrarse a la cadena alimenticia a partir de las plantas que la reciben y acumulan en sus tejidos, los posteriores animales que se alimentan de esta vegetación así como los que beben el agua, crecen cerca de sedimentos contaminados o se alimentan de los depredadores herbívoros (Ali & Khan, 2019).

Hoy en día los metales pesados son empleados con cotidianidad y muchos han sido introducidos al medio ambiente mediante la manufactura de diversos productos. El mercurio fue empleado en la fabricación de cosméticos, agentes fungicidas, desinfectantes y productos de aseo, mientras que el cadmio es empleado en la fabricación de pintura, en las baterías de cadmio/zinc y es emitido como un producto de la refinación de este último. El plomo emana de las actividades relacionadas con

la minería y la fundición, así como de la combustión exhaustiva de los combustibles para auto, el vidrioado, baterías, pinturas. Otros metales como el titanio son empleados en la medicina, el hierro, el cromo y el cobre son altamente usados en la industria eléctrica por su conductividad, el magnesio y el níquel son empleados en las aleaciones al igual que el cobalto y el aluminio así como el hierro en la industria siderúrgica, (Duruibe et al., 2007) El cromo por otra parte es introducido mediante la industria de la curtiduría pues el curtido al cromo es la técnica más popular para convertir el colágeno de la piel en cuero mediante sales de Cr^{3+} (Covarrubias & Peña Cabriales, 2017)

Todas estas actividades antropogénicas nos acercan día con día a una mayor exposición de los metales pesados tanto de manera directa como de manera indirecta. La manera más directa en la que nosotros entramos en contacto con estos metales es a través de su uso y sus aplicaciones, sin embargo, muchas veces se puede estar expuesto sin tener noción de ello.

De manera indirecta, la transferencia trófica de metales pesados no esenciales permite la entrada de estos contaminantes hacia el cuerpo humano representando un riesgo para su salud y la de otros grandes carnívoros que por su posición en la cadena alimenticia tienen mayor peligro de sufrir los riesgos de la biomagnificación. De igual forma, aves, reptiles, anfibios que se alimentan de invertebrados o invertebrados mismos que hayan acumulado metales pesados a través del medio abiótico donde habitan, corren el riesgo de sufrir enfermedades atribuidas a la intoxicación. (Ali & Khan, 2019).

2.3.2.- Metales pesados en México

En México, la minería es una de las principales causas de contaminación ambiental por metales pesados. Son los principales contaminantes del paisaje, de cultivos, de aire en zonas urbanas así como de zonas costeras (Gonzalez *et al.*, 2012; Villanueva & Botello, 1992)

Derivado de esta actividad, los residuos que son manejados de manera inadecuada son denominados "jales mineros". Algunos reportes indican que en México podrían existir millones de toneladas de jales dispersos en el territorio nacional, de los que todavía se desconocen sus condiciones y su potencial afectación al ambiente (Ramos-Arroyo & Siebe-Grabach, 2006).

Los principales metales contaminantes en México, considerando su toxicidad y abundancia son mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb), cromo (Cr) e incluso cadmio (Cd) en el aire urbano (Covarrubias & Peña Cabriales, 2017)

Dentro de los principales sitios afectados por la contaminación de metales pesados se encuentra la laguna "La Zacatecana" en el municipio de Guadalupe, Zacatecas, en la que desde la época virreinal hasta 1900 fueron depositados los desechos de

los procesos de amalgamación de la plata, los cuales contenían altas concentraciones de plomo, arsénico y mercurio. Estos desechos se acumularon en la laguna la es aprovechada para la agricultura, representando un posible vector de contaminación. Se estima cálculos estiman que a la fecha existen en el lugar entre 10 y 20 millones de toneladas de residuos mineros acumulados (Santos-santos *et al.*, 2006).

Otro de los lugares afectados es el municipio de Zimapán en el estado de Hidalgo, considerado un distrito minero desde 1576. En este municipio los grandes depósitos de jales mineros sin tratar contribuyen al aporte natural de la arsenopirita nativa del lugar, generando concentraciones de arsénico en mantos acuíferos que exceden hasta 10 veces los estándares establecidos por la OMS. (Covarrubias & Peña Cabriales, 2017).

Un caso mas de este tipo de contaminación es el poblado minero de Villa de la Paz donde se detectó Pb y As en sangre y orina de niños, esto vinculado a la contaminación del suelo con As, Cd, Pb y Hg (Yáñez *et al.*, 2003)

Por otro lado, aunque alejada de las zonas mineras y de la industria extractiva, la Zona Metropolitana de la Ciudad de México no está exenta de la contaminación por metales pesados. En esta es posible encontrar más de 40 000 de pequeñas y medianas industrias así como diariamente el uso de vehículos quema más de 40 millones de litros de combustibles a base de petróleo produciendo toneladas de contaminantes. Los principales metales pesados encontrados en la Ciudad de México son Pb, Cu, Zn, Ba, Co, Cr, Ni, V y Cd donde las concentraciones de Pb, Cu, Zn y Ba son debidas al gran tráfico vehicular, Cr y V no tienen un origen (Ihl *et al.*, 2015).

2.4.- Entomotoxicología ambiental y metales pesados

Hablar de entomotoxicología ambiental es hablar de un concepto que recién se establece, pues, aunque su planteamiento proviene desde hace casi un siglo, el camino recorrido por esta ciencia hasta ahora, ha sido diverso. Es la definición de da Silva (da Silva *et al.*, 2017) complementada con la de Hodecek (Hodecek, 2020) que amplían el concepto de entomotoxicología, de ser una herramienta de la ciencia forense a una rama de la ecotoxicología con aplicaciones médico-legales y ambientales.

Es intuitivo pensar que, si se desea conocer la composición química de un ambiente contaminado, lo más sencillo sería tomar una muestra de la zona y determinar la concentración de contaminantes ya sea en el agua o el suelo, sin embargo, esto no nos daría ningún enfoque sobre las repercusiones ecológica que los metales pesados tienen en el medio ambiente. La entomotoxicología abre esta ventana gracias a su dualidad tanto química como biológica que es bien representada por Namminga y Wilhm en 1977 cuando determinaron la variación longitudinal de las concentraciones de cobre, cromo, plomo y zinc a lo largo del río Skeleton en Oklahoma empleando no sólo el agua y los sedimentos sino a los quironómidos como matriz biológica (Namminga & Wilhm, 1977).

Dentro de la entomotoxicología ambiental, el uso de quironómidos es recomendable debido a que las larvas se desarrollan principalmente en el agua mientras que los imagos llevan su vida en la tierra esta cualidad permite dar mayor panorama al estudio del paisaje completo al presentarse en dos tipos distintos de medio. Su mayor impacto no está sólo en su uso como evidencia de contaminación sino en las repercusiones que la contaminación tiene sobre ellos. El uso de quironómidos para regular o controlar los niveles de un paisaje está bien documentado a lo largo de la literatura.

Gower y sus colaboradores proponen a la especie *Chironomus riparius* para los estudios ambientales con cadmio debido a que es multivoltina y el número de generaciones en un hábitat está controlada por la temperatura, así como la calidad nutricional de la comida. Además hay partes del año en las que es posible encontrar larvas de todos los estadíos presentes en el medio. *C. riparius* también presenta tolerancia al metal por lo que se resalta la importancia de estudiar no sólo a las especies o estadíos más sensibles sino a todos niveles de vida, si se quiere tener una estrategia correcta para controlar la contaminación (Gower *et al.*, 1986).

De manera complementaria y para obtener un enfoque ecológico mucho mayor, un año después K.A. Williams y su equipo (Williams *et al.*, 1987), estudian la oviposición de las hembras de *C. riparius* pues a pesar de que existían estudios sobre los efectos de los metales sobre los estados de vida, no había información correspondiente a los efectos sobre el huevo en sí o el comportamiento de

oviposición, sólo especulaciones sobre quimiorreceptores en las antenas de los insectos que evaluaban la calidad del agua previa oviposición.

Desde la perspectiva ambiental, el sitio de oviposición es crucial debido a que la supervivencia de las larvas y huevecillos dependerá de lo habitable del ambiente. Williams encuentra que la hembra de *C. riparius* es capaz de evaluar la calidad del sitio de oviposición, sin embargo, sin embargo esta capacidad para hacerlo, no es lo suficientemente sensible para evitar todas las áreas contaminadas.

Además de su desarrollo anfibio de larva a imago, la posición de los quironómidos como consumidores primarios y detritívoros los apuntala como objetos de estudio de interés ecológico pues son la principal fuente de alimento para peces y macrobentos.

Hatakeyama (Hatakeyama, 1988) estudia el envenenamiento con cobre sobre los procesos reproductivos del quironómido *Polypedilum nubifer*, a través de la comida y el agua encontrando que la forma en la que es suministrado el xenobiótico influye directamente en la oviposición, eclosión, sexo y emergencia de los adultos.

En ese mismo año, Clements, Cherry y Cairns Jr. Estudian los efectos de los metales pesados en las comunidades de insectos dividiendo el río Clinch en ocho segmentos que son impactados por descargas industriales de cobre y zinc. El experimento se realizó al aire libre con cuatro grupos de quironómidos que habitan ahí: Ephemeroptera, Tanytarsi, Hydropsychidae y Orthocladiini. Resultado de esto, encontraron que en las zonas más contaminadas y de mayor afluencia las especies dominantes eran Ephemeroptera, Tanytarsi mientras que el grupo control estaba dominado por Hydropsychidae y Orthocladiini (Clements & Cherry, 1988).

De esta forma y aunque no reconocida por completo en ese entonces, la entomotoxicología abría las puertas para una de sus más útiles aplicaciones hoy en día; el biomonitoreo.

2.5.- Estudios del efecto de metales sobre especies de interés ambiental"

Previamente se ha enunciado la importancia de los insectos en la monitorización ambiental de contaminación. Ya sea mediante los cambios en parámetros biológicos que afecten directamente el ciclo de vida del insecto, desembocando así en repercusiones ecológicas (Rayms-Keller *et al.*, 1998), mediante la composición de comunidades de insectos en paisajes contaminados (Winner *et al.*, 1980) o por su facilidad para acumular xenobióticos (Cain *et al.*, 1992).

Al estudiar la acumulación de metales pesados como xenobiótico en los insectos, surge un abanico de resultados inherentes a cada especie, Nummelin, (Nummelin *et al.*, 2007) encontró que, contrario a lo que se pensaría, algunos insectos no sólo logran acumular efectivamente metales pesados sino que son tolerantes o incluso insensibles a la contaminación por estos. Señala en su ensayo que las hormigas y los mirmeleóntidos acumulan de manera efectiva Cd, Pb y Mn mientras que los mosquitos son buenos para acumular Fe. Esto abre la oportunidad para clasificar a los insectos en grupos de biomonitoreo dependiendo la facilidad para acumular cada metal.

Sin embargo, estas consecuencias características de la contaminación no son las únicas trazables. De manera mucho más reciente se ha incorporado a la genética en las pruebas entomotoxicológicas con el fin de relacionar la contaminación ambiental con fallas genéticas a causa de la intoxicación, (Barata *et al.*, 2017; Bednarska & Świątek, 2016; Merritt & Bewick, 2017; Peterson *et al.*, 2017; Płachetka-Bożek *et al.*, 2018) el daño celular (Gimbert *et al.*, 2016) así como sus consecuencias evolutivas (Pedrosa, Campos, *et al.*, 2017; Pedrosa, Gravato, *et al.*, 2017).

Aunque las evidencias más claras del daño causado por metales pesados son fisiológicas, también pueden presentarse daños genéticos o epigenéticos. Estos expone Ikolva en 2018 al realizar un ensayo con *Prodiamesa oliacea* y *Prodiamesa bureshi* para evaluar el efecto genético de la contaminación por Zn, Cd y Pb en estas dos especies familiares de moscos encontrando una gran cantidad de aberraciones somáticas en los cromosomas de la glándula salival, así como deformidades en mentón y mandíbulas en ambas especies por lo que son propuestas como prospectos para ensayos genotoxicológicos y ecotoxicológicos pues su alta sensibilidad a la contaminación antropogénica los convierte también en bioindicadores eficientes para la contaminación ambiental (Ilkova *et al.*, 2018).

Con el mismo énfasis, Jeongeun Im establece que los ensayos realizados en laboratorios comúnmente no representan las situaciones reales a las que se exponen en las condiciones ambientales por lo que realiza un estudio multigeneracional exponiendo a la especie *C. Riparius*, a sedimentos contaminados de diversos metales como Cr, Cd y Pb (MCFS) además de que se empleó As como un caso único. Tanto para las especies tratadas en MCFS y As presentaron daños

en el DNA, así como decreció la tasa de supervivencia para las primeras 3 generaciones mientras que esta tendencia ya no se presentó en la quinta generación por lo que se indica una posible adaptación fisiológica mediante mecanismos genéticos y epigenéticos (Im *et al.*, 2019).

Adicional a esto, en 2020 Arambourou somete a larvas de *C. Riparius* a lo largo de todo su ciclo de vida a tratamientos con Cd, Pb y Zn con el fin de medir los efectos tóxicos a distintos niveles de organización biológica desde lo molecular, encontrando un incremento en la acumulación lipídica y un decremento en la fluidez de membrana directamente proporcional a la exposición de los sedimentos contaminados; hasta el organismo completo detectando que la masa larval así como la masa referente a los imagos, se ve disminuida,, decremento en la respiración larval, retraso de la emergencia además de deformaciones en mentón, mandíbula y alas de los adultos a causa de la disrupción genética de hormonas relacionadas con los genes atribuible al envenenamiento con metales pesados (Arambourou *et al.*, 2020).

2.6.- Entomorremediación

Se mencionó ya que existen casos donde la acumulación de metales pesados resulta inocua para varios insectos (Nummelin *et al.*, 2007). Aunque aún son desconocidos los mecanismos y los motivos concretos por los que varios insectos sean insensibles a xenobióticos, se hipotetiza que varios genes involucrados con la homeostasis y resistencia están involucrados en la tolerancia de la BSFL con estos contaminantes (Wu *et al.*, 2021).

La tolerancia que estos insectos presentan, nos ofrece una solución parcial al manejo de desechos, usando insectos para digerir los desperdicios animales, industriales o metales pesados pues adicional a esta posibilidad, representan también una mayor seguridad en cuanto al riesgo asociado al manejo de los residuos (Miranda *et al.*, 2021).

El mejor ejemplo de esto es la mosca *Hermetia illucens* conocida también como *Black Soldier* (BSF) y su larva (BSFL), es una mosca que ha demostrado no sufrir afecciones tanto en eclosión como en supervivencia frente a metales pesados altamente contaminantes como Cd y Cr (Gao *et al.*, 2017) e incluso a la combinaciones de metales (Cai *et al.*, 2018) y que representa una tecnología emergente para el tratamiento de biorresiduos, principalmente para la generación de composta a partir de residuos orgánicos pues tiene la habilidad de separar sustancias tóxicas provenientes de los residuos (Gold *et al.*, 2018) siendo capaces de poder

Así cada BSFL puede consumir hasta 200 mg de desperdicio de comida por día y se ha estudiado que en casos donde esta comida está contaminada con mercurio, el tratamiento con BSFL logra reducir la concentración del metal en el desperdicio orgánico a causa de la bioacumulación de la BSFL (Attiogbe *et al.*, 2019).

En otros estudios pero con Cu y Zn como contaminantes, se ha obtenido que la BSFL es capaz de acumular en su cuerpo hasta 475.9 mg de Cu/kg y hasta 356.2 mg de Zn/kg (Wu *et al.*, 2021), mientras que con Cd, kg de larvas secas de 12 días de edad (casi 16 666 individuos) pueden contener 20.857 mg de Cd lo que significa que 1 kg de alimento contaminado con cadmio (4.5 mg/kg seco) puede ser purificado por 400 larvas de *H. Illuciens* en 12 días (Gao *et al.*, 2017).

2.7.- Entomofagia

Al asomarnos a los nuevos horizontes de la entomotoxicología, la entomofagia apuntala como un prospecto prometedor (Rumpold & Schlüter, 2013; Van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, 2013).

Los insectos son la principal fuente de proteína en el mundo animal (Schowalter, 2013) y actualmente representan una alternativa proteica tanto para alimentación humana como animal, con la ventaja de tener menor impacto de gases invernadero, gran eficiencia de conversión alimentaria, ocupar menor espacio de cultivo y tienen la habilidad para transformar residuos orgánicos de poco valor en apreciables productos proteicos (Huis, 2016)

Nuevamente la especie *H. illuciens* se candidatea como una de las mejores opciones para emplearse en esta nueva práctica e incluso cuenta con la dualidad de ser empleada tanto para fungir como fuente de proteína así como para transformar desperdicios orgánicos en nuevas fuentes de alimento para animales de ganado (Gasco et al., 2020) aunque en México, tan sólo en el estado de Chiapas, ya se consumen de manera local hasta 178 especies distintas de insectos ya sea empleándose en medicina tradicional o como alimentos (Ramos-elorduy, 2002).

No obstante, los insectos pueden transferir xenobióticos del medio abiótico hacia los organismos vivos acumulándolos a diferentes niveles tróficos y por lo tanto contaminar las redes alimenticias pudiendo convertirse en un problema dañino para la salud humana y de la vida silvestre (Ali & Khan, 2019).

Proc realiza un estudio con la BSF que somete a quince distintos elementos para determinar su potencial bioacumulativo. Encuentra que la BSF es capaz de acumular elementos no esenciales como Ba, Bi y Ga, así como Cu, Fe, Hg, Mg, Mo, Se y Zn en cualquier estado del desarrollo del insecto así como en la fase puparia. Más aún, la bioacumulación de Al, As, Co, K, Pb y Si no es efectiva. Proc sentencia que desde el punto de vista de producción alimenticia el contenido de metales pesados tóxicos debe ser monitorizada además de prestar atención a los elementos no esenciales (Proc et al., 2020)

Con un objetivo similar pero enfocándose en Cd, Pb y Zn, Diener realiza un estudio para determinar la bioacumulación de la BSF con estos metales confirmando lo estipulado previamente de que la mosca no se ve afectada por estos xenobióticos aunque remarcando que la prepupa es la más efectiva para bioacumular cadmio, razón por la que debería ser excluida en la potencial producción de alimento para animales (Diener et al., 2015).

Enfatizando aún más, Purscke, estudia las aplicaciones de la BSFL como prospecto para ser alimento para ganado reiterando la acumulación de cadmio por parte de la especie, así como de plomo concluyendo también con la importancia de monitorizar

la contaminación de estos insectos para sus futuras aplicaciones culinarias
(Purschke *et al.*, 2017)

2.8.-Entomotoxicología forense y metales pesados

Como se ha abordado, la entomotoxicología forense refiere al estudio propio del cadáver, ya sea para evaluar la causa de muerte y, actualmente en menor medida para determinar el PMI. En años recientes, la entomotoxicología forense ha cobrado mayor fuerza en el estudio de las sustancias de abuso, así como medicamentos. Esto no significa que el envenenamiento por metales pesados nos pueda significar una causa de deceso, o que en su defecto, los metales pesados no influyan en la investigación toxicológica de un cuerpo muerto, sino que las sustancias de abuso, medicamentos entre otras sustancias empleadas como sedantes o hipnóticos representan estadísticamente una mayor cantidad de defunciones o se ven involucradas en una mayor cantidad de muertes que los metales pesados, por lo que son, a su vez, una mayor zona de explotación para la investigación.

Pese a esto, los metales pesados no han dejado de ser de interés y se han realizado estudios para poder determinar la manera en la que los metales pesados afectan a las especies correspondientes a la sucesión ecológica de un cadáver.

Dentro de los trabajos más ambiciosos para poder ejemplificar el efecto que los metales pesados tienen sobre la entomofauna cadavérica los expone Al-Misned en sus ensayos realizados sobre *Chrysomya albiceps*, una mosca de interés forense que se alimenta de carne en putrefacción o de larvas de otras moscas igualmente detritívoras.

Misned encontró que, en términos generales, el cadmio provoca un retraso en el periodo larval de ambos sexos. En general, el tiempo combinado de hembras y machos incrementa conforme aumentan las concentraciones de cadmio por encima de los 400 microgramos/g pero por debajo de los 800 microgramos.

En cuanto a la mortalidad, esta aumenta directamente con el aumento en la concentración de cadmio mientras que se puede apreciar que a menor grado de madurez la mortalidad es mayor (Al-Misned, 2001).

Complementario a este estudio, Al-Misned encuentra que tanto el número de huevecillos depositados como el número de los huevecillos eclosionados disminuyen directamente con la concentración de cadmio (Al-Misned, 2003).

2.8.1- Insectos de interés forense

Podemos distinguir un estudio ecológico de uno forense dentro de la entomotoxicología por el objetivo a alcanzar y en particular por las especies empleadas. Para estudios forenses las especies que representan potenciales matrices biológicas son limitadas pues deben estar relacionadas directamente con la descomposición del cadáver.

A continuación, se enlistan las especies necrófagas más representativas de la entomofauna cadavérica dependiendo del estado del cadáver.

Ola	Fauna	Estado del cadáver
1er ola	<p><i>Calliphora vicina</i>, <i>C. vomitoria</i>, <i>Lucilia</i> spp. (Dipt., Calliphoridae).</p> <p><i>Musca domestica</i>, <i>M. autumnalis</i></p> <p><i>M. stabulans</i>(Dipt. Muscidae)</p> <p><i>Sarcophaga</i> spp. (Dipt., Sarcophagidae)</p>	Fresco
2da ola	<p><i>Sarcophaga</i> spp. (Dipt., Sarcophagidae)</p> <p><i>Cynomya</i> spp., (Diptera calliphoridae)</p>	Desarrollo del olor
3ra ola	<p><i>Dermestes</i> (Col., Calliphoridae)</p> <p><i>Aglossa</i> (Lep., Pyralidae)</p>	Grasas rancias

4ta ola*Piophilidae case, Madiza glabra*

(Dipt. Piophilidae)

Fannia (Dipt., Fanniidae)

Drosophilidae (Dipt)

Sepsidae (Dipt.)

Sphaeroceridae (Dipt)

Eristalis (Dipt.,
Syrphidae)*Teichomyza fusca* (Dipt.,
Ephydriidae)*Corynetes, Necrobia*
(Col., Cleridae)Después de la
fermentación butírica de
la proteína de la
fermentación caseica**5ta ola***Ophyra* (Dipt., Muscidae)

Phoridae (Dipt.)

Thyreophoridae (Dipt.)

Nicrophorus (Col.,
Silphidae)*Silpha* (Col., Silphidae)*Hister* (Col., Histeridae)*Saprinus* (Col.,
Histeridae)

Fermentación amoniacal

Remanentes de sangre
ahora absorbidos**6ta ola**

Acari

7ma ola *Attagenus pellio*, Completamente seco
Anthrenus museorum,
Dermestes maculatus
(Col., Dermestidae)

Tineola biselliella, *T.*
pellionella, *Monopis*
rusticella (Lep., Tineidae)

8va ola *Ptinus brunneus* (Col.,
Ptinidae)

Tenebrio obscurus (Col.,
Tenebrionidae)

Tabla 1. Sucesión ecológica en cadáveres K. Smith (1986)

Sin embargo y aunque todas estas especies resultan prospectos prometedores, se encontró que para el estudio concreto de metales pesados como xenobióticos de interés con aplicaciones forenses es mucho más limitado, siendo las especies *Chrysomya albiceps*, *Megaselia scalaris*, *Chironomus riparius*, *Lucilia sericata*, *Sarcophaga peregrina*, *Drosophila melanogaster*, *Hermetia illucens*, *Calliphora vicina* y *Aedes aegypti* las de mayor atracción y sobre las que hay mayor cantidad de artículos publicados.

2.9.-Estudios reportados sobre el efecto de metales en entomofauna de interés forense

Es posible comparar los ensayos de Al-Misned, con el realizado por Kaur Heer en la mosca *Chrysomya megacephala*, sometida a un tratamiento de cloruro de cadmio en el que igualmente se encontró un aumento en el tiempo de desarrollo larvario ocasionado por el contaminante, y un decremento en el peso de las larvas, la pupa y las moscas adultas conforme aumenta la concentración de cadmio. De igual manera coincide en que la larva y la pupa son las fases más sensibles a la contaminación reportando una gran mortalidad durante estas etapas (Kaur Heer, 2017)

También es posible encontrar estudios en los que los efectos de los xenobióticos resulten beneficiosos para la especie de estudio; la mosca *Megaselia scalaris* responde positivamente a la contaminación con níquel o manganeso a la cual se ha encontrado que es muy tolerante pues no afectan en la fecundidad, huevecillos eclosionados, el peso de la pupa e incluso aumenta la velocidad con la que eclosiona la pupa (Sorensen *et al.*, 2009), una respuesta similar se obtiene cuando la misma mosca es expuesta a un tratamiento de selenato y metilmercurio (P. D. Jensen *et al.*, 2006) pues ninguno de estos tratamientos representan una amenaza para los huevecillos de *M. scalaris* y la contaminación tampoco es un criterio en la selección del lugar para la oviposición.

Pese a esta tolerancia que beneficia en varios aspectos a *M. scalaris*, parámetros que se ven afectados de manera negativa son la supervivencia larval, el tiempo de desarrollo los cuales se ven disminuidos o retrasados a causa de ambos metales.

Otro factor importante a considerar es la especiación química en la que el contaminante se encuentra pues la manera en la que será asimilado por el insecto no es la misma, Jensen, Rivas y Trumble estudiaron el efecto del selenio sobre *M. scalaris*, empleando cuatro especies distintas del metal (Peter D. Jensen *et al.* 2005), selenocisteína y seleno-L-metionina como compuestos orgánicos y seleniato y selenito de sodio como compuestos inorgánicos, encontrando que los compuestos orgánicos resultan mucho más tóxicos que los inorgánicos debido a su biodisponibilidad. Ninguno de los cuatro tratamientos repercuten en el tiempo de desarrollo de la pupa pero sí retrasan el desarrollo larvario, este retraso generado principalmente por los compuestos orgánicos provoca un desfase entre los tiempos de eclosión de machos y hembras lo cual tendría una repercusión ecológica.

Efectos similares pueden observarse con el cromo el cual no tiene ningún efecto sobre la oviposición pero que sí incrementan el tiempo de desarrollo larvario sin modificar el de la pupa así como también disminuye la supervivencia de las larvas y los adultos (Trumble & Jensen, 2004). Todos estos cambios en la conducta biológica de estos insectos repercuten en la estimación del PMI pues el tiempo de muerte basado en la evidencia proporcionada por insectos es generalmente determinada por la edad de las larvas encontradas en un cadáver.

Con un objetivo similar al de Al-Misned, en 2020 Abajue y Ewuim (Abajue & Ewuim, 2020) emplearon cadáveres de cerdo a los que se administraron con Zn y los dejaron al aire libre para que la entomofauna cadavérica pudiera colonizarlos, ellos encontraron que, pese ser prácticamente inertes al xenobiótico y no modificar ni el desarrollo de las moscas ni tampoco el tiempo de descomposición del cadáver, sí era posible determinar el zinc en las moscas que se alimentaron de estos frente al grupo control, concluyendo con la utilidad del uso de la entomofauna cadavérica como evidencia de presencia de contaminación.

De igual manera, un ensayo reciente con *Chrysomya megacephala* realizado por Abd Rashid en 2012 empleando Pb y Ba como xenobióticos determina el peso de las larvas alimentadas con estos metales, la longitud, la tasa de supervivencia, el tiempo de desarrollo y además cuantifica la cantidad de metal presente en estas.

Para determinar el efecto que los metales Pb y Ba tienen sobre las larvas de *C. megacephala*, se tomaron muestras aleatorias de 10 larvas cada 12 horas hasta el inicio de la pupación obteniéndose una fuerte tendencia a la disminución del peso conforme se expone por más tiempo al contaminante. En el caso de la longitud, no se muestra una afectación considerable correspondiente a exposiciones menores a 72 horas mientras que la tasa de supervivencia de las moscas tratadas con GSR son menores a las de grupo control con lo que la contaminación de estos dos metales en la dieta afecta directamente desde los estados más inmaduros hasta la no emergencia del imago.

Complementario al estudio de la tasa de supervivencia, en el ensayo se determina el tiempo de desarrollo de las larvas hasta la etapa de pupa, de esta determinación, Abd Rashid obtiene una estimación del PMI debido a la contaminación encontrando que del grupo control al tratado con GSR existe una diferencia de hasta 12 horas en el tiempo de desarrollo.

En tanto a la cuantificación de xenobióticos, se empleó una espectroscopía de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), así como las correspondientes curvas de calibración. Para estas se empleó una serie de disoluciones multielementales para realizar las curvas de calibración. Tanto para Pb como para Ba se emplearon alícuotas de 20, 40, 50, 80, 100 y 200 μL de una solución stock ICP Multielemental (V). A partir de estas curvas es posible realizar la detección de los metales de interés.

La importancia de este estudio no sólo resalta por su interesante corrección sobre el PMI sino porque estos metales; Pb y Ba, son de alto interés forense al estar implicados en la detonación de armas de fuego por lo que la entomotoxicología aplicada en este marco es de gran utilidad para determinar si existió un disparo de arma de fuego, una vez que la laceración de la bala no es detectable por el estado de descomposición del cuerpo o si la bala no está presente en la escena del crimen.

Adicional a estos dos metales, el antimonio (Sb) también es rastreable bajo métodos similares y con el mismo interés (Roeterdink *et al.*, 2004) y mucho más atractivos en cuanto a rapidez para la identificación de GSR son los métodos electroquímicos (Ott *et al.*, 2020).

Ejemplo de esto lo realiza Bessa en 2021 quien describe por primera vez un análisis toxicológico del Pb sobre los estados inmaduros de la mosca *L. cuprina*, al estudiar los efectos que el plomo tiene tanto en su desarrollo como en su tasa de supervivencia y propone como una nueva técnica a la Voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada (SWASV) para la detección y cuantificación de Pb mediante la mosca *Lucilia cuprina* como un método de bajo costo (Bessa, 2021).

3.- Discusión

En este trabajo se ha resaltado la creciente importancia que la entomotoxicología ha tomado en años recientes. Al analizar la cantidad de artículos publicados que se emplearon en esta investigación es posible hallar una tendencia en el incremento de publicaciones. Aun cuando la gráfica correspondiente a esta década es muy inferior a la de la década pasada, tan solo en los primeros dos años de los 20's el número de artículos publicados sobre entomotoxicología es casi la mitad que a principio de milenio.

Al analizar la recopilación es posible encontrar que la entomotoxicología como hoy la conocemos es la mezcla y refinamiento de diversas definiciones e interpretaciones. Conceptualmente surgida de las ciencias forenses como entomología forense y pragmáticamente concebida desde el punto de vista ecológico como toxicología de insectos, la entomotoxicología se solidifica e incorpora a la ecotoxicología con un panorama mucho más amplio de nuevos prospectos.

El aspecto más relevante de la expansión de la entomotoxicología hacía la ecotoxicología es que los estudios entomotoxicológicos empleados con fines ecológicos tienen ya cabida bajo el concepto de entomotoxicología el cual en un principio estaba enfocado solo en el interés forense correspondiente a la medicina legal.

De manera particular, el estudio de los efectos fisiológicos de los metales pesados en los insectos toma mayor relevancia pues las nuevas aplicaciones hacen que su estudio no se centre únicamente en la estimación y corrección del PMI, sino que permiten abrir el panorama de la entomotoxicología a áreas en las que se limitaba.

Incorporar la entomotoxicología a la ecología nos permite ver el impacto que tienen los metales pesados a mayor profundidad, al emplear insectos como bioindicadores no sólo se puede demostrar la contaminación de un paisaje sino también se pueden emplear como biorremediadores que, por su adaptabilidad, pueden ayudar al procesamiento de residuos.

Aunado a esto, los insectos como principal fuente de proteína animal para sustituir la ganadería, obligan a la entomotoxicología a estudiar a estos animales para contribuir a la calidad y buena aplicación por lo que los metales pesados, debido a su potencial toxicidad a nuestra especie, juegan un rol crucial a controlar en su producción.

De manera particular en las aplicaciones forenses, el cálculo del PMI ha sido desplazado poco a poco debido a las grandes complicaciones de llevar una estandarización a causa de todas las variables de las que depende el desarrollo del insecto, sin embargo, las aplicaciones más relevantes son para demostrar la

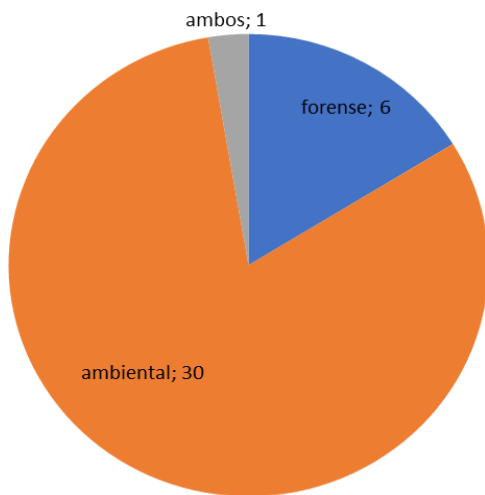
presencia de los xenobióticos en un cuerpo o mucho más reciente, para determinar la presencia de residuos de arma de fuego.

Para esta investigación se realizó la recopilación de 111 artículos en la base de datos, de los cuales, 84 artículos respaldan el trabajo escrito, 37 artículos que corresponden al periodo de tiempo de 2016-2021.

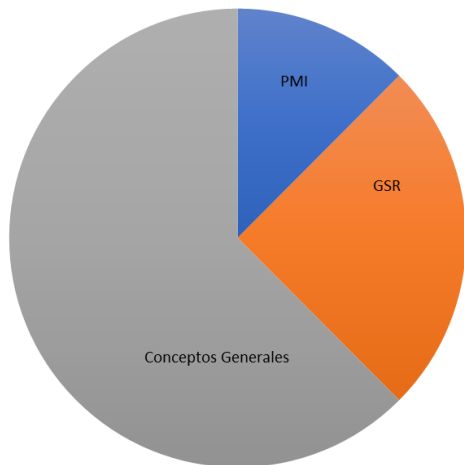
Dentro de los artículos recopilados en este lapso de tiempo, 30 corresponde al enfoque ambiental de la entomotoxicología, 6 a la perspectiva forense y 1 en el que se abordan ambas visiones.

Desde la perspectiva forense, son 5 los artículos sobre conceptos generales de entomotoxicología, 2 donde su aplicación es en la detección de residuos de armas de fuego y uno con el objetivo de estudiar las afectaciones de los metales sobre los parámetros biológicos que intervienen en la estimación del PMI.

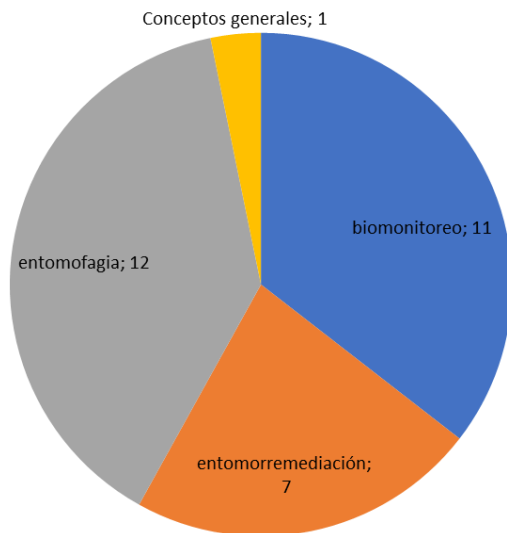
Desde la perspectiva ambiental, son 12 los artículos enfocados en la entomofagia, 11 en el biomonitorio, 7 sobre entomorremediación y uno sobre conceptos generales.



Gráfica 1: Enfoque de los artículos publicados entre 2016 y 2021



Gráfica 2: Enfoque de los artículos publicados sobre entomotoxicología forense entre 2016 y 2021



Gráfica 3: Enfoque de los artículos publicados sobre entomotoxicología ambiental entre 2016 y 2021

Con el fin de facilitar la búsqueda de estos artículos se organizaron bajo las siguientes etiquetas principales:

General: Referente a los conceptos básicos de la entomotoxicología; respalda la primera parte de la tesis, engloba los conceptos de entomología necesarios así como los parámetros biológicos de interés, condiciones operatorias a monitorizar.

Forense: Referente a la entomotoxicología forense, su evolución histórica y sus nuevos hallazgos, así como aplicaciones. Respalda tanto el contexto histórico como los resultados.

Ambiental: Referente a la entomotoxicología ambiental, su evolución histórica, nuevos prospectos y conceptos. Respalda tanto el contexto como los resultados.

Metales: Bajo esta etiqueta se engloban las especies de metales que son de mayor interés en los estudios entomotoxicológicos.

Insectos: Bajo esta etiqueta se engloban las principales especies empleadas en los estudios citados.

A su vez, estas etiquetas principales se subdividen para brindar una búsqueda más precisa:

General: Parámetros Biológicos, Entomología

Forense: Conceptos, GSR, PMI.

Metales,: Ba; Bi; Cu; Fe; Hg; Mg; Mo; Se; Zn; Al; As; K; Pb; Si; Ca; Cd; Ga; Mn; P; S, Sb, Ni, Cr,

Insectos *Diptera Chrysomya, Megaselia, Chironomus, Lucilia, Sarcophaga, Drosophila, BSFL, Calliphora. Aedes*

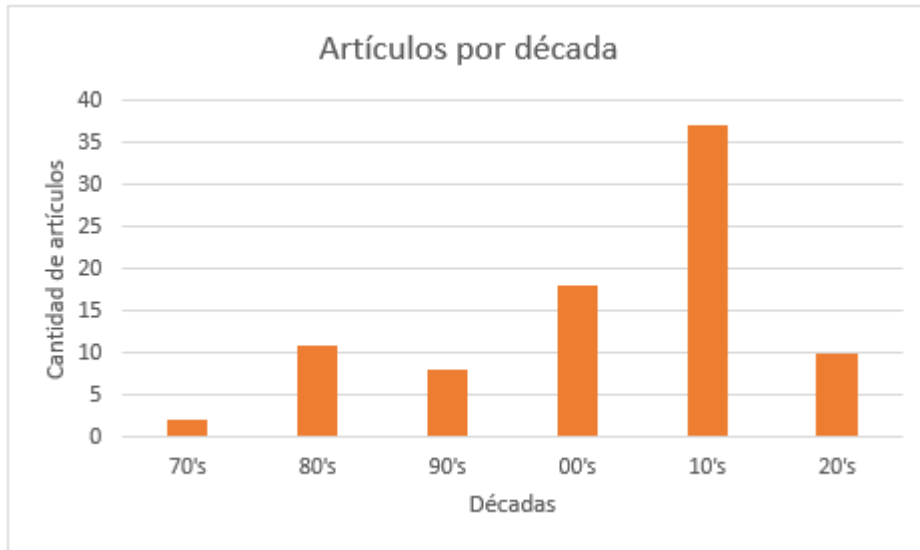
Ambiental; Biomonitoreo, Entomorremediación, Entomofagia.

Esta recopilación se encuentra disponible en la plataforma digital Mendeley, así como un respaldo en la plataforma de Google Drive, accesibles desde los respectivos vínculos:

Drive:

<https://drive.google.com/drive/folders/1nppPv2bbPIQse-t8qjt7qZT-wZL2cffU?usp=sharing>

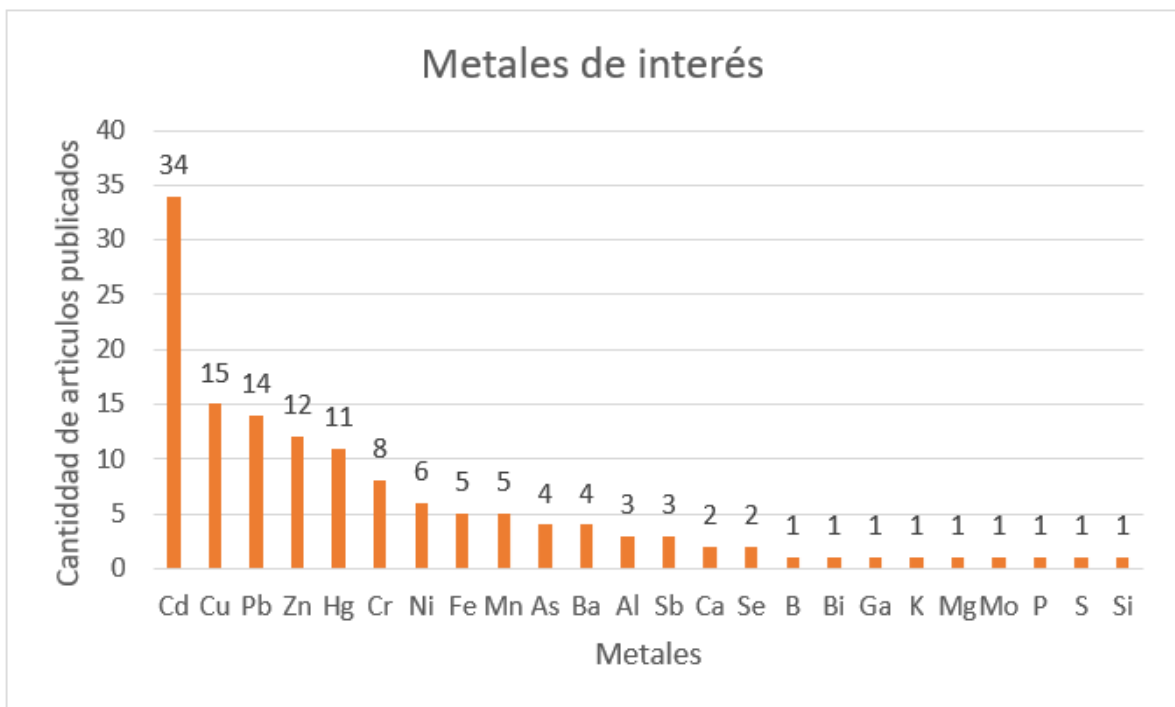
Para poder apreciar de manera cualitativa el desarrollo de la entomotoxicología a través del tiempo se ha ordenado una gráfica en la que se presentan la cantidad de estudios empleados para este trabajo por década.



Gráfica 4: Cantidad de artículos referentes a entomotoxicología de metales pesados citados por década

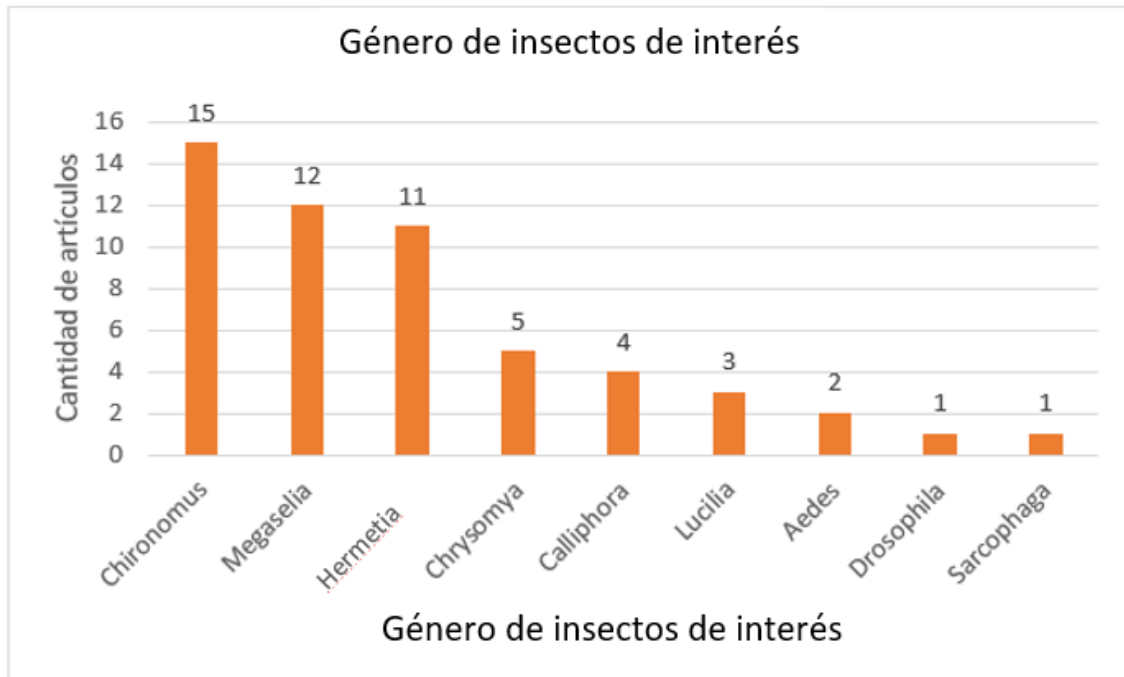
K. Smith (Smith, 1986) señala que el campo hay muchas incógnitas que poco a poco se irán llenando con futuras investigaciones, esta premisa sigue aplicando pues ahora, con horizontes más amplios y nuevos paradigmas, existe mucho más por investigar.

En lo que metales pesados se refiere, la lista de metales estudiados, el cadmio domina ampliamente en la cantidad de artículos publicados con 34 publicaciones desde 2016 hasta 2021 (gráfica 2)



Gráfica 5: Cantidad de artículos publicados para metales de interés

Los quironómidos, por otra parte, representan la familia de insectos más llamativa debido a la oportunidad de emplearlos en análisis puramente forenses o como alternativa en un estudio ambiental. En el mismo periodo de tiempo se encontraron 15 artículos estudiando los efectos de los metales pesados en los quironómidos (gráfica 3).



Gráfica 6: Cantidad de artículos publicados por género de de insectos de interés

4.- Conclusión

Se logró realizar la base de datos, la cual está disponible de manera abierta para consulta.

Es importante señalar que la entomotoxicología no es una disciplina aislada y es importante la colaboración de diversas áreas como la química, la toxicología, la entomología, la ecología e incluso la genética, para su mayor explotación.

De manera general, los metales pesados tienen afectan negativamente los parámetros biológicos como la supervivencia, tiempo de desarrollo, tamaño y masa así como su reproducción.

De manera particular el estudio de los metales pesados han demostrado tener diversos efectos sobre los insectos, estos varían de especie en especie pero también dependiendo del metal empleado y su especiación química. Asimismo, la ingesta de estos xenobióticos produce efectos bioquímicos, fisiológicos, patológicos y de genotóxicos en los individuos de diferentes especies, afectando a sus poblaciones, comunidades y, por tanto, con repercusiones ecológicas.

Finalmente, es importante mencionar que el desarrollo de la entomotoxicología recién comienza y por lo tanto, el campo aún carece de muchos estudios y parámetros estandarizados con los cuales comparar. Esto debido a la gran cantidad de variables que afectan el ciclo de vida de un insecto. Nuestro trabajo es entonces brindar nuevos resultados a este vasto campo de investigación no sólo para garantizar el control y la calidad de las nuevas aplicaciones.

5.- Bibliografía

1. Abajue, M. C., & Ewuim, S. C. (2020). Evaluation of activities of dipteran maggots on a poisoned pig cadaver at Nnamdi Azikiwe University Awka, Nigeria. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s41935-020-00208-0>
2. Al-Misned, F. A. M. (2001). Biological effects of cadmium on life cycle parameters of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). In *Kuwait Journal of Science and Engineering* (Vol. 28, Issue 1, pp. 178–187).
3. Al-Misned, F. A. M. (2003). Effect of cadmium on the longevity and fecundity of the blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). *Kuwait Journal of Science and Engineering*, 30(2), 81–94.
4. Ali, H., & Khan, E. (2019). Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs—Concepts and implications for wildlife and human health. *Human and Ecological Risk Assessment*, 25(6), 1353–1376. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1469398>
5. Alloway, B. J. (2013). *Heavy Metals in Sols: Trace metals and metalloids in soils* (3ra ed.). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5172-2_2
6. Aoki, Y., Suzuki, K. T., & Kubota, K. (1984). Accumulation of cadmium and induction of its binding protein in the digestive tract of fleshfly (*Sarcophaga peregrina*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Comparative*, 77(2), 279–282. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(84\)90013-6](https://doi.org/10.1016/0742-8413(84)90013-6)
7. Appenroth KJ. (2010) Definition of “Heavy Metals” and Their Role in Biological Systems. In: Soil Heavy Metals. Soil Biology, vol 19. Springer, Berlin, Heidelberg.
8. Arambourou, H., Llorente, L., Moreno-Ocio, I., Herrero, Ó., Barata, C., Fuertes, I., Delorme, N., Méndez-Fernández, L., & Planelló, R. (2020). Exposure to heavy metal-contaminated sediments disrupts gene expression, lipid profile, and life history traits in the midge *Chironomus riparius*. *Water Research*, 168. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115165>
9. Attiogbe, F. K., Ayim, N. Y. K., & Martey, J. (2019). Effectiveness of black soldier fly larvae in composting mercury contaminated organic waste. In *Scientific African* (Vol. 6). <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00205>
10. Barata, C., Campos, B., Rivetti, C., LeBlanc, G. A., Eytcheson, S., McKnight, S., Tobor-Kaplon, M., de Vries Buitenweg, S., Choi, S., Choi, J., Sarapultseva, E. I.,

- Coutellec, M. A., Coke, M., Pandard, P., Chaumot, A., Quéau, H., Delorme, N., Geffard, O., Martínez-Jerónimo, F., ... De Schamphelaere, K. (2017). Validation of a two-generational reproduction test in *Daphnia magna*: An interlaboratory exercise. In *Science of the Total Environment* (Vol. 579, pp. 1073–1083). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.066>
11. Bednarska, A. J., & Świątek, Z. (2016). Subcellular partitioning of cadmium and zinc in mealworm beetle (*Tenebrio molitor*) larvae exposed to metal-contaminated flour. In *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Vol. 133, pp. 82–89). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.06.033>
 12. Cai, M., Hu, R., Zhang, K., Ma, S., Zheng, L., Yu, Z., & Zhang, J. (2018). Resistance of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to combined heavy metals and potential application in municipal sewage sludge treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1559–1567. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0541-x>
 13. Cain, D. J., Luoma, S. N., Carter, J. L., & Fend, S. V. (1992). Aquatic insects as bioindicators of trace element contamination in cobble-bottom rivers and streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49(10), 2141–2154. <https://doi.org/10.1139/f92-237>
 14. Campbell, F. L. (1926). Insect Toxicology. *Science*, 63, 45,46. [papers3://publication/uuid/1F693DE3-9860-4597-BBC9-54F35B6F8D45](https://doi.org/10.1126/science.1135601)
 15. Clements, W. H., & Cherry, D. S. (1988). Impact of Heavy Metals on insect Communities in Streams: A Comparison of Observational and Experimental results. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45, 2017–2202.
 16. Covarrubias, S. A., & Peña Cabriales, J. J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7–21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
 17. da Silva, E. I. T., Wilhelmi, B., & Villet, M. H. (2017). Forensic entomotoxicology revisited—towards professional standardisation of study designs. *International Journal of Legal Medicine*, 131(5), 1399–1412. <https://doi.org/10.1007/s00414-017-1603-9>
 18. Diener, S., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2015). Bioaccumulation of heavy metals in the black soldier fly, *Hermetia illucens* and effects on its life cycle. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(4), 261–270. <https://doi.org/10.3920/JIFF2015.0030>
 19. Duruibe, J. O., Ogwuogbu, M. O. C., & N., E. J. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2(5), 112–118.

20. Frankie, G. W., & Ehler, L. E. (1978). Ecology of Insects in Urban Environments. *Annual Review of Entomology*, 23(1), 367–387. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.23.010178.002055>
21. Gao, Q., Wang, X., Wang, W., Lei, C., & Zhu, F. (2017). Influences of chromium and cadmium on the development of black soldier fly larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(9), 8637–8644. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8550-3>
22. Garbarino JR, Hayes H, Roth D, Antweider R, Brinton TI, Taylor H (1995). Contaminants in the Mississippi River, U. S. Geological Survey Circular 1133, Virginia, U.S.A. (www.pubs.usgs.gov/cir-c/circ1133/)
23. Gasco, L., Biancarosa, I., & Liland, N. S. (2020). From waste to feed: A review of recent knowledge on insects as producers of protein and fat for animal feeds. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 23, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.03.003>
24. Gimbert, F., Geffard, A., Guédron, S., Dominik, J., & Ferrari, B. J. D. (2016). Mercury tissue residue approach in *Chironomus riparius*: Involvement of toxicokinetics and comparison of subcellular fractionation methods. *Aquatic Toxicology*, 171, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.027>
25. Goff, M. L., Campobasso, C. Pietro, & Introna, F. (2001). Entomotoxicology. *Forensic Science International*, 120, 42–47.
26. Goff, M. L., & Catts, E. P. (1992). Forensic Entomology in Criminal Investigations. *Annual Review of Entomology*, 37(1), 253–272.
27. Gold, M., Tomberlin, J. K., Diener, S., Zurbrügg, C., & Mathys, A. (2018). Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. In *Waste Management* (Vol. 82, pp. 302–318). <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.022>
28. Gonzalez, O., Miguel, J., & Aurora, E. (2012). Plants and Soil Contamination with Heavy Metals in Agricultural Areas of Guadalupe, Zacatecas, Mexico. *Environmental Contamination*. <https://doi.org/10.5772/31062>
29. Goretti, E., Di Veroli, A., Santoro, F., & Pallottini, M. (2014). Deformities of chironomid larvae and heavy metal pollution: From laboratory to field studies. *Chemosphere*, 112, 9–17.
30. Gosselin, M., Wille, S. M. R., Fernandez, M. del M. R., Di Fazio, V., Samyn, N., De Boeck, G., & Bourel, B. (2011). Entomotoxicology, experimental set-up and

interpretation for forensic toxicologists. *Forensic Science International*, 208(1–3), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.12.015>

31. Gower, D. E., Williams, K. A., Green, D. W. J., & Pascoe, D. (1986). The acute toxicity of cadmium to different larval stages of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation. *Oecologia*, 70(3), 362–366. <https://doi.org/10.1007/BF00379498>
32. Han X, Meng Z, Zhang H, Zheng J. Fullerene-based anodic stripping voltammetry for simultaneous determination of Hg (II), Cu (II), Pb (II) and Cd (II) in foodstuff. *MicrochimActa*. 2018;2:1–9
33. Hatakeyama, S. (1988). Chronic effects of Cu on reproduction of *Polypedilum nubifer* (chironomidae) through water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 16(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(88\)90011-5](https://doi.org/10.1016/0147-6513(88)90011-5)
34. Herrick, G. W., & Griswold, G. H. (1932). Fumigation of the immatures stages of clothes moths and carpet beetles with a mixture of ethylene dichloride and carbon tetrachloride. *Journal of Economic Entomology*, 25(2), 243–243. <https://doi.org/10.1093/jee/25.2.243>
35. Hodecek, J. (2020). Revisiting the concept of entomotoxicology. *Forensic Science International: Synergy*, 2, 282–286. <https://doi.org/10.1016/j.fsisyn.2020.09.003>
36. Huis, A. Van. (2016). *Conference on ‘ The future of animal products in the human diet : health and environmental concerns ’ Boyd Orr Lecture Edible insects are the future ? Proceedings of the Nutrition Society Proceedings of the Nutrition Society. July 2015*, 294–305. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000069>
37. Ihl, T., Bautista, F., Cejudo Ruíz, F. R., Delgado, M. del C., Quintana Owen, P., Aguilar, D., & Goguitchaichvili, A. (2015). Concentración de elementos tóxicos en suelos del área metropolitana de la Ciudad de México: análisis espacial utilizando kriging ordinario y kriging indicador. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 31(1), 47–62. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992015000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=en
38. Ilkova, J., Michailova, P., Szarek-Gwiazda, E., Kownacki, A., & Ciszewski, D. (2018). *Prodiamesa olivacea* Meigen and *Prodiamesa bureshi* Michailova (Diptera, Chironomidae, Prodiamesinae) as a candidate for assessing the genotoxicity of trace metals in fluvial sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(9). <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6928-4>

39. Im, J., Chatterjee, N., & Choi, J. (2019). Genetic, epigenetic, and developmental toxicity of *Chironomus riparius* raised in metal-contaminated field sediments: A multi-generational study with arsenic as a second challenge. *Science of the Total Environment*, 672, 789–797. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.013>
40. Jensen, P. D., Johnson, L. R., & Trumble, J. T. (2006). Individual and joint actions of selenate and methylmercury on the development and survival of insect detritivore *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50(4), 523–530. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0111-y>
41. Jensen, Peter D., Rivas, M. D., & Trumble, J. T. (2005). Developmental responses of a terrestrial insect detritivore, *Megaselia scalaris* (Loew) to four selenium species. *Ecotoxicology*, 14(3), 313–322. <https://doi.org/10.1007/s10646-003-6368-x>
42. Kaur Heer, B. (2017). Effect of Cadmium Chloride on the Development of *Chrysomya Megacephala* (Diptera:Calliphoridae) and its Importance to Postmortem Interval Estimate. *Journal of Forensic Sciences & Criminal Investigation*, 3(5), 24–27. <https://doi.org/10.19080/jfsci.2017.03.555622>
43. Kintz P, Godelar B, Tracqui A, Mangin P, Lugnier AA and Chaumont AJ. Fly larvae: a new toxicological method of investigation in forensic medicine. *Journal of Forensic Sciences* 1990; 35: 204-207.
44. Kintz P, Tracqui A, Ludes B, Waller J, Boukhabza A, Mangin P, Lugnier AA and Chaumont AJ. Fly larvae and their relevance in forensic toxicology. *Journal of Forensic Medicine and Pathology* 1990; 11: 63-65.
45. Kintz P, Tracqui A and Mangin P. Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. *Journal of the Forensic Science Society* 1990; 30: 243-246.
46. Krantzberg, G. (1989). Metal accumulation by chironomid larvae: the effects of age and body weight on metal body burdens. *Hydrobiologia*, 188–189(1), 497–506. <https://doi.org/10.1007/BF00027817>
47. Krantzberg, G., & Stokes, P. M. (1988). The importance of surface adsorption and pH in metal accumulation by chironomids. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7(8), 653–670. <https://doi.org/10.1002/etc.5620070807>
48. Merritt, T. J. S., & Bewick, A. J. (2017). Genetic diversity in insect metal tolerance. *Frontiers in Genetics*, 8(NOV), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00172>

49. Miranda, C. D., Crippen, T. L., Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2021). Black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae), and house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), larvae reduce livestock manure and possibly associated nutrients: An assessment at two scales. *Environmental Pollution*, 282, 116976. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116976>
50. Nability, P. D., Higley, L. G., & Heng-Moss, T. M. (2006). Effects of temperature on development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) and use of developmental data in determining time intervals in forensic entomology. *Journal of Medical Entomology*, 43(6), 1276–1286. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)43\[1276:EOTODO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43[1276:EOTODO]2.0.CO;2)
51. Nability, P. D., Higley, L. G., & Heng-Moss, T. M. (2007). Light-induced variability in development of forensically important blow fly *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 44(2), 351–358. <https://doi.org/10.1093/jmedent/44.2.351>
52. Namminga, H., & Wilhm, J. (1977). Heavy Metals in Water Organisms. *The Journal of Ecology*, 74(3), 912. <https://doi.org/10.2307/2260414>
53. Nolte KB and Pinder R. Entomotoxicology: detection of cocaine poisoning in a decomposed body (abstract). Proceedings of the 43rd annual meeting, American Academy of Forensic Sciences, Anaheim, California 1991: 143.
54. Novotny, V., Basset, Y., Miller, S. E., Weiblen, G. D., Bremer, B., Cizek, L., & Drozd, P. (2002). Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature*, 841–844.
55. Nummelin, M., Lodenius, M., Tulisalo, E., Hirvonen, H., & Alanko, T. (2007). Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution. *Environmental Pollution*, 145(1), 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.03.002>
56. Ong, S. Q., Ahmad, H., & Tan, E. H. (2018). Substrate Moisture Affects the Development of *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae): An Implication of the Growth Circumstances of the Fly in Forensic Entomology. *Environmental Entomology*, 47(6), 1582–1585. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy127>
57. Pedrosa, J., Campos, D., Cocchiararo, B., Nowak, C., Soares, A. M. V. M., Barata, C., & L. T. Pestana, J. (2017). Evolutionary consequences of historical metal contamination for natural populations of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Ecotoxicology*, 26(4), 534–546. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1784-5>

58. Pedrosa, J., Gravato, C., Campos, D., Cardoso, P., Figueira, E., Nowak, C., Soares, A. M. V. M., Barata, C., & Pestana, J. L. T. (2017). Investigating heritability of cadmium tolerance in *Chironomus riparius* natural populations: A physiological approach. *Chemosphere*, 170, 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.008>
59. Peterson, E. K., Wilson, D. T., McDaniel, P., Morley, E. J., Possidente, D., Hirsch, H. V. B., Possidente, B., Hollocher, K. T., & Ruden, D. M. (2017). Accumulation, elimination, sequestration, and genetic variation of lead (Pb²⁺) loads within and between generations of *Drosophila melanogaster*. In *Chemosphere* (Vol. 181, pp. 368–375). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.091>
60. Płachetka-Bożek, A., Chwiałkowska, K., & Augustyniak, M. (2018). Molecular changes in vitellogenin gene of *Spodoptera exigua* after long-time exposure to cadmium – Toxic side effect or microevolution? In *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Vol. 147, pp. 461–470). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.067>
61. Pounder, D. J. (1991). Forensic entomo-toxicology. *Journal of the Forensic Science Society*, 31(4), 469–472. [https://doi.org/10.1016/S0015-7368\(91\)73189-7](https://doi.org/10.1016/S0015-7368(91)73189-7)
62. Proc, K., Bulak, P., Wiącek, D., & Bieganski, A. (2020). *Hermetia illucens* exhibits bioaccumulative potential for 15 different elements – Implications for feed and food production. *Science of the Total Environment*, 723. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138125>
63. Purschke, B., Scheibelberger, R., Axmann, S., Adler, A., & Jäger, H. (2017). Impact of substrate contamination with mycotoxins, heavy metals and pesticides on the growth performance and composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for use in the feed and food value chain. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 34(8), 1410–1420. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1299946>
64. Ramos-Arroyo, Y. R., & Siebe-Grabach, C. D. (2006). Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: Estudio de caso en el Distrito de Guanajuato, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 23(1), 54–74.
65. Ramos-elorduy, J. (2002). Ecology of Food and Nutrition Edible insects of chiapas , Mexico. *Ecology of Food Nutrition*, 41:4, 271–299. <https://doi.org/10.1080/03670240214081>
66. Rayms-Keller, A., Olson, K. E., McGaw, M., Oray, C., Carlson, J. O., & Beaty, B. J. (1998). Effect of heavy metals on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae.

Ecotoxicology and Environmental Safety, 39(1), 41–47.
<https://doi.org/10.1006/eesa.1997.1605>

67. Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(5), 802–823. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>
68. Santos-santos, E., Yarto-ramírez, M., Gavilán-garcía, I., Castro-díaz, J., Gavilán-garcía, A., Rosiles, R., Suárez, S., & López, T. (2006). Analysis of Arsenic, Lead and Mercury in Farming Areas with Mining Contaminated Soils at Zacatecas, Mexico. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 50(2), 57–63.
69. Schowalter, D. (2013). *Insects and sustainability of Ecosystem Services*.
70. Schowalter, D. (2016). *Insect Ecology.pdf*.
71. Smith, K. G. V. (1986). *A Manual of Forensic Entomology* (The Trustees of the British Museum (Natural History) (ed.); 1st ed.). <https://doi.org/10.2307/505635>
72. Sorensen, M. A., Chase-Dunn, C. M., & Trumble, J. T. (2009). Chronic exposure to elevated levels of manganese and nickel is not harmful to a cosmopolitan detritivore, *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae). *Insect Science*, 16(1), 73–79. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.00256.x>
73. Thomas, J. K., Sanford, M. R., Longnecker, M., & Tomberlin, J. K. (2016). Effects of Temperature and Tissue Type on the Development of *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae). *Journal of Medical Entomology*, 53(3), 519–525. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw019>
74. Timmermans, K. R., & Walker, P. A. (1989). The fate of trace metals during the metamorphosis of chironomids.pdf. *Environmental Pollution*, 62, 73–85.
75. Trumble, J. T., & Jensen, P. D. (2004). Ovipositional Response, Developmental Effects and Toxicity of Hexavalent Chromium to *Megaselia scalaris*, A Terrestrial Detritivore. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(3), 372–376. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-3007-8>
76. Van Huis A, Van Isterbeeck J, Klunder H, et al. (2013). Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security. In *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Vol. 97, Issue 18). <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/258042>
77. Villanueva, S., & Botello, A. (1992). Metales pesados en la zona costera del Golfo de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 8(1), 47–61.

78. Williams, K. A., Green, D. W. J., Pascoe, D., & Gower, D. E. (1987). Effect of cadmium on oviposition and egg viability in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 38(1), 86–90. <https://doi.org/10.1007/BF01606563>
79. Williamson, K. B. (1924). The use of gases and vapours for killing mosquitos breeding in wells. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 17(8), 485–519.
80. Winner, R. W., Boesel, M. W., & Farrell, M. P. (1980). Insect community structure as an index of heavy metal pollution in lotic ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(4), 647–655. <https://doi.org/10.1139/f80-081>
81. Wu, N., Wang, X., Xu, X., Cai, R., & Xie, S. (2020). Effects of heavy metals on the bioaccumulation, excretion and gut microbiome of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192(November 2019), 110323. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110323>
82. Wu, N., Wang, X., Yan, Z., Xu, X., Xie, S., & Liang, J. (2021). Transformation of pig manure by passage through the gut of black soldier fly larvae: Metal speciation, potential pathogens and metal-related functional profiling. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
83. Yáñez, L., García-Nieto, E., Rojas, E., Carrizales, L., Mejía, J., Calderón, J., Razo, I., & Díaz-Barriga, F. (2003). DNA damage in blood cells from children exposed to arsenic and lead in a mining area. *Environmental Research*, 93(3), 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2003.07.005>
84. Yasunobu, A., & Suzuki, K. T. (1984). Excretion of cadmium and change in the relative ratio of iso-cadmium-binding proteins during metamorphosis of fleshfly (*Sarcophaga peregrina*). In *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Comparative* (Vol. 78, Issue 2, pp. 315–317). [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(84\)90089-6](https://doi.org/10.1016/0742-8413(84)90089-6)