

# Código de barras genético para la identificación de dípteros de importancia forense

## Genetic barcoding for identifying forensically important diptera

Tecnológico de Antioquia

<sup>1</sup> Juliana Pérez Pérez

<sup>2</sup> Daniela Carvajal Henao

### Resumen

*Para la entomología forense, establecer la identidad taxonómica de los insectos relacionados con procesos de descomposición cadavérica, en particular en aquellos grupos de dípteros que se encuentran asociados a los estados de la sucesión cadavérica, es el primer paso importante en una investigación con el fin de estimar el IPM. Por las dificultades para la identificación de especies es necesario buscar herramientas que permitan la correcta determinación. Este artículo pretende introducir la iniciativa de códigos de barras de ADN para la identificación de la mayoría de vida animal y su aplicación en trabajos que utilizan las secuencias de ADN, específicamente del gen COI para identificar especies de importancia forense.*

**Palabras clave:** *COI, entomología forense, marcadores moleculares.*

---

<sup>1</sup> Ingeniera Biológica, Candidata Magíster en Biología. Universidad de Antioquia. Docente Tecnológico de Antioquia Institución Universitaria. Grupo de Investigación de Ciencias Forenses y Salud. jperezp1017@gmail.com.

<sup>2</sup> Estudiante Profesional en Criminalística. Tecnológico de Antioquia. Grupo de Investigación en Ciencias.



## Abstract

*In forensic entomology, establishing the taxonomic identity of insects associated to processes of corpse decomposition, in particular Diptera groups that are associated to succession stages in corpses, is an important first step in an investigation aiming to estimate PMI. Given the challenges in identifying species, there is a need to find tools allowing an accurate determination. This paper aims to introduce the initiative of DNA barcoding for the identification of most animal life, and its application in studies using DNA sequences, specifically COI gene to identify forensically-relevant species.*

**Keywords:** *COI, forensic entomology, molecular markers.*

## Entomología forense

Desde la antigüedad, los insectos han sido utilizados como prueba en investigaciones criminales, sin embargo, solo en los últimos 30 años las evidencias entomológicas se han usado frecuentemente en el ámbito legal<sup>1</sup>.

Los insectos son el grupo de organismos vivos más diverso; en especial moscas, escarabajos, abejas, hormigas, avispas y mariposas<sup>2</sup>. El orden de las moscas o dípteros se considera megadiverso, cuenta con cerca de 152.000 especies descritas en el mundo<sup>3</sup>. En la región neotropical se han reportado aproximadamente 24.000 especies<sup>4</sup>. Este grupo no solo es diverso en cuanto al número de especies, sino también con relación a su biología, morfología y hábitos. En este sentido, el grupo incluye polinizadores, depredadores, parasitoides, fitófagos, hematófagos y descomponedores (saprófagos y necrófagos); estos últimos cumplen un rol primordial en el reciclaje de nutrientes dentro de los ecosistemas<sup>5</sup>. Por esta razón, algunos grupos de dípteros cobran gran importancia en el contexto de la entomología forense, como las moscas de las familias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae y Fannidae<sup>6-10</sup>.

La entomología forense es una disciplina científica aplicada que estudia el papel de los insectos y/o artrópodos en la escena del crimen de una muerte accidental o natural. Concretamente, los estudios entomológicos forenses se relacionan con la estimación del tiempo de muerte en casos de homicidio, suicidio, accidentes, delitos sexuales, casos de negligencia en cuidado de niños o ancianos y, en casos particulares, con la detección de tóxicos y con el traslado



de cuerpos<sup>11</sup>. Esta aplicación permite la interpretación de la información que suministran los insectos como testigos indirectos de un deceso<sup>6,11,12</sup>. No obstante, existen muchas otras aplicaciones, como la emisión de informes periciales sobre fauna de productos almacenados e informes biomédicos<sup>13</sup>.

Para los insectos los cadáveres representan un recurso energético, debido a que a partir de la muerte de un organismo se inicia un proceso de cambios que se conoce como descomposición cadavérica, en el que los insectos cumplen un importante papel como descomponedores<sup>14</sup>. Los insectos encontrados en los cuerpos en descomposición son selectivamente atraídos en momentos determinados de este proceso y, en general, se relacionan con una etapa definida. Parece posible que la actividad de una especie condiciona el sustrato para las siguientes especies, de manera que se originan comunidades complejas y dinámicas de especies necrófagas junto con sus depredadores, parásitos y parasitoides<sup>15</sup>.

Esta aplicación tiene como objetivo principal establecer el tiempo de muerte o intervalo post mórtem (IPM), el cual es el tiempo transcurrido entre la hora de deceso y el hallazgo del cadáver. La estimación del IPM a partir de datos entomológicos se realiza mediante estudios de sucesión y de comparación del ciclo de desarrollo de los insectos inmaduros con tablas de crecimiento de las especies encontradas a una temperatura y humedad relativa específicas<sup>16,17</sup>.

La precisión en la determinación del IPM depende fundamentalmente de la correcta identificación taxonómica de las especies de insectos encontrados en el lugar de los hechos<sup>18</sup>. También es posible verificar si existió traslado del cadáver (traslado post mórtem - TPM -) y proporcionar información del lugar de muerte, debido a la distribución espacial y las restricciones geográficas de algunas especies<sup>6,11,19</sup>.

Para establecer el IPM y el TPM es necesario identificar correctamente las especies relacionadas con un caso<sup>20</sup>. Tradicionalmente este reconocimiento se realiza a partir de claves taxonómicas con base en diferencias morfológicas entre individuos. La visualización de estos caracteres requiere un conocimiento detallado de la morfología y la taxonomía de los grupos<sup>21</sup>.

Aunque a nivel mundial se ha avanzado en la elaboración de claves taxonómicas basadas en caracteres morfológicos para las familias Calliphoridae<sup>22-25</sup> y Sarcophagidae<sup>26,27</sup>, aún no se encuentran claves disponibles para la totalidad de especies<sup>23,24</sup>.



Estos insectos históricamente han sido identificados por medio de caracteres morfológicos de adultos<sup>22,25-31</sup>, sin embargo, en la mayoría de las investigaciones forenses se encuentran con alta frecuencia estados inmaduros como huevos, larvas y pupas o restos de estas moscas, y en algunos casos pueden estar necrosados, lo que impide observar los caracteres diagnósticos, y no permite el establecimiento de crías para la obtención de adultos a partir de los cuales se corrobora la identidad taxonómica<sup>6, 18, 32-35</sup>. La identificación de los estados inmaduros de estas moscas se dificulta debido a la similitud morfológica entre larvas de diferentes especies, lo que genera controversia acerca de su identidad taxonómica como resultado de la presencia de especies crípticas, las cuales están aisladas reproductivamente pero cuya morfología es idéntica<sup>36</sup>.

Estas dificultades para la identificación han generado la necesidad de buscar herramientas que permitan, de manera rápida y eficiente, identificar especies, diferenciar taxones que conforman complejos de especies<sup>37</sup>, así como establecer una clasificación más acorde con los procesos evolutivos que han experimentado los insectos. Una alternativa para la determinación en estos casos es el uso de herramientas moleculares, las cuales brindan un nuevo nivel de resolución para el estudio de la ecología, la sistemática y la identificación de especies<sup>18, 32, 38-48</sup>.

## Código de barras genético

Debido al interés en la identificación de especímenes involucrados en aspectos legales, la identificación molecular ha cobrado una atención particular. La información contenida en el ADN se caracteriza por su inmutabilidad durante todas las fases de desarrollo de los insectos (huevo, larva, pupa y adulto)<sup>49</sup> y su alta estabilidad, lo cual facilita la identificación taxonómica en cualquiera de las fases<sup>35</sup> y bajo cualquier método de preservación de las muestras<sup>15</sup>.

Es una herramienta de identificación usada con éxito en países como Alemania, China, Portugal, Australia, Brasil y Reino Unido<sup>35</sup>, que fue desarrollada en el año 2003 por el biólogo Paul D.N. Hebert en el Instituto de Biodiversidad de Ontario de la Universidad de Guelph (Canadá). A partir de este trabajo se dio un crecimiento exponencial en el uso de las secuencias de este mitocondrial, el cual se ha postulado como ADN “barcode” para la mayoría de vida animal<sup>40, 50-53</sup>, y que consiste en utilizar una región de aproximadamente 648 pb del gen que codifica para primera subunidad de la proteína Citocromo Oxidasa I (COI) del genoma mitocondrial<sup>53</sup> para identificación de organismos<sup>54</sup>, y



se ha convertido en la metodología más utilizada en la actualidad en la identificación de especies difíciles de determinar<sup>40</sup>.

Esta propuesta está soportada por un consorcio internacional de museos de historia natural, herbarios y otras organizaciones a nivel mundial, y se ha usado para identificar especies de peces, aves, insectos y primates<sup>39, 42-43, 55-58</sup>.

Los proponentes del “código de barras genético” visionan la construcción de una base de datos universal que incluya todas las secuencias de COI de animales, que además serviría como base para un sistema global de bioidentificación<sup>53</sup>. Las ventajas y desventajas de este método han sido muy discutidas<sup>59,60</sup>. Sin embargo, se sustenta que la estandarización de este sistema de identificación de especies contribuirá al fortalecimiento de investigaciones globales en la identificación de especies de importancia médica, ambiental, económica, forense, veterinaria, etc.<sup>61</sup>.

## Aplicación a las ciencias forenses

En el contexto de la entomología forense, este marcador se ha convertido en una herramienta clave para la identificación taxonómica<sup>29, 32, 39-40, 42-44, 49, 62-65</sup>.

A nivel mundial se han llevado a cabo investigaciones que buscan la validación del código de barras en especies de importancia forense<sup>62, 63, 66</sup>. En la familia Calliphoridae esta técnica se ha empleado con éxito<sup>67,70</sup>, y puede ser de especial utilidad en la identificación de taxones para los cuales la morfología o el estado de desarrollo en el que se encuentran son problemáticos<sup>35</sup>.

Para lograr una identificación “robusta” de la muestra es necesario que existan secuencias de las especies bajo estudio, con el fin de realizar una comparación en línea mediante las bases de datos<sup>71</sup>. Debido a las diferencias geográficas, es importante contar con secuencias que abarquen el rango de distribución de las especies.

En el campo forense se destaca el trabajo de Saigusa y colaboradores<sup>33</sup>, en el cual se utilizó un fragmento de 304 pb de COI para la identificación de ocho especies de importancia forense, seis pertenecientes a la familia Calliphoridae: *Calliphora lata* Coquillett, 1898; *Calliphora vicina* Robineau - Desvoidy, 1830; *Lucilia cuprina* Wiedemann, 1830; *Lucilia illustris* Meigen, 1823; *Lucilia sericata* Meigen, 1826; *Chrysomya pinguis* Walker, 1858, y dos especies de la familia Sarcophagidae (*Sarcophaga crassipalpis* Macquart,



1839, *Parasarcophagas milis*, Meade, 1876); en este estudio se demostró la utilidad del gen COI para la identificación de estados inmaduros. Las secuencias de COI de cada especie presentaron un único haplotipo distinguible de las otras, y se concluyó además que la identificación con esta herramienta es simple, ahorra tiempo y elimina la necesidad de esperar la obtención o eclosión de ejemplares adultos.

Pohjoismäki y colaboradores<sup>72</sup> recolectaron los huevos, larvas y pupas durante autopsias realizadas en el Departamento de Medicina Forense en Finlandia y en escenas de crímenes. Estos especímenes se criaron hasta la etapa adulta para ser identificados morfológicamente, y se estudiaron nueve casos de cuerpos encontrados al interior de viviendas. De las cinco especies encontradas las más comunes fueron *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* y *Protophormia terraenovae* Robineau-Desvoidy 1830, y por primera vez se reportó *Sarcophagaca erulescens* Zetterstedt, 1838 como colonizadora de cadáveres humanos. Se amplificó una región de COI de 648 pb que servirá de referencia para futuras identificaciones.

A nivel mundial se han realizado estudios similares que buscan validar el COI como marcador adecuado para la identificación de especies de importancia forense (ver Tabla 1).

**Tabla 1.** Referencia de estudios a nivel mundial de identificación de moscas de importancia forense que utilizan el gen COI.

PAÍS	AUTOR	AÑO	TÍTULO
Portugal	Oliveira AR, Farinha A, Rebelo MT y Dias D.	2011	Forensic entomology: Molecular identification of blowfly species (Diptera: Calliphoridae) in Portugal
Japón	Saigusa K, Takamiya M, y Aoki Y.	2005	Species identification of the forensically important flies in Iwate prefecture, Japan, based on mitochondrial cytochrome oxidase gene subunit I (COI) sequences



Australia	Wallman JF	2001	The utility of mitochondrial DNA sequences for identification of forensically important blowflies (Diptera: Calliphoridae) in southeastern Australia
Malasia	Tan SH, Rizman-Idid M., Mohd-Aris E, Kurahashi H y Mohamed Z.	2010	DNA-based characterization and classification of forensically important flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) in Malaysia
Taiwan	Wei-Yun C, Ting-Hsuan Hy, Shih-Feng S.	2004	Molecular Identification of Forensically Important Blow Fly Species (Diptera: Calliphoridae) in Taiwan
Brasil	Kossmann C.	2009	Código de barras (DNAbarcode) de dípteros de interés forense
Alemania	Boehme P, Amendt J, Zehner R.	2012	The use of COI barcodes for molecular identification of forensically important fly species in Germany
Reino Unido	Ames C., Turner B, Daniel B.	2006	The use of mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) to differentiate two UK blowfly species <i>Calliphora vicina</i> and <i>Calliphora vomitoria</i>
Italia	Alessandrini F, Mazzanti M, Onofri V, Turchi C, Tagliabracci A.	2008	MtDNA analysis for genetic identification of forensically important insects
Colombia	Solano JJ, Wolff M, Castro LR.	2013	Identificación molecular de califóridos (Diptera: Calliphoridae) de importancia forense en Colombia



El único estudio reportado en Colombia sobre identificación de moscas de importancia forense que utiliza esta metodología (barcode), corresponde al desarrollado por Solano y colaboradores<sup>73</sup>, el cual hace un gran aporte a las bases de datos mundiales de especímenes procedentes de nuestro país. En él se concluye que la región código de barras COI es fácil de amplificar y presenta productos de secuenciación de fácil edición, lo que facilita la rápida identificación de especies. En este trabajo el número de secuencias de varias especies fue bajo (una sola secuencia de algunas especies), se recomienda llevar a cabo estudios que utilicen un mayor número de secuencias por especie, y que representen lo mejor posible los rangos de distribución altitudinal y latitudinal en el área de distribución de la especie, para poder establecer rangos de distancias más ajustados a la variabilidad intraespecífica que esta pueda presentar.

Este panorama evidencia la importancia de trabajar con este método a fin de aportar información útil y necesaria a las bases de datos mundiales. El semillero Insecta del Tecnológico de Antioquia adelanta estudios de variabilidad genética en moscas de importancia forense, y proyecta realizar investigaciones en el área con el fin de contribuir con datos que enriquezcan las bases de datos de nuestro país para la identificación.

## **Agradecimientos**

Al comité de investigación del Tecnológico de Antioquia (CODEI) por financiar los proyectos de nuestro grupo.

A la Facultad de Investigación Judicial, Forenses y Salud del Tecnológico de Antioquia por el apoyo a nuestros proyectos.

A todos los integrantes del Semillero INSECTA por su participación y a Luz Miryam Gómez, líder del Grupo de Investigación Ciencias Forenses y Salud, por su dirección y apoyo a todos los trabajos realizados.



## Referencias

1. Benecke M. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*. 2001; (120): 2-14.
2. Amat-García G. Fundamentos y métodos para el estudio de los insectos. Editorial Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencias Naturales; 2007.
3. Courtney GW, Pape T, Skevington JH y Sinclair BJ. Biodiversity of Diptera. In: Footitt, RG and Adlher PH, editores. *Insect Biodiversity Science and society*. Wiley-Blackwell. 2009; p. 185-222.
4. Amorim DA., Silva VC., y Balbi MI. Estado do conhecimento dos dípteros neotropicais. In: Costa SA Vanin, Lobo JM., Melic A., editores. Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática PRIBES. Monografías Tercer Milenio. SEA Zaragoza. 2002; 2, p. 29-36.
5. Hanski I. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. *Ecological Entomology*. 1987; (12): 257-66.
6. Catts EP y Goff ML. Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology*. 1992; (37): 253-72.
7. Wolff M, Uribe A, Ortiz A y Duque P. A preliminary study of forensic entomology in Medellín, Colombia. *Forensic Science International*. 2001; (120): 53-59.
8. Olaya LA. Entomofauna sucesional en el cadáver de un cánido en condiciones de campo en la Universidad de Valle (Cali, Colombia). *Cuadernos de Medicina Forense*. 2001;(23): 3-10.
9. Salazar-Ortega J. Estudio de la entomofauna sucesional asociada a la descomposición de un cadáver de cerdo doméstico (*Sus scrofa*) en condiciones de campo. *Universitas Scientiarum*. 2008; 13(1): 21-32.
10. Amat E, Ramírez-Mora MA, Buenaventura E, y Gómez Piñeres LM. Variación temporal de la abundancia en familias de moscas carroñeras (Diptera: Calyptratae) en un valle andino antropizado de Colombia. *Acta zoológica Mexicana*. 2013; 29(3): 463-72.



11. Bird JH, Castner JL. Forensic Entomology: The utility of arthropods in legal investigations. Florida: CRC Press; 2001.
12. Catts EP, Haskell N. Entomology and death. A procedural guide. 2nd ed. Carolina del Sur: Clemson; 1997.
13. Smith KG. A manual of forensic entomology. London: British Museum (Natural History), and Ithaca; NY: Cornell University Press; 1986.
14. Amat E, Gómez-Piñerez LM. La entomología forense como evidencia científica en Colombia: métodos, estudios y prospectivas. En: Bustamante MM, Editor. Derecho probatorio contemporáneo, prueba científica y técnicas forenses. Medellín: Universidad de Medellín; 2012. p. 443-56.
15. Pancorbo MM, Ramos R, Saloña M, Sánchez P. Entomología molecular forense. Ciencia Forense. Revista Aragonesa de Medicina Legal. 2006; (8): 107-30.
16. Smith KVG. A manual of forensic entomology. London: Trustees of the Bristish Museum. (Nat History) and Cornell University Press; 1986.
17. Marchenko MI. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. Forensic Science International. 2001; (120): 89-109.
18. Benecke M. Six forensic entomology cases: Description and commentary. Journal of Forensic Sciences. 1998; (43): 797-05.
19. Shean BS, Messinger LPM. Observations of differential decomposition on sun exposed v. shaded pig carrion in Coastal Washington State. Journal of Forensic Science. 1993; 38(4): 938-49.
20. Kashyap VK, Pillay VV. Efficacy of entomological method in estimation of postmortem interval: A comparative analysis. Forensic Science International. 1989; (40): 245-50.
21. Arnaldos MI, García MD, Romera E, Presa JJ, Luna A. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. Forensic Science International. 2005; 149(1): 57-65.



- 22.** Amat E, Vélez C, Wolff M. Clave ilustrada para la identificación de los géneros y las especies de califóridos (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Caldasia*. 2008; (30): 231-44.
- 23.** Mello RP. Chave para a identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachicera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomología y Vectores*. 2003; (10): 255-68.
- 24.** De Carvalho C y Ribeiro P. Chave de identificação das especies de Calliphoridae (Diptera) do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria*. 2000; 9(2): 169-73.
- 25.** Amat E. Contribución al conocimiento de las Chrysomyinae y Toxotarsinae (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 2009; (80): 693-708.
- 26.** Buenaventura E. Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense en Colombia: claves taxonómicas, notas sobre su biología y distribución. *Revista Colombiana de Entomología*. 2009; 35(2): 189-96.
- 27.** De Carvalho C., Mello-Patiu C. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia*. 2008; 52(3): 309-406.
- 28.** Whitworth T. Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of America north of Mexico. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*. 2006; 108(3): 689-25.
- 29.** Whitworth T. Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of the West Indies and description of a new species of *Lucilia Robineau-Desvoidy*. *Zootaxa*. 2010; (2663): 1-35.
- 30.** Méndez J, Mello-patiu C, Pape T. New flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) from coastal mangroves of Panama with taxonomic notes and keys. *Journal of Natural History*. 2008; (42): 249-57.
- 31.** Flórez E, Wolff M. Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. *Neotropical Entomology*. 2009; 38(3): 418-29.



- 32.** Malgorn Y, Coquoz R. DNA typing for identification of some species of Calliphoridae. An interest in forensic entomology. *Forensic Science International*. 1999; (102): 111-19.
- 33.** Saigusa K, Takamiya M, Aoki Y. Species identification of the forensically important flies in Iwate prefecture, Japan, based on mitochondrial cytochrome oxidase gene subunit I (COI) sequences. *Legal Medicine*. 2005; (7): 175-78.
- 34.** Wallman JF, Donellan SC. The utility of mitochondrial DNA sequences for identification of forensically important blowflies (Diptera: Calliphoridae) in southeastern Australia. *Forensic Science International*. 2001; 120(1): 11-115.
- 35.** Harvey ML, Dadour IR, Gaudieri S. Mitochondrial DNA cytochrome oxidase I gene: Potential for distinction between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in Western Australia. *Forensic Science International*. 2003; (131): 134-39.
- 36.** Sáez AG, Lozano E. Body doubles. *Nature*. 2005; 433(7022): 111-111.
- 37.** Bejarano EE. Variabilidad genética y especiación en *Lutzomyia* (*verrucarum*) *evansi* (Núñez-Tovar, 1924), vector de leishmaniosis visceral americana [Tesis de Maestría]. Medellín: Universidad de Antioquia. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET -: 2001.
- 38.** Loxdale HD, Lushai G. Molecular markers in entomology. *Bulletin of Entomological Research*. 1998; (88): 577-600.
- 39.** Oliveira AR, Farinha A, Rebelo MT, Dias D. Forensic Entomology: Molecular identification of blowfly species (Diptera: Calliphoridae) in Portugal. *Forensic Science International. Genetics Supplement*. 2011; Series 3: e439-e440.
- 40.** Nelson LA, Wallman JF, Dowton M. Using COI barcodes to identify forensically and medically important blowflies. *Medical and Veterinary Entomology*. 2007; (21): 44-52.
- 41.** Wells J, Wall R, Stevens J. Phylogenetic analysis of forensically important *Lucilia* flies based on cytochrome oxidase I sequence: A cautionary tale for forensic species determination. *International Journal of Legal Medicine*. 2007; (121):229-33.



- 42.** Deby RW, Timm AE, Dahlem GA, Stamper T. mtDNA-based identification of *Lucilia cuprina* (Wiedemann) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) in the continental United States. *Forensic Science International*. 2010; (202): 102-09.
- 43.** Ferreira S, Oliveira AR, Farinha A, Rebelo MT, Dias D. Forensic entomology: Nuclear and mitochondrial markers for Diptera and Coleoptera identification. *Forensic Science International: Genetics Supplement*. 2011; Series 3: e174-e175.
- 44.** Liu Q, Cai Y, Wang X, Gu Y, Wen J, Meng F. Identification of forensically significant calliphorids based on mitochondrial DNA cytochrome oxidase I (COI) gene in China. *Insect Science*. 2011; (18): 554-64.
- 45.** Gibson JF, Kelso S, Jackson MD, Kits JH, Miranda GFG, Skevington JH. Diptera-specific polymerase chain reaction amplification primers of use in molecular phylogenetic research. *Annals of the entomological society of America*. 2011; 105(5): 976-97.
- 46.** Stevens JR, Wall R. Genetic relationships between blowflies (Calliphoridae) of forensic importance. *Forensic Science International*. 2001; (120): 116-23.
- 47.** Mazzanti M, Alessandrini F, Tagliabracci A, Wells JD, Campobasso CP. DNA degradation and genetic analysis of empty puparia: Genetic identification limits in forensic entomology. *Forensic Science International*. 2010; (195): 99-102.
- 48.** Mcdonagh L, Thornton C, Wallman JF, Stevens JR. Development of antigen-based rapid diagnostic test for the identification of blowfly (Calliphoridae) species of forensic significance. *Forensic Science International: Genetics*. 2009; (3): 162-65.
- 49.** Wells JD, Sperling FA. DNA-based identification of forensically important Crhysomyinae (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International*. 2001; (120): 110-15.
- 50.** Kosmann C. Código de barras (DNA barcode) de dípteros de interés forense. Tese de maestria. Brasil: Universidade Federal do Paraná, Área de concentração em Entomologia; 2009.



- 51.** Janzen DH. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 2009; 106(31): 12794-797.
- 52.** Hajibabaei M, Smith AM, Janzen DH, Rodriguez JJ, Whitfield JB, Hebert PD. BARCODING: A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes*. 2006; 6: 959-64.
- 53.** Hebert PDN, Cywinska A, Shelley LB, de Waard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society*. 2003; 270: 313-21.
- 54.** Lanteri A. Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la entomología. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. 2007; 66(3-4): 15-25.
- 55.** Tobe SS, Kitchener A, Linacre A. Cytochrome b or cytochrome c oxidase subunit I for mammalian species identification: An answer to the debate. *Forensic Science International: Genetics Supplement*. 2009; Series 2: 306-07.
- 56.** Nijman V, Aliabadian M. Performance of distance-based DNA barcoding in the molecular identification of primates. *Comptes Rendus Biologies*. 2010; (333): 11-16.
- 57.** Hongyu M, Chunyan M, Lingbo M. Molecular identification of genus *Scylla* (Decapoda: Portunidae) based on DNA barcoding and polymerase chain reaction. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2012;(41): 41-47.
- 58.** Schilthuizen M, Scholte C, Renske EJ, Dommershuijzen J, der Horst DV, zuSchlochtern MM, et al. Using DNA-barcoding to make the necrobiont beetle family Cholevidae accessible for forensic entomology. *Forensic Science International*. 2011; (210): 91-95.
- 59.** Hebert PDN, Gregor TR. The promise of DNA Barcoding for Taxonomy. *Systematic Biology*. 2005; 54(5): 852-59.
- 60.** Wheeler QD. Losing the plot: DNA “barcodes” and taxonomy. *Cladistics*. 2005; (21): 405-07.



- 61.** Armstrong K, Ball SL. DNA barcodes for biosecurity: Invasive species identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Biology Sciences*. 2005; (360): 1813-23.
- 62.** Chen Y, Xiao H, Fu J, Huang DW. A molecular phylogeny of eurytomid wasps inferred from DNA sequence data of 28C, 18S, 16S and COI. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2004; (31): 300-07.
- 63.** Desmyter S, Gosselin M. COI sequence variability between *Chrisomyinae* of forensic interest. *Forensic Science International: Genetics*. 2009; (3): 89-95.
- 64.** Dawnay N, Ogden R, McEwing R, Carvalho GR, Thorpe RS. Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification. *Forensic Science International*. 2009; (173): 1-6.
- 65.** Yadong G, Jifeng C, Xinghua W, Lingmei L, Qinlai L, Xiang L, et al. Identification of forensically important sarcophagid flies (Diptera: Sarcophagidae) based on COI gene in China. *Romanian Society of Legal Medicine*. 2010; (18): 217-24.
- 66.** Dalton DL, Kotze A. DNA barcoding as a tool for species identification in three forensic wildlife cases in South Africa. *Forensic Science International*. 2011; (207): e51-e54.
- 67.** Solano JJ, Wolff M, Castro LR. Identificación molecular de califóridos (Diptera: Calliphoridae) de importancia forense en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. 2013; 39(2): 281-90.
- 68.** Meiklejohn KA, Wallman JF., Dowton M. DNA-based identification of forensically important Australian Sarcophagidae (Diptera). *International Journal Legal Medicine*. 2011; (125): 27-32.
- 69.** Boehme P, Amendt J, Zehner R. The use of COI barcodes for molecular identification of forensically important fly species in Germany. *Parasitology Research*. 2012; (110): 2325-32.
- 70.** Jordaens K, Sonet G, Richet R, Dupont E, Braet Y, Desmyter S. Identification of forensically important *Sarcophaga* species (Diptera: Sarcophagidae) using the mitochondrial COI gene. *International Journal of Legal Medicine*. 2013; (12): 491-04.



- 71.** Rolo EA, Oliveira AR, Dourado CG, Farinha A. Identification of sarcosaprophagous Diptera species through DNA barcoding in wildlife forensics. *Forensic Science International*. 2013; (228): 160-64.
- 72.** Pohjoismäki J. Indoors forensic entomology: Colonization of human remains in closed environments by specific species of sarcosaprophagous flies. *Forensic Science International*. 2010; (199): 38-42.
- 73.** Solano JJ., Wolff M, Castro LR. Identificación molecular de califóridos (Diptera: Calliphoridae) de importancia forense en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. 2013; 39(2): 281-90.

