

# Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics

Journal homepage: [www.ipebj.com.br/forensicjournal](http://www.ipebj.com.br/forensicjournal)



## Estudos Forenses sobre DNA Barcoding no Brasil

### Forensic Studies on DNA Barcoding in Brazil

Rodrigo Henrique Alves<sup>1,\*</sup>, Carlos Benigno Vieira de Carvalho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratório de Biologia e Bacteriologia Legal, Instituto de Criminalística, Belo Horizonte, MG, Brasil*

<sup>2</sup> *Laboratório de Genética Forense, Instituto Nacional de Criminalística, Brasília, DF, Brasil*

\* Corresponding author. E-mail: [alvesrodrigoh@yahoo.com.br](mailto:alvesrodrigoh@yahoo.com.br)

Received 26 August 2023; Accepted 06 January 2025

**Resumo.** As abordagens taxonômicas tradicionais, baseadas em caracteres morfológicos, têm demonstrado uma série de limitações para aplicação em exames periciais, o que tem tornado promissoras as abordagens de identificação genética de espécies, em especial a técnica DNA barcoding. Com base em uma ampla revisão bibliográfica, o objetivo desse estudo foi caracterizar, utilizando parâmetros categorizados, os estudos forenses realizados no Brasil relacionados ao DNA barcoding, com vistas à avaliação da realidade do país no que se refere ao desenvolvimento dessa técnica. Foram consideradas as categorias produção científica em função do tempo, a partir do ano de 2003; métodos de extração de DNA empregados; organismos analisados e marcadores utilizados; abordagem forense empregada e unidades da federação onde os estudos foram conduzidos. Os resultados demonstraram que foram mais frequentes os estudos envolvendo animais, principalmente peixes, com foco na abordagem forense relacionada à fraude alimentar, com o uso predominante do gene COI como marcador. Tiveram destaque as produções científicas conduzidas no Distrito Federal, Pará e estados da região sudeste do país. Além disso, apesar de haver espaço para um uso mais difundido da técnica no país, ficou claro que as instituições policiais e órgãos de fiscalização brasileiros já se beneficiam do uso dessa abordagem.

**Palavras-chave:** DNA barcoding; Genética forense; Identificação genética de espécies.

**Abstract.** Traditional taxonomic approaches for species identification, based on morphological characters, have limitations for application in forensic casework, which have

encouraged the use of genetic approaches for this purpose, especially the DNA barcoding technique. Based on a wide bibliographic review, the objective of this study was to characterize, using categorized parameters, the forensic studies carried out in Brazil related to DNA barcoding, with a view to assessing the reality of the country regarding the development of this technique. The following categories were considered: scientific production over time, DNA extraction methods, organisms analyzed and genetic markers used, forensic approach used and places where the studies were conducted. The results showed that studies involving animals, mainly fish, focusing on the forensic approach related to food mislabeling, using COI as the genetic marker were more frequent. The scientific productions conducted in the Federal District, Pará and states in the southeastern region of the country stood out. Furthermore, although there is an opportunity for a more widespread use of the technique in the country, it is clear that Brazilian police forces and other institutions are already benefiting from the use of this approach.

**Keywords:** DNA barcoding; Forensic genetics; Genetic identification of species.

## 1. Introdução

Embora sequências de DNA sejam utilizadas em estudos taxonômicos desde a década de 1980, o emprego em larga escala dessa abordagem para fins de identificação de espécies só ocorreu no ano 2003, com o lançamento do projeto DNA Barcoding<sup>1</sup>. Em âmbito global, entre 2003 e 2018, mais de 3.700 artigos foram publicados com a expressão “DNA barcoding” no título<sup>2</sup>. Esses estudos incluíram trabalhos experimentais e revisões taxonômicas, nos quais o DNA barcoding foi usado para distinguir espécies crípticas, em análises de amostras ambientais, para avaliar a diversidade genética e variações de cunho biogeográfico, em estudos forenses e de conservação biológica. A maior parte dos estudos com DNA barcoding foi dedicada à identificação de espécimes e à descoberta de novas espécies, principalmente no início desse período, enquanto os estudos forenses representaram uma proporção de, aproximadamente, 10% do total encontrado, embora com uma tendência geral crescente nos últimos anos, alcançando cerca de 15% do total.

Acredita-se que o crescimento das aplicações forenses do DNA barcoding, em âmbito global, esteja diretamente relacionado ao desenvolvimento da legislação, especialmente da ambiental, dado o atual panorama de crise dessa agenda. Nesse sentido, as normas legais de muitos países têm proibido a caça, pesca, o comércio e a propriedade de produtos

originários de espécies protegidas. Desta forma, em casos de suspeita de infrações ambientais, analistas ambientais e peritos criminais são solicitados a analisar os materiais atribuídos ao corpo de delito. Isso significa, muitas vezes, que se faz necessária a identificação das espécies envolvidas nesses atos ilícitos<sup>3</sup>. Portanto, essa necessidade crescente explica os grandes investimentos em pesquisas forenses focadas em métodos de identificação de espécies baseados no DNA barcoding<sup>4</sup>.

Considera-se que, além de alterações em diferentes legislações, as aplicações forenses do DNA barcoding também foram impulsionadas após a apresentação de estudos de validação para esse fim. Em um desses primeiros estudos de validação, Danway et al. (2007) mostraram que o gene COI, marcador escolhido para identificação animal pelo Projeto DNA Barcoding, consistentemente identifica espécies quando existem sequências de referência autenticadas para comparação<sup>5</sup>.

Já com relação à área de fiscalização, outra aplicação da técnica que pode se confundir com a área forense, o crescimento se deu com a aprovação de seu uso por agências reguladoras importantes, como a Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos<sup>6</sup>. O aumento da importância do DNA barcoding como ferramenta de controle e em investigações criminais pode ser comprovado por meio da literatura científica recente<sup>3,7-8</sup>.

Vale ressaltar que, antes mesmo do Projeto DNA Barcoding<sup>1</sup>, a identificação genética de espécies já vinha sendo usada, de forma isolada em diversas áreas, incluindo na entomologia forense<sup>9</sup>. Atualmente, as aplicações forenses do DNA barcoding se dão principalmente nos casos envolvendo o comércio ilegal de espécies e a composição de produtos comerciais (por exemplo, alimentos), especialmente quando outras evidências são deficientes e a análise morfológica é impossível<sup>2</sup>.

O objetivo desse estudo é apresentar, caracterizar e discutir, com base em parâmetros categorizados, os estudos forenses realizados no Brasil relacionados ao DNA barcoding, permitindo que se faça uma avaliação da realidade do país no que se refere ao desenvolvimento dessa técnica.

## 2. Materiais e métodos

O escopo principal desse estudo consistiu no levantamento de artigos científicos baseados em pesquisas realizadas no Brasil relacionadas às aplicações forenses da técnica DNA barcoding. Parte da busca bibliográfica relacionada a esse escopo principal foi feita manualmente em periódicos nacionais com foco em ciências forenses, quais sejam: 1) Revista Brasileira de Criminalística (RBC, da Associação Brasileira de Criminalística - v. 1, n. 1, 2011, até v. 12, n. 3, 2023); 2) Brazillian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics (BJFS, do Instituto Paulista de Estudos Bioéticos e Jurídicos - IPEBJ - v. 1, n. 1, 2011, até v. 12, n. 1, 2022); 3) Revista Criminalística e Medicina Legal (CML - v. 1, n. 1, 2016, até v. 7, n. 1, 2022); e 4) Revista Perícia Federal (Perícia Federal, da Associação dos Peritos Criminais Federais, edição 47 - julho de 2021 - até a edição 50 - dezembro de 2022).

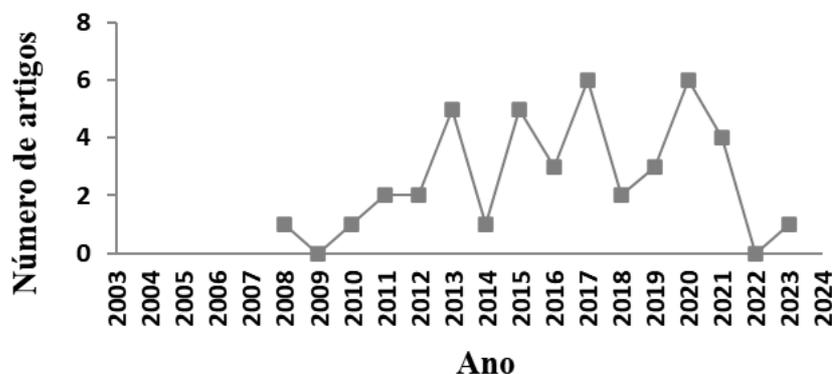
Outra parte do levantamento bibliográfico relacionado a esse escopo principal foi feita mediante buscas nas bases de dados internacionais de trabalhos científicos Scielo (<https://www.scielo.br/>) e Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>), bem como buscas complementares na ferramenta Google Scholar (<https://scholar.google.com.br/>).

A partir de buscas realizadas com a combinação dos termos: “DNA barcoding”, “*barcoding*”, “*barcode*”, “Brasil”, “forense”, “*forensic*”, “*forensics*”, “*illegal*”, “identificação de espécies”, “*species identification*”, foram separadas produções científicas com esses escopo, cujas pesquisas foram realizadas no Brasil. Em seguida, mediante análise criteriosa, foram selecionados somente artigos científicos publicados em periódicos que empregaram claramente a abordagem do DNA barcoding, ou seja, que descreveram as etapas de extração, amplificação, sequenciamento e comparação das sequências obtidas com sequências de bancos de dados públicos.

Nesses artigos selecionados, foi feita a compilação e análise de informações, a fim de identificar padrões e caracterizar os trabalhos científicos que vêm sendo desenvolvidos no Brasil no tocante à referida técnica, aplicados às ciências forenses. As informações foram compiladas em relação às seguintes categorias: ano de publicação, método de extração, marcador(es) utilizado(s), grupo(s) de organismos analisados, abordagem forense relacionada e local onde o estudo foi conduzido (unidades da federação).

### 3. Resultados

Após buscas nos periódicos e nas bases de dados foram separadas 87 produções científicas. Considerando os critérios descritos anteriormente, foram selecionados 42 artigos científicos contendo a abordagem DNA barcoding, com pesquisas realizadas no Brasil e aplicações forenses. Apesar dessa técnica ter ganhado impulso em âmbito mundial a partir do ano de 2003, a produção de artigos no Brasil nessa área teve início no ano de 2008. A partir daí, notam-se oscilações entre crescimento e queda nessa produção, até o final dessa série, com picos de 6 artigos nos anos de 2017 e 2020 (Figura 1).



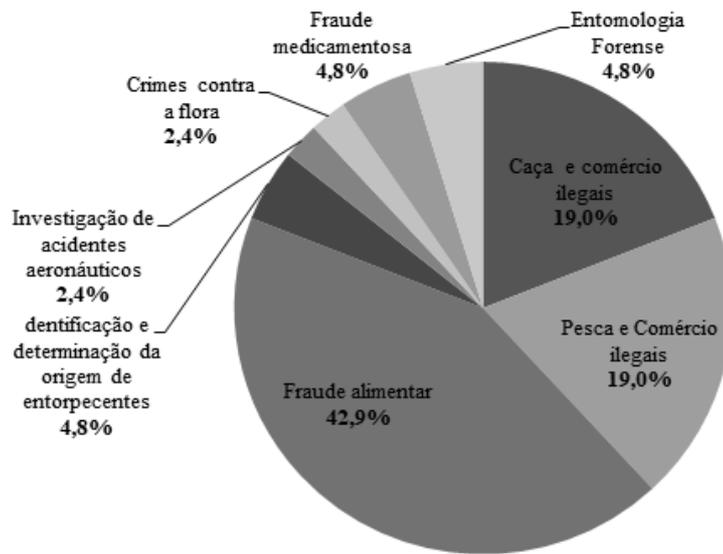
**Figura 1.** Estudos forenses sobre DNA barcoding no Brasil (n = 42 artigos).

Em relação à finalidade dos estudos, foi observado que a principal delas foi a fraude alimentar, representada por 18 artigos (42,9%)<sup>10-27</sup>. Na sequência das abordagens forenses mais prevalentes estavam 16 estudos (38,0%) com foco em crimes contra a fauna (caça, pesca e comércio ilegais de espécimes). Oito (19%) deles eram relacionados à caça e comércio ilegais<sup>28-35</sup> e outros oito (19%) relacionados à pesca e ao comércio ilegais<sup>36-43</sup> (Figura 2).

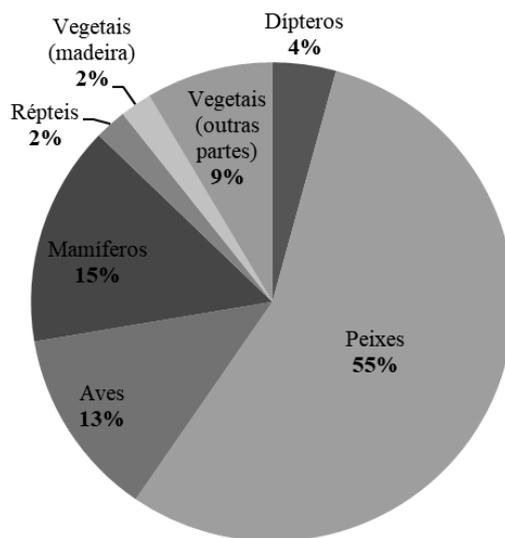
Foi observado que 37 artigos (88,4%), representando a grande maioria dos estudos analisados, teve foco na análise de animais, e os 5 restantes (11,6%), em vegetais. Quanto aos grupos de organismos estudados, a grande maioria dos artigos (26) teve foco na análise de peixes (59,5%), seguida de sete artigos com foco em mamíferos (15%) (Figura 3).

Em relação aos métodos de extração de DNA utilizados, 10 deles, (23,8%) usaram o “Kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega)”, oito (19,0%) usaram métodos orgânicos, cinco (11,9%) usaram protocolos do tipo *salting-out*, quatro (9,5%) usaram o “kit PrepFiler Express™ (Applied Biosystems)”, entre outros com

frequências menores que 7%. Alguns métodos se destacaram em estudos com foco em determinados grupos de organismos, como é o caso de 10 dos 25 estudos com foco em peixes (40,0%), que usaram o Kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega) e cinco deles (20,0 %) usaram o Protocolo salting-out; bem como de três dos cinco estudos com foco em plantas (60,0%), que usaram o Kit Mini DNeasy Plant (Qiagen).

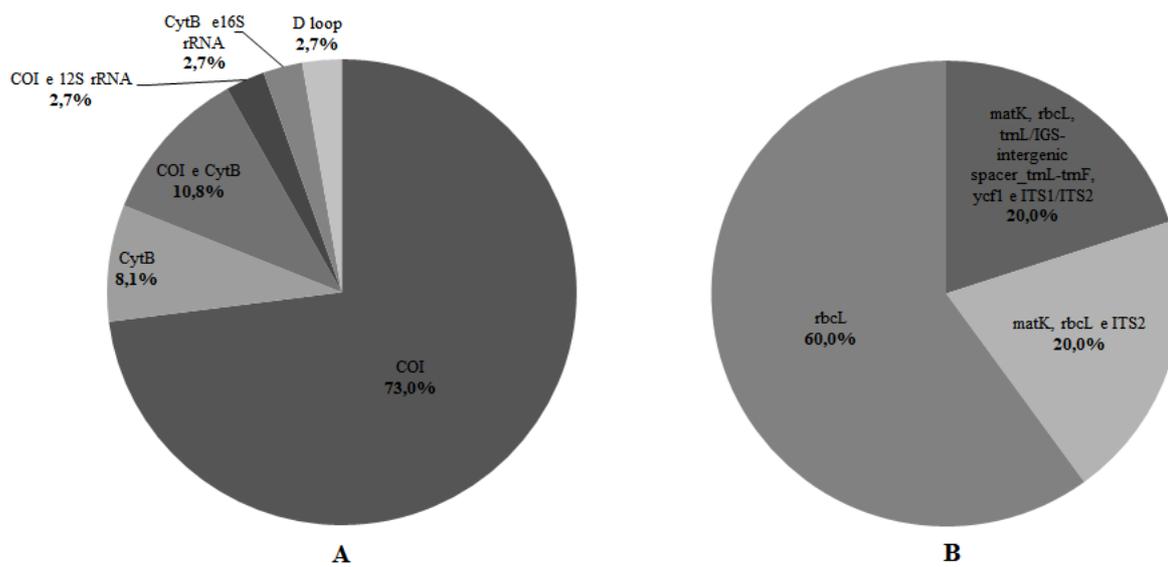


**Figura 2.** Finalidade dos estudos forenses sobre DNA barcoding no Brasil (n = 42 artigos).



**Figura 3.** Grupos de organismos analisados nos estudos forenses sobre DNA barcoding no Brasil (n = 42 artigos).

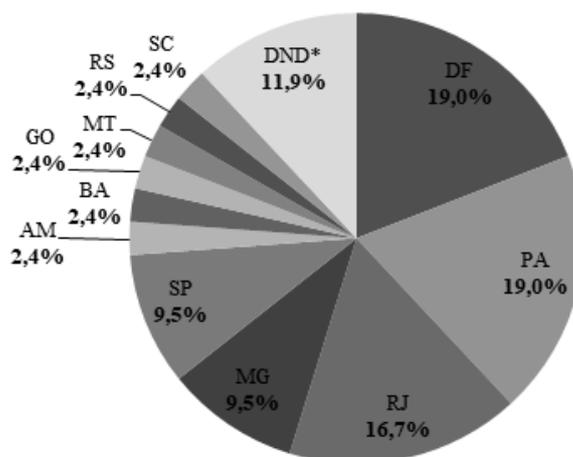
Quanto aos marcadores utilizados nos 37 estudos com animais, 27 utilizaram o gene COI (73,0%), quatro estudos fizeram o uso combinado de COI e CytB (10,8%), três usaram CytB (8,1%), e números menores para outros marcadores (Figura 4A). Nos estudos com vegetais, o marcador mais prevalente foi *rbcl*, usado em três dos cinco estudos (60%) (Figura 4B).



**Figura 4.** Marcadores genéticos utilizados nos estudos forenses sobre DNA barcoding no Brasil. A) Marcadores utilizados em estudos com animais (%) (n = 37 artigos). B) Marcadores utilizados em estudos com vegetais (%) (n = 5 artigos).

Em relação aos locais onde os estudos (DNA barcoding) foram conduzidos, as maiores frequências observadas foram oito artigos (19,0%) desenvolvidos no Distrito Federal e Pará. Também tiveram destaque os estados do Rio de Janeiro, com 7 artigos (16,7%) e Minas Gerais e São Paulo, cada um com 4 artigos (9,5%) (Figura 5).

Além disso, no caso das unidades federativas com maior destaque citadas anteriormente, foi observada, de modo geral, uma diversificação dos tipos de casos e de grupos taxonômicos analisados, exceto o Estado do Pará, para o qual foi observado que os oito artigos relacionados a esse Estado (100%) trataram de fraude alimentar e da análise de peixes. Também se destacou o fato do Estado do Rio de Janeiro ter incluído os dois únicos artigos relacionados a estudos de identificação e determinação da origem de entorpecentes (28,6%). Vale destacar ainda que todos os quatro artigos relacionados ao DNA barcoding vegetal foram realizados nesse grupo de unidades federativas que se destacaram.



**Figura 5.** Local onde os estudos (*DNA barcoding*) foram conduzidos (%) (n = 42 artigos).

#### 4. Discussão

De modo geral, foi verificada uma tendência de oscilações entre crescimento e queda na produção científica de estudos forenses relacionados ao DNA barcoding no Brasil, entre os anos de 2008 e 2020. A baixa produção de estudos dessa natureza verificada nos últimos dois anos da série analisada (2021-2022) pode estar relacionada aos impactos da pandemia de COVID nas pesquisas realizadas no país. Esses estudos, em sua maioria, trataram da identificação de animais, ou suas partes, em diferentes contextos, incluindo fraude alimentar, caça ou pesca ilegal, acidentes aeronáuticos e entomologia forense. Além disso, essa produção científica usou, de forma majoritária, abordagem baseada no *barcode* do gene COI, utilizando pares de *primers* já utilizados em estudos anteriores com sucesso.

A predominância de estudos conduzidos no Distrito Federal poderia ser explicada pelo pioneirismo do Instituto Nacional de Criminalística, da Polícia Federal, no desenvolvimento de pesquisas aplicadas relacionadas ao DNA barcoding, sendo que essa técnica já está consolidada na rotina de exames do laboratório de genética forense dessa instituição. Já o destaque observado para o Pará poderia ser explicado pelo número significativo de estudos de fraude alimentar de pescados realizados nesse estado. Nesse sentido, com base em um estudo que analisou dados de boletins de ocorrência da polícia militar ambiental<sup>44</sup>, foram constatados números expressivos de apreensões de pesca ilegal para os estados da amazônia legal, bem como problemas importantes em relação à identificação de espécies de peixes, que, em geral, ou não era realizada, ou era feita somente com o uso de

nomes populares. Portanto, essa demanda importante na região amazônica poderia explicar a o número de estudos de DNA barcoding no Pará.

Foi observada uma miríade de métodos de extração de DNA, para animais e vegetais e, embora alguns tenham se mostrado mais frequentemente usados, não parece haver uma prevalência entre eles. Além disso, os métodos se apresentaram, em geral, adaptados para os diferentes materiais biológicos. Como exemplos, para a extração de DNA em materiais de origem vegetal (folhas), um estudo utilizou um Kit comercial de extração, empregando uma estação de trabalho robótica automática<sup>45</sup>, enquanto, para madeiras, outro estudo<sup>46</sup> testou um método semiautomático de extração associado à tecnologia magnética para isolamento do DNA, utilizando uma série de adaptações para esse tipo de material.

Dos 42 estudos forenses sobre DNA barcoding realizados no Brasil que foram levantados, a grande maioria tratava de fraude alimentar, sendo quase todos envolvendo a identificação de peixes. A fraude alimentar é considerada a adulteração intencional para mascarar as condições do produto, ou ocultar requisitos que ele não atende, como características nutricionais e preço<sup>47</sup>. No caso dos pescados, o sabor, valor e até mesmo o risco de extinção não são os mesmos para todas as espécies, constituindo, em muitos casos, as motivações para as fraudes na rotulagem desses alimentos<sup>47</sup>. Uma forma comum de processamento de pescados é a filetagem. Esse processo resulta na remoção de muitas estruturas morfológicas, dificultando o reconhecimento das espécies e permitindo substituições acidentais ou intencionais e rotulagem incorreta de produtos comercializados<sup>15,17,20</sup>. Mais do que prejuízos econômicos para consumidores e pescadores não envolvidos na fraude, tais substituições podem representar um risco potencial à segurança alimentar e à saúde humana<sup>48</sup> e têm implicações ecológicas, podendo afetar o estado de conservação de espécies ameaçadas e vulneráveis<sup>10</sup>.

Além de possibilitar a identificação de pescados processados, a identificação molecular também se presta a identificar muitas espécies de peixes em seus diferentes estágios do ciclo de vida, incluindo ovos, alevinos e adultos<sup>11</sup>. De uso ainda restrito no Brasil, o DNA barcoding parece estar se tornando mais popular, inclusive com a sua adoção por órgãos de fiscalização oficiais. Para facilitar a regulação do mercado de pescados no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº 29, de 23 de setembro de 2015<sup>49</sup>, estabelecendo a técnica, com o uso de segmento de

650 pb do gene COI, como um método padronizado, integrante de um programa nacional de regulamentação sistemática e rotineira de produtos do mar processados.

Os trabalhos mais relevantes sobre a identificação de pescados por DNA barcoding no Brasil abordaram a autenticação de produtos relacionados a diferentes espécies pesqueiras, tendo sido encontradas, em geral, altas taxas de substituição de espécies de maior valor comercial por outras espécies menos valorizadas, o que caracteriza fraude econômica. Entre essas espécies, estavam a “dourada” (*Brachyplatystoma rousseauxii*; 26% de substituição) e a “piramutaba” (*Brachyplatystoma vaillantii*; 9% de substituição)<sup>20</sup>. No caso da “pescada-amarela” (*Cynoscion acoupa*) foi observado 45,4% de substituição (tendo ainda sido desenvolvido um ensaio de PCR multiplex para identificar essa espécie)<sup>21</sup>. Para surubim ou pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* e *Pseudoplatystoma reticulatum*) foi constatado 80% de substituição, incluindo espécies marinhas como substitutas<sup>11</sup>. No caso de bacalhau, foi verificado 70% de substituição, incluindo espécies distintas das indicadas nos rótulos<sup>23</sup> e, para linguado (*Syacium sp.* e *Paralichthys sp.*), 50% das amostras analisadas apresentavam rótulos incorretos<sup>26</sup>.

Alguns estudos relacionados a fraudes econômicas avaliaram amostras de pescados oriundos de peixarias e restaurantes<sup>16</sup>, outros, além desses locais, de feiras livres e supermercados<sup>21,22,26</sup> e de portos comerciais<sup>14</sup>. Como resultados, Staffen *et al.* (2017) relataram 30% de erros de rotulagem em peixarias e 26% em restaurantes, valores semelhantes aos encontrados em outro estudo que reportou 38% de erros em peixarias e 22% em supermercados, porém detectando erros mais altos em feiras livres (61%) e restaurantes (82%)<sup>26</sup>. Além da fraude econômica, também foram identificados crimes ambientais, como a venda ilegal de espécies ameaçadas de extinção, a partir de erros de rotulagem. Exemplos disso foram as vendas de tubarão-martelo-recortado (*Sphyrna lewini*) rotulado como cação, garoupa-do-crepúsculo (*Epinephelus marginatus*) rotulada como garoupa<sup>12</sup>, e de peixe-serra de dentes (*Pristis perotteti*) rotulado como cação<sup>14</sup>.

Embora a maioria absoluta dos estudos relacionados à rotulagem incorreta de itens alimentares tenha tido foco na análise de pescados, um desses trabalhos analisou hambúrgueres bovinos vendidos em supermercados brasileiros<sup>24</sup>. Com o uso do DNA barcoding o autor não constatou a existência de fraudes nos produtos analisados.

A pesca ilegal tem resultado na superexploração de diversos recursos

pesqueiros no Brasil, tendo grande relevância para as políticas de conservação, de modo que o gerenciamento das atividades pesqueiras é essencial para evitar o colapso desses recursos<sup>50</sup>. No caso de ocorrências envolvendo pesca ilegal, realizadas por órgãos ambientais e de segurança pública, a correta identificação de espécimes apreendidos é muito importante, porém ainda é realizada de forma precária no Brasil. Dessa forma, é importante que sejam estabelecidos protocolos simplificados, como técnicas de biologia molecular, que permitam a correta identificação dos peixes apreendidos, a fim de fortalecer as ações de fiscalização e a prova técnica, no meio jurídico<sup>51</sup>.

A segunda utilização mais frequente entre os estudos de DNA barcoding selecionados esteve relacionada com os crimes contra a fauna. A caça ilegal é uma das maiores ameaças às populações de vertebrados em regiões tropicais<sup>29</sup>. Os animais caçados se tornam alimentos, rações, roupas, ferramentas e ainda são utilizados para fins médicos, culturais e religiosos<sup>52</sup>. Essa atividade, aliada ao comércio ilegal de espécies silvestres, nas florestas nativas brasileiras, caracterizados como ecossistemas fragmentados e antropizados, têm resultado em níveis de exploração da fauna silvestre insustentáveis, levando à extinção local de várias populações<sup>53</sup>. Essas atividades ilegais são, em geral, estimuladas pela crença na impunidade e nas altas taxas de lucro alcançadas<sup>54</sup>. Assim, é de suma importância ações eficazes para o combate a esses crimes.

As aves estão entre os alvos preferidos dos caçadores e comerciantes para uso no comércio de animais de estimação. Assim, o combate ao comércio ilegal de espécies silvestres, em níveis nacional e internacional, é essencial para a proteção da avifauna brasileira. Mamíferos também são alvos comuns da caça e comércio ilegal no Brasil, geralmente para o consumo de sua carne. Para grupos específicos, como os felinos, que inclui a onça-parda, a onça-pintada e a jaguatirica, o interesse dos caçadores pode estar na pele desses animais, que possui alto valor comercial<sup>55</sup>. Há ainda o uso de subprodutos de animais em medicamentos tradicionais com valor comercial<sup>56</sup>. Esses dados poderiam explicar o grande número de artigos que trata da identificação de aves e mamíferos na área forense.

A identificação de espécies está entre as análises forenses mais solicitadas envolvendo crimes contra a fauna, sendo essencial em apreensões de carne de caça, comércio não regulamentado de espécies protegidas ou de seus produtos e subprodutos, além de situações em que há introdução desautorizada de espécies

exóticas no país<sup>34</sup>. Nesses casos, as evidências disponíveis para o trabalho de identificação costumam ser pedaços de carne, pele, sangue, ou ossos, inviabilizando ou tornando extremamente difícil a identificação morfológica<sup>30,57</sup>.

O marcador genético COI tem sido comumente utilizado em outros países para identificar carcaças de animais domésticos e silvestres<sup>57</sup>. Desde a proposição do projeto DNA Barcoding, estudos demonstraram que as sequências do gene COI são eficazes para discriminar muitas espécies de vertebrados, especialmente aves e mamíferos<sup>1</sup>. De fato, a maior parte dos estudos avaliados para identificação de fauna e pescados no Brasil utilizou esse *barcode*.

Os estudos selecionados mostraram que o DNA barcoding foi utilizado em situações que envolviam animais da fauna silvestre brasileira, como anta (*Tapirus terrestris*)<sup>30</sup>, aves, principalmente da família *Psittacidae*<sup>31,32</sup>, aves e mamíferos<sup>29</sup>, tubarões<sup>36,39</sup>, além de espécimes domésticos<sup>33</sup>. A técnica foi utilizada também para identificar produtos e subprodutos do golfinho do rio Amazonas, ou boto (*Inia geoffrensis*), espécie considerada em perigo de extinção<sup>58</sup>. Análise de amostras de olhos de boto, oriundos de mercados de algumas capitais da região Norte do país<sup>28</sup>, usando o marcador CytB, mostrou que amuletos, quando de golfinhos, foram da espécie marinha *S. guianensis*, considerada vulnerável<sup>58</sup>; entretanto, em muitos casos as amostras eram olhos de porco ou ovelha.

Outro estudo utilizou CytB para identificar ovos apreendidos pela Polícia Federal em um aeroporto, em um caso típico de tráfico internacional de animais silvestres<sup>31</sup>. Os resultados obtidos em ovos e juvenis recuperados mostraram que a maior parte das espécies identificadas pertencia à família *Psittacidae*. Isso corroborou a informação de que membros dessa família são alvos importantes para o comércio ilegal de aves silvestres no país.

De modo geral, os estudos forenses com o uso de *DNA barcoding* aplicados à caça ilegal no Brasil indicaram a utilidade dessa técnica para esse fim. A identificação genética de espécies utilizada em estudos investigativos foi adequada para diagnosticar as espécies mortas e solucionar as investigações criminais, sendo, inclusive, úteis como provas em processos criminais<sup>9-30</sup>.

Quanto às produções científicas nacionais relacionadas à pesca e ao comércio ilegais, foram realizadas análises por DNA barcoding em táxons específicos de peixes<sup>40</sup>, arraias<sup>43</sup> e tubarões<sup>36,39</sup>. A técnica também foi usada para identificar espécies de determinados grupos ou comunidades, como peixes

ornamentais relacionados ao comércio ilegal, inclusive com a identificação de uma nova espécie<sup>37</sup>, para identificar *Actinopterygii* do litoral nordestino do Brasil<sup>38</sup> e comunidade de peixes recifais<sup>42</sup>.

Em um desses estudos relacionados à pesca ilegal<sup>36</sup>, o DNA barcoding foi utilizado para identificar espécies relacionadas a barbatanas de tubarões apreendidas, o que se mostrou uma ferramenta útil no combate ao comércio ilegal desses produtos. Outro estudo relacionado à pesca ilegal utilizou marcadores genéticos para identificação de espécies do gênero *Prochilodus*, conhecidos como “curimba”, comumente alvos desse crime<sup>40</sup>. Em outro estudo<sup>40</sup>, o DNA barcoding foi usado para rastrear o comércio ilegal de três espécies de tubarões pertencentes ao gênero *Squatina*, conhecidos como tubarões-anjo, vendidas como se fossem “cação”. Essas três espécies são consideradas como ameaçadas de extinção na Lista Vermelha da IUCN e atualmente são protegidas pela legislação brasileira<sup>58</sup>.

Alguns estudos têm procurado também ampliar a representação de sequências genéticas da ictiofauna brasileira nos bancos públicos para aplicações forenses. Um desses estudos forneceu a primeira biblioteca de DNA barcoding baseada em COI para *Actinopterygii* do litoral da região nordeste, com 78 táxons, incluindo espécies crípticas<sup>38</sup>. Com um propósito semelhante, em outro estudo<sup>42</sup>, foi realizada a identificação por DNA barcoding de uma comunidade de peixes recifais da Baía de Todos os Santos, na Bahia, a fim de construir um banco de dados de referência para identificação molecular dessas espécies.

Outra questão importante é o fato de que alguns grupos taxonômicos, como determinados gêneros de peixes, ainda não foram devidamente identificados em nível de espécie, devido à pouca variação interespecífica em sequências de COI, ou aos altos níveis de variação intraespecífica associados a esse marcador<sup>40</sup>. Para esses casos, outros genes podem ser usados como *barcodes*, já tendo sido apontados alguns com potencial para esse fim, mas ainda pouco explorados<sup>59</sup>. Diante disso, no estudo citado anteriormente, foram projetados e validados novos *barcodes*, a partir da região da região do D-loop do genoma mitocondrial<sup>40</sup>. As sequências obtidas dessa região foram comparadas com as obtidas no GenBank<sup>60</sup> e os resultados demonstraram alta resolução em nível de espécie para o gênero analisado por esses autores.

Um dos estudos forenses nacionais sobre DNA barcoding levantados tinha foco em investigação de acidentes aeronáuticos<sup>61</sup>. Acidentes dessa natureza

envolvendo animais, normalmente aves, podem resultar na perda de vidas e prejuízos econômicos relevantes. De modo geral, nesses acidentes são encontrados apenas vestígios dos animais envolvidos, como sangue, penas e partes de tecidos biológicos. Isso faz com que, quase sempre, não seja possível fazer a identificação morfológica das espécies envolvidas. Para esses casos, a aplicação do DNA barcoding pode ser muito útil, uma vez que, após identificadas as espécies envolvidas, podem ser desenvolvidas ações para prevenir outros acidentes dessa natureza, melhorando a segurança dos voos<sup>61</sup>. Utilizando COI como marcador, esses autores analisaram amostras biológicas de aves (penas, plumas e tecidos biológicos) envolvidas em 97 eventos de colisões com aeronaves, sendo possível identificação da espécie ou gênero em 91,7% dos casos.

A determinação do intervalo *post mortem*, por meio do relacionamento dos estágios de decomposição dos cadáveres com a análise de diferentes estágios da entomofauna cadavérica é uma das aplicações mais importantes da entomologia forense, sendo que a identificação precisa de espécimes de insetos é geralmente um passo crucial<sup>62-63</sup>. Das 42 produções científicas relacionadas a DNA barcoding levantadas, somente duas delas tinham foco na entomologia forense<sup>63-64</sup>. Em um desses estudos, foi investigado o potencial de COI para discriminar espécies de *Oxysarcodexia*, importância médica, veterinária e forense, em comparação com os critérios de identificação morfológica<sup>64</sup>. A resolução de COI em nível de espécie foi bem-sucedida para esse grupo, podendo ser útil para o processamento de vestígios entomológicos coletados em locais de crimes contra a vida no Brasil. Em outro estudo, um fragmento COI foi usado para identificar espécies de Diptera de importância forense no estado do Espírito Santo<sup>63</sup>. Foi possível identificar apenas 35,7% das amostras analisadas por DNA, provavelmente devido à falta de amostras depositadas em bancos de dados. Portanto, mais esforços devem ser feitos para depositar uma maior variedade de dípteros em bancos de dados para permitir o uso desta técnica na rotina forense.

O DNA barcoding vegetal vem sendo usado com frequência regular no exterior, para diversos fins na área forense, principalmente em casos de suspeita de fraudes em medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais<sup>65</sup>, bem como em crimes ambientais<sup>66</sup>. No Brasil, porém, as aplicações na área forense do DNA barcoding vegetal ainda são restritas e, de modo geral, recentes, estando representadas por apenas cinco trabalhos dentro daqueles levantados neste estudo.

A identificação genética de espécies vegetais no Laboratório de Genética Forense da Polícia Federal do Brasil teve início no ano de 2012<sup>45</sup>. Associados a esses trabalhos realizados pela Polícia Federal, foram identificados dois estudos de DNA barcoding vegetal<sup>45-46</sup>. Os autores desses estudos relataram que um dos problemas principais continua sendo a escassez de informações sobre sequências genéticas de espécies vegetais nos bancos de dados. Além disso, se faz necessária a adaptação de métodos de extração de DNA para os diferentes tecidos vegetais<sup>46</sup>. Isso ocorre porque essa extração é significativamente mais difícil em materiais lenhosos do que em tecidos como folhas e flores.

Quanto às finalidades do DNA barcoding vegetal, entre as aplicações forenses dessa abordagem está a identificação de produtos e subprodutos de origem vegetal oriundos de crimes contra a flora, nos casos em que a identificação baseada em caracteres morfológicos é bem difícil ou mesmo quase impossível. Isso decorre da vasta plasticidade fenotípica dos táxons, ao alto grau de processamento desses materiais e ao elevado nível de especialização exigido na identificação morfológica de espécies vegetais<sup>67</sup>.

Os medicamentos fitoterápicos são compostos por produtos industrializados oriundos de espécies de plantas medicinais, sendo também um assunto das ciências forenses. Isso decorre do fato de que, além de se caracterizar como uma fraude nas relações de consumo, o emprego de vegetais de espécies incorretas nessas formulações é uma ameaça à segurança dos consumidores, podendo chegar a causar fatalidades<sup>68</sup>. Erros de identificação e substituições são uma realidade nesse campo e já foram confirmados, inclusive, no Brasil, de acordo com um estudo de 2014<sup>69</sup>. Além disso, ainda segundo os autores desse estudo, a colheita excessiva de determinadas plantas medicinais em áreas naturais para fins comerciais representa uma ameaça à biodiversidade.

Em um dos estudos selecionados, foram analisadas amostras de folhas secas, flores e raízes de 257 amostras de 8 espécies distintas, aprovadas pela OMS para a produção de ervas medicinais, adquiridas no Mercado Central de Belo Horizonte, MG<sup>70</sup>. A técnica DNA barcoding, usando as regiões *matK*, *rbcL* e *ITS2*, revelou 71% de rotulagens incorretas, com substituições por outras espécies, gêneros ou famílias de plantas.

A necessidade de identificação de espécies de plantas de uso proibido é outra demanda na área forense. No Brasil, a abordagem tradicional para a identificação

dessas plantas, como *Cannabis sativa*, consiste na análise morfológica e química dos vegetais. Todavia, a maior parte dos materiais apreendidos está degradada, dificultando essas análises. Somado a isso, a idade, o tamanho da planta e as condições ambientais do local de cultivo dessas plantas podem afetar a quantidade de canabinóides, o que, em tese, pode resultar em resultados enganosos<sup>71</sup>. Diante disso, técnicas genéticas, como o DNA barcoding, também podem ser usadas para a identificação desses materiais<sup>72</sup>.

Nesse sentido, plantas vivas e vegetais secos são frequentemente apreendidos ante a suspeita de conterem drogas ilícitas ou produtos químicos controlados. As análises químicas, muitas vezes, podem detectar essas substâncias, porém não costumam ser eficazes nos casos de produtos altamente processados e materiais em quantidades muito pequenas. Além disso, esses métodos podem identificar determinadas substâncias associadas a um determinado grupo de plantas, mas não identifica a espécie. Para esses casos, a associação dos métodos químicos com o DNA barcoding parece ser uma abordagem promissora<sup>45</sup>.

Dois estudos empregaram um segmento do gene *rbcL* como ferramenta de identificação e como assinatura genética de amostras de *C. sativa* apreendidas no Rio de Janeiro/RJ<sup>72-73</sup>. As sequências obtidas foram comparadas com outras sequências obtidas do GenBank e os resultados mostraram que esse *barcode* foi eficiente na identificação de 100% das amostras de *C. sativa* e na discriminação genética das amostras apreendidas. Além disso, esses autores relataram a ocorrência de polimorfismos encontrados no gene *rbcL*, entre as amostras do Rio de Janeiro, Estados Unidos, Reino Unido e China. Esses polimorfismos poderiam ser usados como uma assinatura genética, sendo útil na caracterização de rotas de tráfico de drogas em investigações policiais dessa natureza.

## 5. Considerações finais

Os constantes avanços tecnológicos no campo da biologia molecular têm propiciado o aperfeiçoamento gradual da identificação genética de espécies, incluindo o progresso da técnica DNA barcoding. Em geral, foi observado que essa técnica se caracteriza como um método prático, de custo relativamente baixo e que não exige especialistas em taxonomia para os diversos grupos de organismos. Essas características conferem ao DNA barcoding um elevado potencial para mitigar os

problemas relacionados à identificação morfológica de espécies nos órgãos de perícia oficial do Brasil.

De modo geral, a produção científica relacionada à condução de estudos forenses relacionados ao DNA barcoding no Brasil caracteriza-se por uma tendência crescente de desenvolvimento de pesquisas nessa área. A maior parte dessa produção teve foco na identificação de animais, seus produtos e subprodutos em situações envolvendo fraudes alimentares, caça ou pesca ilegal. Para esse escopo principal, foi observado majoritariamente o emprego o uso de COI como marcador. Foi observado o destaque do Distrito Federal, Pará e dos estados da região sudeste do país em relação a essa produção científica.

O detalhamento de vários estudos mostra que, apesar de ainda haver espaço para um uso mais difundido do DNA barcoding, instituições policiais e de fiscalização brasileiras já se beneficiam dessa técnica. Nota-se também que a ciência brasileira procura dar respostas aos problemas locais, adaptando protocolos e técnicas. Dentre as aplicações do DNA barcoding, podem ser mencionadas o auxílio à investigações sobre fraudes alimentares e medicamentosas; caça, pesca e comércio ilegal de espécies da fauna e da flora silvestres; casos envolvendo espécies consideradas em risco de extinção ou protegidas; identificação de espécies para caracterização de fitofisionomias e biomas; identificação da fonte de tecidos e fluidos biológicos encontrados em locais de crime de maus tratos a animais ou de carcaças associadas a mortes suspeitas; auxílio em trabalhos de entomologia forense; e na avaliação de acidentes aeronáuticos, entre outras situações.

Por fim, ressalta-se que mesmo quando o DNA barcoding não propicia a identificação até o nível de espécie, como relatado por diversos autores, podem ser obtidos dados como a família ou gênero do espécime. Em muitos casos, a indicação de níveis taxonômicos superiores pode ser suficiente para caracterizar o crime ambiental ou a fraude alimentar. Isso se dá pelo fato de que instrumentos jurídicos apontam, em muitos casos, por exemplo, gêneros inteiros de organismos em alguns status relacionados ao risco de extinção<sup>58</sup>, ou gêneros inteiros de peixes que podem receber uma mesma denominação vernacular<sup>49</sup>. Outra possibilidade é que as sequências obtidas sirvam apenas para descartar a presença de determinadas espécies, o que poderia confirmar ou descartar a possibilidade de cometimento de algum crime.

## Referências

1. Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 2003;270(1512):313-21. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
2. DeSalle R, Goldstein P. Review and interpretation of trends in DNA barcoding. *Front Ecol Evol.* 2019;7:302. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00302>
3. Linacre A. Animal forensic genetics. *Genes.* 2021;12(4):515. <https://doi.org/10.3390/genes12040515>
4. Linacre A, Tobe SS. *Wildlife DNA analysis: applications in forensic science.* Chichester: John Wiley & Sons; 2013. <https://doi.org/10.1002/9781118496411>
5. Dawnay N, Ogden R, McEwing R, Carvalho GR, Thorpe RS. Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification. *Forensic Sci Int.* 2007;173(1):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.09.013>
6. Handy SM, Deeds JR, Ivanova NV, Hebert PDN, Hanner RH, Ormos A, et al. A single-laboratory validated method for the generation of DNA barcodes for the identification of fish for regulatory compliance. *J AOAC Int.* 2011;94(1):201-10. <https://doi.org/10.1093/jaoac/94.1.201>
7. Wilson-Wilde L, Norman J, Robertson J, Sarre S, Georges A. Current issues in species identification for forensic science and the validity of using the cytochrome oxidase I (COI) gene. *Forensic Sci Med Pathol.* 2010;6(3):233-41. <https://doi.org/10.1007/s12024-010-9172-y>
8. Johnson RN, Wilson-Wilde L, Linacre A. Current and future directions of DNA in wildlife forensic science. *Forensic Sci Int Genet.* 2014;10:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.12.007>
9. Vincent S, Vian JM, Carlotti MP. Partial sequencing of the cytochrome oxidase-b subunit gene. I. A tool for the identification of European species of blow flies for postmortem interval estimation. *J Forensic Sci.* 2000;45(4):820-3. <https://doi.org/10.1520/JFS14777J>
10. Ardura A, Linde AR, Moreira JC, Garcia-Vazquez E. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biol Conserv.* 2010;143(6):1438-43. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.03.019>
11. Carvalho DC, Neto DA, Brasil BS, Oliveira DA. DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. *Mitochondrial DNA.* 2011;22(S1):97-105. <https://doi.org/10.3109/19401736.2011.588219>
12. Carvalho DC, Palhares RM, Drummond MG, Frigo TB. DNA barcoding identification of commercialized seafood in south Brazil: a governmental regulatory forensic program. *Food Control.* 2015;50:784-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.025>

13. Carvalho DC, Guedes D, Trindade MG, Coelho RM, Araújo PH. Nationwide Brazilian governmental forensic programme reveals seafood mislabelling trends and rates using DNA barcoding. *Fish Res.* 2017;191:30-5. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.02.021>
14. Palmeira CA, da Silva RF, de Luna SJ, Vallinoto M, Schneider H, Sampaio I. Commercialization of a critically endangered species (largetooth sawfish, *Pristis perotteti*) in fish markets of northern Brazil: authenticity by DNA analysis. *Food Control.* 2013;34(1):249-52. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.017>
15. de Brito MA, Schneider H, Sampaio I, Santos S. DNA barcoding reveals high substitution rate and mislabeling in croaker fillets (*Sciaenidae*) marketed in Brazil: the case of pescada branca (*Cynoscion leiarchus* and *Plagioscion squamosissimus*). *Food Res Int.* 2015;70:40-46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.031>
16. Staffen CF, Staffen MD, Becker ML, Löfgren SE, Muniz YC, de Freitas RH, et al. DNA barcoding reveals the mislabeling of fish in a popular tourist destination in Brazil. *PeerJ.* 2017;5:e4006. <https://doi.org/10.7717/peerj.4006>
17. Veneza I, Silva R, Freitas L, Silva S, Martins K, Sampaio I, et al. Molecular authentication of pargo fillets *Lutjanus purpureus* (Perciformes: Lutjanidae) by DNA barcoding reveals commercial fraud. *Neotrop Ichthyol.* 2018;16(1):e170068. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170068>
18. Veneza I, da Silva R, Sampaio I, Schneider S, Gomes G. Molecular protocol for authentication of snappers (Lutjanidae - Perciformes) based on multiplex PCR. *Food Chem.* 2017;232:36-42. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.007>
19. Gomes G, Correa R, Veneza I, Silva R, Silva D, Miranda J, et al. Forensic analysis reveals fraud in fillets from the "Gurijuba" *Sciades parkeri* (Ariidae - Siluriformes): a vulnerable fish in Brazilian coastal Amazon. *Mitochondrial DNA Part A.* 2019;30(5):721-9. <https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1622694>
20. De Carvalho SC, Sampaio I, Santos S. DNA barcoding reveals mislabeling and commercial fraud in the marketing of fillets of the genus *Brachyplatystoma* Bleeker, 1862, the Amazonian freshwater catfishes economically important in Brazil. *Heliyon.* 2020;6(7):e04888. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04888>
21. Barbosa AJ, Sampaio I, Da Silva EM, Alcantara JVL, Santos S. Molecular authentication by DNA barcoding and multiplex PCR assay reveals mislabeling and commercial fraud of the Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*), an economically important sciaenid marketed in Brazil. *Food Control.* 2020;117:107351. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107351>
22. Barbosa AJ, Sampaio I, Santos S. Re-visiting the occurrence of mislabeling in frozen "pescada-branca" (*Cynoscion leiarchus* and *Plagioscion squamosissimus* - *Sciaenidae*)

- sold in Brazil using DNA barcoding and octaplex PCR assay. *Food Res Int.* 2021;143:110308. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110308>
23. Calegari BB, Avila EF, Reis RE, Alho CS. DNA barcode authentication reveals highly fraudulent cod commerce in Porto Alegre, Brazil. *Forensic Sci Int Rep.* 2020;2:100072. <https://doi.org/10.1016/j.fsir.2020.100072>
24. Carvalho CBV. Análise genética de hambúrgueres bovinos vendidos no mercado brasileiro. *Perícia Federal.* 2021;47:63-8. <https://doi.org/10.29327/266815.1.47-2>
25. Rodrigues Jr CE, De Carvalho DEV, Garcia Y, Hashimoto DT, Forest F, Porto-Foresti F. DNA Barcode as an effective tool in the identification of billfishes (Scombroidei, Teleostei) from exported specimens. *Forensic Sci Int Anim Environ.* 2021;1:100028. <https://doi.org/10.1016/j.fsiae.2021.100028>
26. Souza DS, Clemente WR, Henning F, Solé-Cava AM. From fish-markets to restaurants: Substitution prevalence along the flatfish commercialization chain in Brazil. *Fish Res.* 2021;243:106095. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2021.106095>
27. Nascimento BM, De Paula TS, Brito PM. DNA barcode of tilapia fish fillet from the Brazilian market and a standardized COI haplotyping for molecular identification of *Oreochromis* spp. (Actinopterygii, Cichlidae). *Forensic Sci Int Anim Environ.* 2023;3:100059. <https://doi.org/10.1016/j.fsiae.2022.100059>
28. Gravena W, Hrbek T, Silva VMF, Farias IP. Amazon River dolphin love fetishes: from folklore to molecular forensics. *Mar Mamm Sci.* 2008;24(4):969-78. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2008.00237.x>
29. Sanches A, Tokumoto PM, Peres WAM, Nunes FL, Gotardi MST, Carvalho CS. Illegal hunting cases detected with molecular forensics in Brazil. *Investig Genet.* 2012;3(1):1-5. <https://doi.org/10.1186/2041-2223-3-17>
30. Sanches A, Perez WAM, Figueiredo MG, Rossini BC, Cervini M, Galetti Jr PM, et al. Wildlife forensic DNA and lowland tapir (*Tapirus terrestris*) poaching. *Conserv Genet Resour.* 2011;3(1):189-93. <https://doi.org/10.1007/s12686-010-9318-y>
31. Carvalho CBV. Identificação genética de aves vítimas do tráfico de animais silvestres. *Atual Ornitol.* 2012;165:40-4.
32. Carvalho CBV. The use of DNA barcoding to identify feathers from illegally traded birds. *Braz J Forensic Sci.* 2013;4(2):327-32. [https://doi.org/10.17063/bjfs2\(4\)y2013327](https://doi.org/10.17063/bjfs2(4)y2013327)
33. Carvalho CBV. DNA barcoding in forensic vertebrate species identification. *Braz J Forensic Sci.* 2014;1(1):12-23. [https://doi.org/10.17063/bjfs4\(1\)y201412](https://doi.org/10.17063/bjfs4(1)y201412)
34. Loiola S, Carvalho RS, Bergalloc HG, Wekslerd M, Carvalho EF, Silva DA. Barcode analysis using mini-amplicons strategy for museum samples of neotropical primates *Callithrix* spp. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;5:e225-7. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2015.09.090>

35. Carmo RR, Garcez ARS, Vasconcelos KR, Diniz Pereira Leite Jr DP, Dantas ESOD, Silva FGS, et al. Identification of wild animal species through mitochondrial sequences used in combating crimes against fauna - Mato Grosso - Brazil. *Braz J Forensic Sci.* 2017;6(3):378-404. [https://doi.org/10.17063/bjfs6\(3\)y2017378](https://doi.org/10.17063/bjfs6(3)y2017378)
36. Carvalho CBV, Freitas JM. The use of DNA barcoding to identify illegally traded shark fins in Brazil. *Saúde, Ética & Justiça.* 2013;18(2):46-50. <https://doi.org/10.11606/issn.2317-2770.v18ispep50-54>
37. Amaral CRL, Brito PM, Silva DA, Carvalho EF. Border biosecurity and the use of species identification techniques in the ornamental fish trade: The case of the South American freshwater pufferfishes. *Forensic Sci Int Genet.* 2013;4(1):e236-7. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2013.10.121>
38. Brandão JHSG, Bitencourt JA, Santos FB, Watanabe LA, Schneider H, Sampaio I, et al. DNA barcoding of coastal ichthyofauna from Bahia, northeastern Brazil, South Atlantic: High efficiency for systematics and identification of cryptic diversity. *Biochem Syst Ecol.* 2016;65:214-24. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.02.012>
39. Bunholi IV, Ferrette BLS, De Biasi JB, Magalhães CO, Rotundo MM, Oliveira C, et al. The fishing and illegal trade of the angelshark: DNA barcoding against misleading identifications. *Fish Res.* 2018;206:193-7. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2018.05.018>
40. Chagas ATA, Ludwig S, Pimentel JSM, Abreu NL, Nunez-Rodriguez DL, Leal HG, et al. Use of complete mitochondrial genome sequences to identify barcoding markers for groups with low genetic distance. *Mitochondrial DNA Part A.* 2020;31(1):1-10. <https://doi.org/10.1080/24701394.2020.1748609>
41. Damasceno JS, Siccha-Ramirez R, Oliveira C, Mendonça FF, Lima AC, Machado L, Tosta V, et al. Molecular identification of Atlantic goliath grouper *Epinephelus itajara* (Lichtenstein, 1822) (Perciformes: Epinephelidae) and related commercial species applying multiplex PCR. *Neotrop Ichthyol.* 2016;14(3):e150128. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20150128>
42. Duarte LAG, Oliveira EJJ, Amorim A, Silva DA, Carvalho EF, Mazzoni R, et al. DNA Barcoding and Atlantic reef fishes: The molecular identification of a reef fish community from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2017;6:284-5. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.140>
43. Rodrigues Filho LFS, Feitosa LM, Nunes JL, Palmeira ARO, Martins APB, Giarrizzo T, et al. Molecular identification of ray species traded along the Brazilian Amazon coast. *Fish Res.* 2020;223:105407. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2019.105407>
44. Chagas ATA, Da Costa MA, Martins APV, Resende LC, Kalapothakis E. Illegal hunting and fishing in Brazil: a study based on data provided by environmental military police. *Nat Conserv.* 2015;13:183-9. <https://doi.org/10.1016/j.ncon.2015.11.002>

45. Paranaíba RTF, Carvalho CBV, Freitas JM, Fassio LH, Botelho ED, Neves DBJ, et al. Forensic botany and forensic chemistry working together: application of plant DNA barcoding as a complement to forensic chemistry—a case study in Brazil. *Genome*. 2019;62(1):11-8. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0066>
46. Paranaíba RTF, Carvalho CBV, Paiva RS, Trindade BR, Barros MG, Souza EP, et al. DNA from wood—a simple approach facing a challenging matrix—a preliminary study. *Forensic Sci Int*. 2020;314:110371. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110371>
47. Spink J, Moyer DC. Defining the public health threat of food fraud. *J Food Sci*. 2011;76(9):R157-63. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02417.x>
48. Cohen NJ, Deeds JR, Wong ES, Hanner RH, Yancy HF, White KD, et al. Public health response to puffer fish (tetrodotoxin) poisoning from mislabeled product. *J Food Prot*. 2009;72(4):810-7. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.4.810>
49. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 29, de 23 de setembro de 2015. *Diário Oficial da União*; 2015.
50. Torres RA, Feitosa RBF, Cardoso-Carvalho D, et al. DNA barcoding approaches for fishing authentication of exploited grouper species including the endangered and legally protected goliath grouper *Epinephelus itajara*. *Sci Mar*. 2013;77(3):409-17. <https://doi.org/10.3989/scimar.03805.29A>
51. Chagas ATA. Caracterização de marcadores moleculares com aplicabilidade para identificação de duas espécies de peixe com interesse forense: *Prochilodus argenteus* e *Prochilodus costatus*. *Rev Crim Med Legal*. 2016;1:48-9.
52. Alves RRN. Relações entre a fauna e as pessoas e o papel da etnozootologia na conservação animal. *Etnobiol Conserv*. 2012;1:1-69.
53. Galetti M, Giacomini H, Bueno R, Marques RM, Bernardo CSS, Bovendorp R, et al. Priority areas for the conservation of Atlantic Forest large mammals. *Biol Conserv*. 2009;142(6):1229-41. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.01.023>
54. RENCTAS. 1º Relatório Nacional sobre o Tráfico de Fauna Silvestre. Relatório Técnico. Brasília: RENCTAS; 2001. Disponível em: [https://www.renctas.org.br/wp-content/uploads/2014/02/REL\\_RENCTAS\\_pt\\_final.pdf](https://www.renctas.org.br/wp-content/uploads/2014/02/REL_RENCTAS_pt_final.pdf)
55. Ripple WJ, Abernethy K, Betts MG, Chapron G, Dirzo R, Galetti M, et al. Bushmeat hunting and extinction risk to the world's mammals. *R Soc Open Sci*. 2016;3:160498. <https://doi.org/10.1098/rsos.16049856>
56. Coghlan MI, Haile J, Houston J, Murray DC, White NE, Moolhuijzen P et al. Deep Sequencing of Plant and Animal DNA Contained within Traditional Chinese Medicines Reveals Legality Issues and Health Safety Concerns. *PLoS Genet*. 2012; 8:e1002657. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002657>

57. Dalton DI, Kotze A. DNA barcoding as a tool for species identification in three forensic wildlife cases in South Africa. *Forensic Sci Int.* 2011;207(1-3):e51-4. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.12.017>
58. Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022 - atualiza a lista oficial das espécies da fauna e flora ameaçadas de extinção. *Diário Oficial da União*; 2022 jun 08.
59. Page TJ, Hughes JM. Comparing the performance of multiple mitochondrial genes in the analysis of Australian freshwater fishes. *J Fish Biol.* 2010;77(9):2093-122. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02821.x>
60. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Database issue):D36-42. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1195>
61. Carvalho CBV, Fassio LH, Paranaíba RTF. Investigação de colisões entre aves e aeronaves no Brasil com o uso do DNA Barcoding. *Rev Esd Ambient.* 2019;21(2):71-9. <https://doi.org/10.7867/1983-1501.2019v21n2p71-79>
62. Rodrigues AC, Munhoz S, Maiola MA. A importância da entomologia forense nas ciências criminais. *Rev Terra Cult.* 2018;33(65):11-24.
63. Oliveira PV, Matos NS, Klippel AH, Oliveira-Costa J, Careta FP, Paneto GG, et al. Using DNA barcodes to identify forensically important species of Diptera in Espírito Santo State, Brazil. *Braz Arch Biol Technol.* 2017;60:e17160106. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160106>
64. Madeira T, Souza CM, Cordeiro J, Thyssen PJ. The use of DNA Barcode for identifying species of *Oxysarcodexia* Townsend (Diptera: Sarcophagidae): a preliminary survey. *Acta Trop.* 2016;171:73-8. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.05.017>
65. Chen S, Yao H, Han J, Liu C, Song J, Shi L, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS ONE.* 2010;5(1):e861. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
66. Nithaniyal S, Newmaster SG, Ragupathy S, Krishnamoorthy D, Vassou SL, Parani M. DNA barcode authentication of wood samples of threatened and commercial timber trees within the tropical dry evergreen forest of India. *PLoS ONE.* 2014;9(10):e107669. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107669>
67. Sucher NJ, Carles MC. Genome-based approaches to the authentication of medicinal plants. *Planta Med.* 2008;74(6):603-23. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1074517>
68. Bruni I, De Mattia F, Galimberti A, Galasso G, Banfi E, Casiraghi A, et al. Identification of poisonous plants by DNA barcoding approach. *Int J Legal Med.* 2010;124(6):595-603. <https://doi.org/10.1007/s00414-010-0447-3>

69. Palhares RM, Drummond MG, Brasil BS, Krettli AU, Oliveira GC, Brandão MG. The use of an integrated molecular-, chemical- and biological-based approach for promoting the better use and conservation of medicinal species: a case study of Brazilian quinas. *J Ethnopharmacol.* 2014;155(2):815-22. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.06.040>
70. Palhares RM, Drummond MG, Brasil BSAF, Cosenza GP, Brandão MGL, Oliveira G. Medicinal plants recommended by the World Health Organization: DNA barcode identification associated with chemical analyses guarantees their quality. *PLoS ONE.* 2015;10(5):e0127866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127866>
71. Elsohly MA. *Marijuana and the cannabinoids.* Humana Press, Totowa; 2007. <https://doi.org/10.1007/978-1-59259-947-9>
72. Mello ICT, Ribeiro ASD, Dias VHG, Silva R, Sabino BD, Garrido RG, et al. A segment of rbcL gene as a potential tool for forensic discrimination of *Cannabis sativa* seized at Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Legal Med.* 2015;130(2):353-6. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1170-x>
73. Ribeiro A, Dias V, Mello I, Silva R, Sabino B, Garrido R, et al. O gene rbcL como barcode para identificação forense de *Cannabis sativa*. *Saúde, Ética & Justiça.* 2013;18(2):67-71. <https://doi.org/10.11606/issn.2317-2770.v18ispep67-71>