



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE**

TITOLO TESI (Italiano)

RILEVANZA DI *Ptomascopus plagiatus* E DEL SUO GENOMA MITOCONDRIALE, NELL'AMBITO DELL'ENTOMOLOGIA FORENSE COME STRUMENTO PER LE INVESTIGAZIONI CRIMINALI.

TITOLO TESI (Inglese)

RELEVANCE OF *Ptomascopus plagiatus* AND ITS MITOCHONDRIAL GENOME, IN THE FIELD OF FORENSIC ENTOMOLOGY AS A TOOL FOR CRIMINAL INVESTIGATIONS.

Tesi di Laurea di:
di:

GASDIA ALESSANDRO

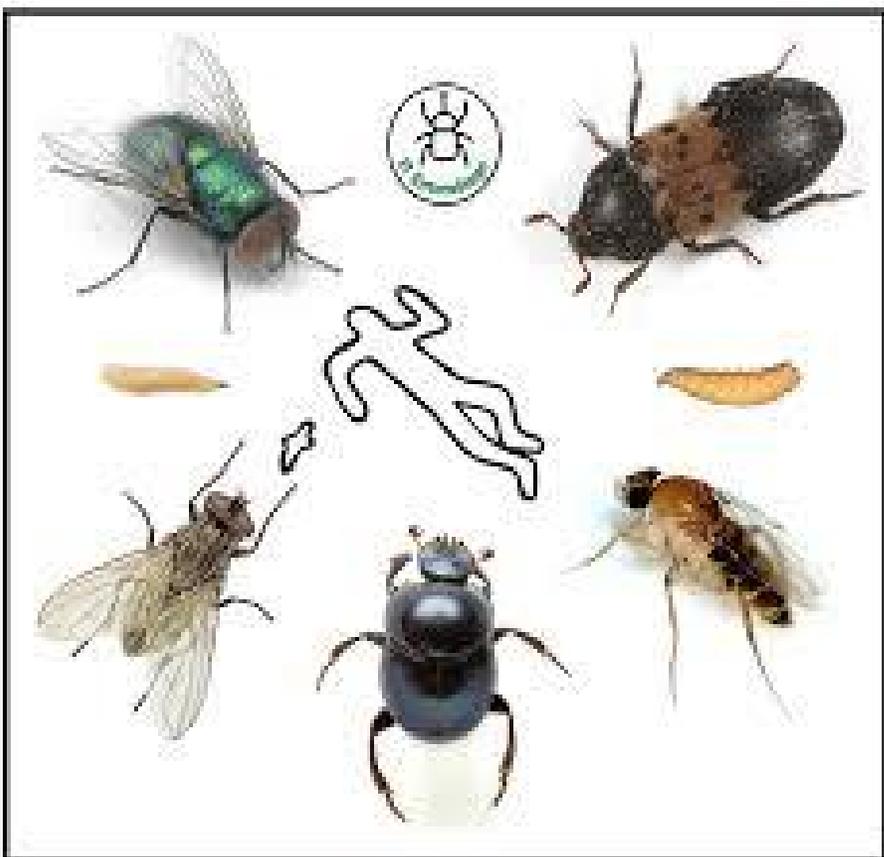
Docente Referente
Chiar.mo Prof.

BIZZARO DAVIDE

Sessione (AUTUNNALE DICEMBRE 2024)

Anno Accademico 2023/2024

Rilevanza di *Ptomascopus plagiatus* e del suo genoma mitocondriale nell'ambito dell'entomologia forense come strumento per le investigazioni criminali.



L'entomologia forense è una branca dell'entomologia che studia i cicli vitali di quegli insetti che, sviluppandosi sui resti umani in decomposizione, sono utilizzabili ai fini della determinazione della datazione e delle cause della morte. La maggior parte dell'interesse scientifico si è focalizzato su tre mosche in particolare: *Aldrichina grahami*, *Lucilia cuprina* e *Musca domestica*, insetti che comunemente colonizzano cadaveri durante il loro ciclo vitale.



Aldrichina grahami

Chromosome-level genome assembly of *Aldrichina grahami*, a forensically important blowfly - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Female-adult-of-Aldrichina-grahami-on-a-corpse_fig1_340047317 [accessed 18 Oct 2024]



Lucilia cuprina

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Australian_sheep_blowfly.jpg



Musca domestica

<https://www.copyr.eu/igiene-ambientale/blog/musca-domestica-commensale-e-coinquilino-sgradito/>

Nel 2020, il primo assemblaggio del genoma su scala cromosomica della mosca necrofaga, *Aldrichina grahami*, è stato completato.

Nel 2021, il genoma di *Sarcophaga peregrina* è stato sequenziato e assemblato.

Queste risorse del genoma servono come preziosi riferimenti per l'analisi trascrittomica, aiutando nell'identificazione dei geni candidati associati al comportamento necrofago negli insetti forensi.

L'analisi del trascrittoma olfattivo di *A. grahami* non solo aiuta a esplorare la relazione tra geni specifici e composti organici volatili (VOC), ma facilita anche l'analisi delle differenze olfattive e delle preferenze di colonizzazione tra diverse specie necrofaghe.

Metodo più preciso per stimare l'età della specie, ottenendo un'inferenza accurata del PMI e fornisce informazioni sulle differenze nel comportamento di foraggiamento e nelle abitudini di vita degli insetti necrofagi che vivono in habitat diversi.

Sarcophaga peregrina

潘立傑 LiChieh Pan, some rights reserved (CC BY-NC-SA),
<https://www.flickr.com/photos/plj/2620381461/>

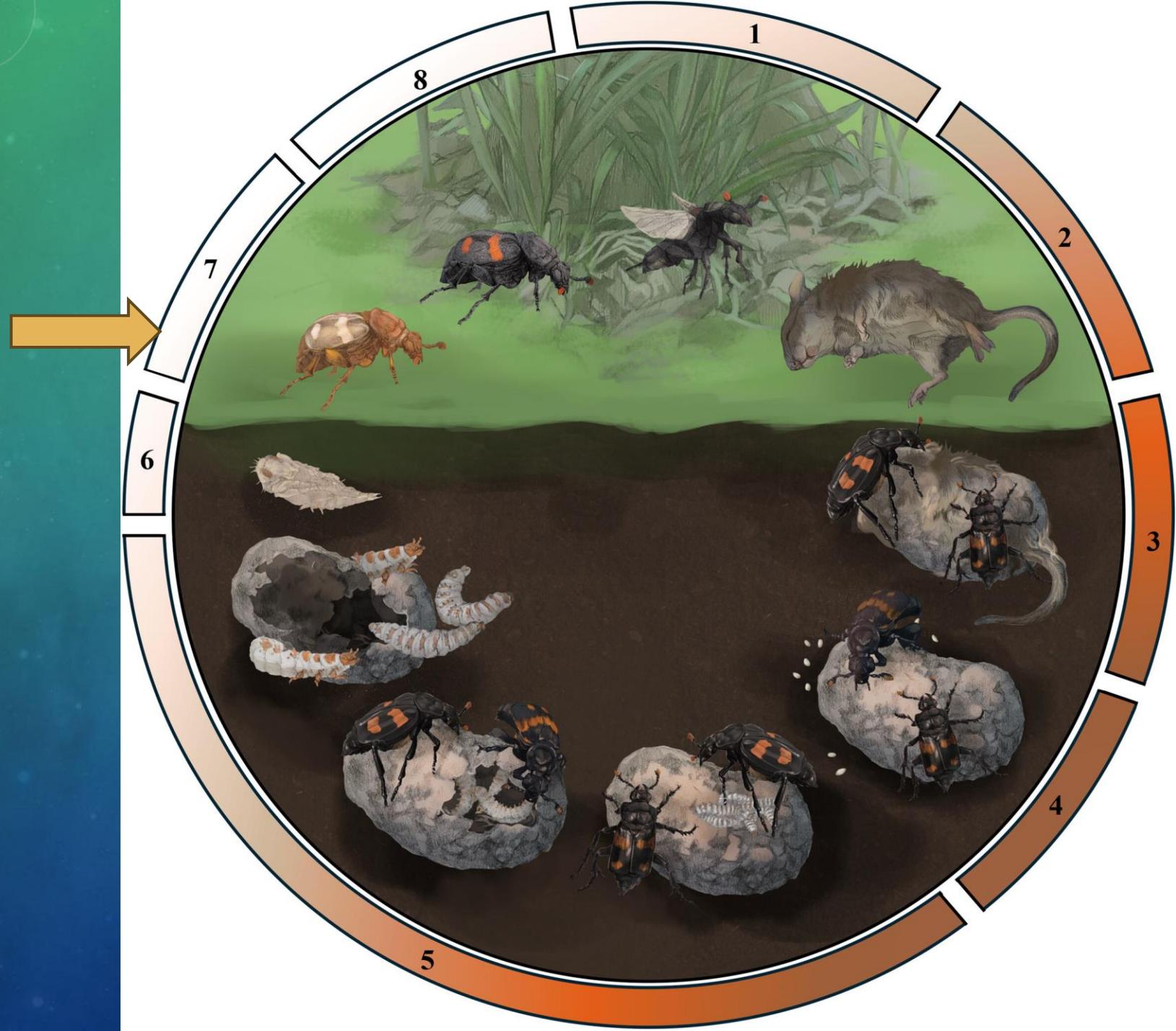


Specie della sottofamiglia *Silphinae* sono più frequentemente attratte dai cadaveri animali che le specie della sottofamiglia *Nicrophorinae*.

Nicrophorus Nicrophorinae tendono a sotterrare le uova in tane vicino a carcasse di dimensioni minori (generalmente <100 g), nelle quali proteggono le uova e mostrano cure parentali durante lo sviluppo larvale.

Silphinae tipicamente depositano e abbandonano le loro uova all'interno o nei pressi di carcasse di grandi dimensioni (>300 g).

Silfidi come utili bioindicatori forensi.



Ptomascopus plagiatus

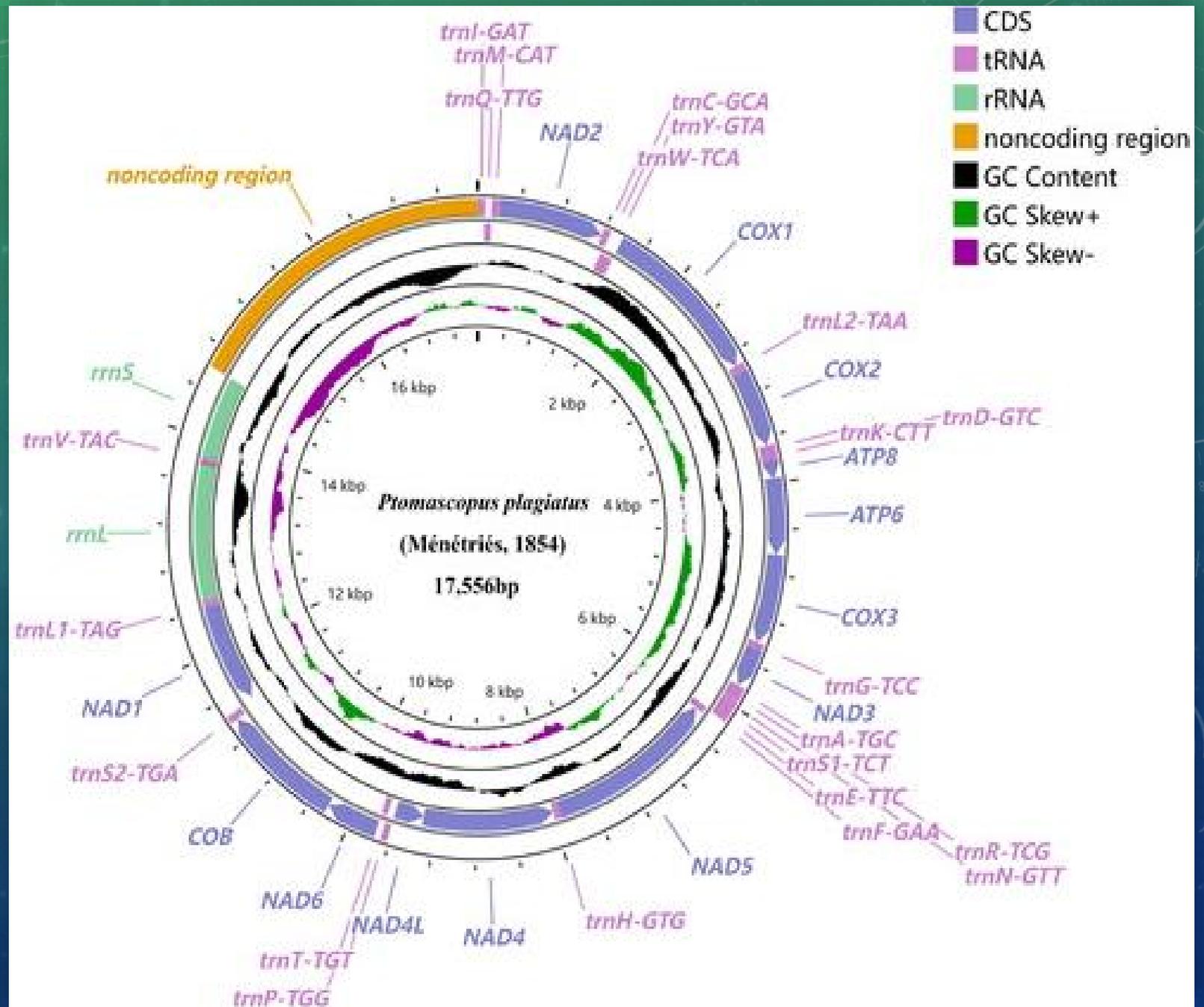
Tra le varie specie di coleotteri, recentemente, è stato caratterizzato per intero il DNA mitocondriale di un coleottero necrofago della famiglia dei *Silphilinae*: *Ptomascopus plagiatus*. Questo coleottero distribuito prevalentemente in Cina, Corea e Giappone è stato osservato colonizzare abitualmente carcasse animali di grandi dimensioni e anche corpi umani, il che lo rende un candidato ideale per il ruolo di marker forense.

Immagine di *Ptomascopus plagiatus* adulto. (Park, Sang-Hyun, and Tae-Young Moon. (2020).



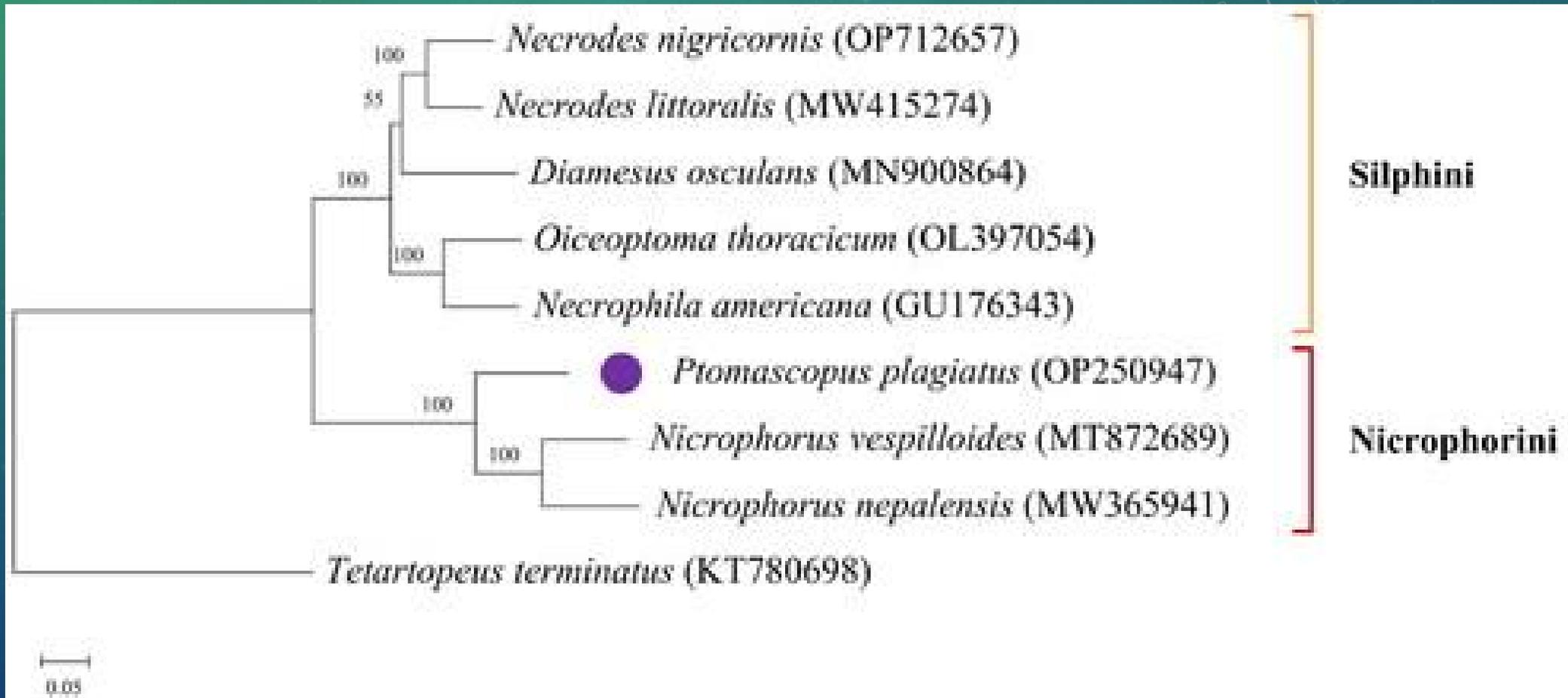
Mappa del genoma mitocondriale di *Ptomascopus plagiatus* (Ménétriés, 1854) che mostra sia i filamenti pesanti (fuori dal cerchio) che quelli leggeri (dentro il cerchio). Le direzioni trascrizionali dei geni situati sui filamenti pesanti e leggeri sono rispettivamente in senso orario e antiorario. I grafici del contenuto e dell'inclinazione di GC hanno utilizzato una dimensione della finestra scorrevole di 500 e una dimensione del passo di 1. L'inclinazione di GC è tracciata utilizzando finestre scorrevoli verdi e viola come deviazione dalla media del genoma mitocondriale.

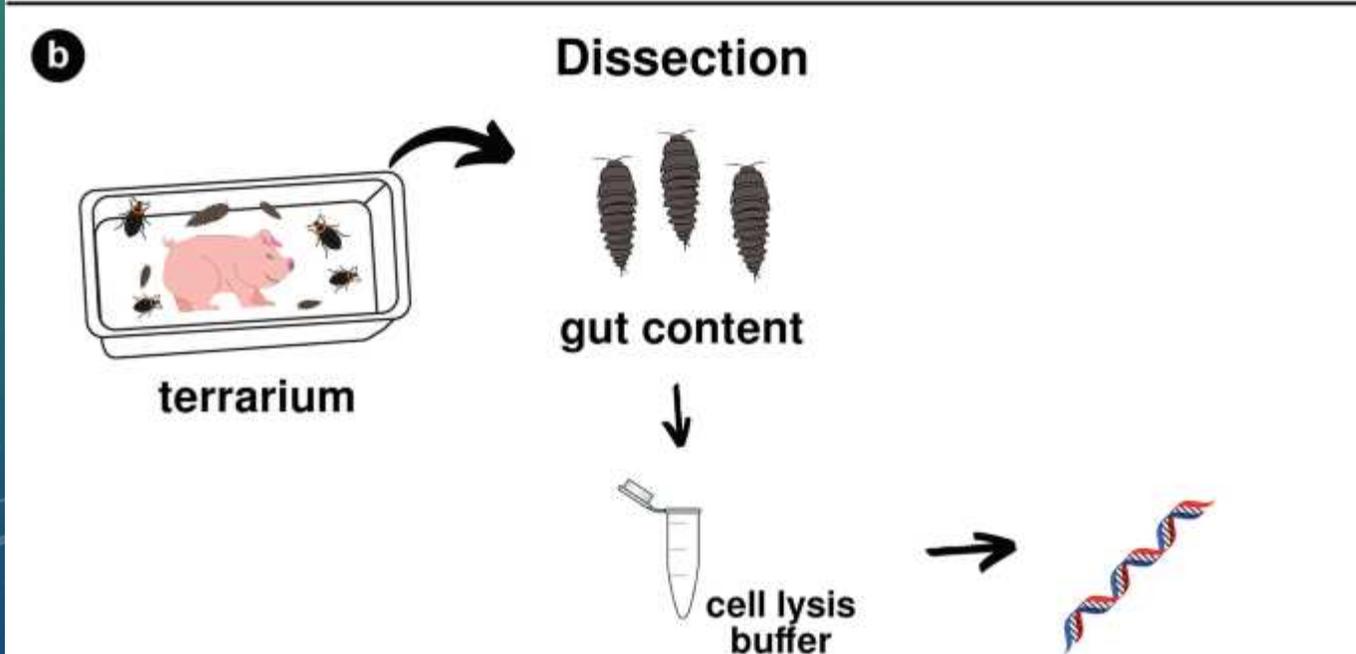
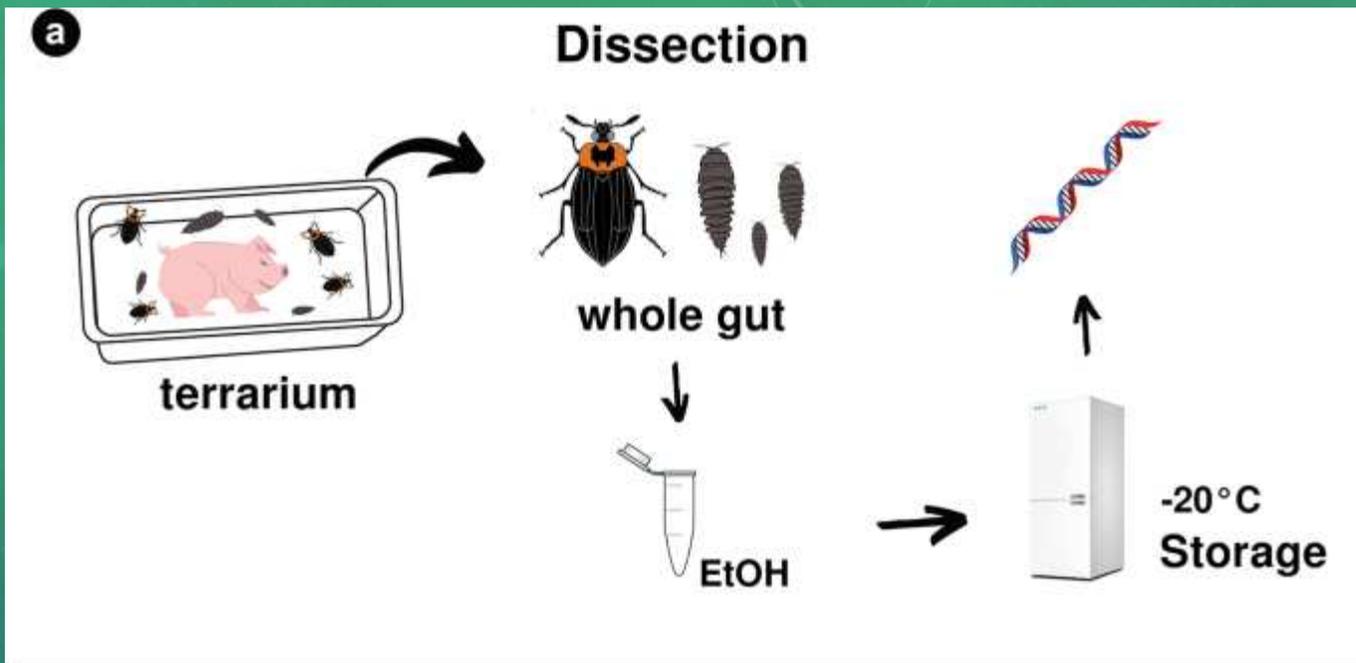
(Han, W., Feng, et al., (2023).



Lo studio del mtDNA di *P. plagiatus* ha premesso non solo di chiarire la tribù di appartenenza del coleottero e facilitare l'identificazione dello stesso durante le investigazioni forensi, ma anche di promuovere i Silphini come tribù di coleotteri di possibile importanza forense.

Albero ML (Maximum Likelihood) costruito utilizzando sequenze del genoma mitocondriale di 8 specie delle Silphinae e una specie di outgroup utilizzando il software RAxML v8.2.10. I numeri nei nodi indicano i valori bootstrap. I numeri di accesso GenBank sono indicati accanto al nome della specie. (Han, W., et al., (2023).





Le tecniche morfologiche di identificazione

offrono risultati definitivi facendo crescere le larve fino agli adulti.

L'analisi molecolare → piccole quantità di tessuto

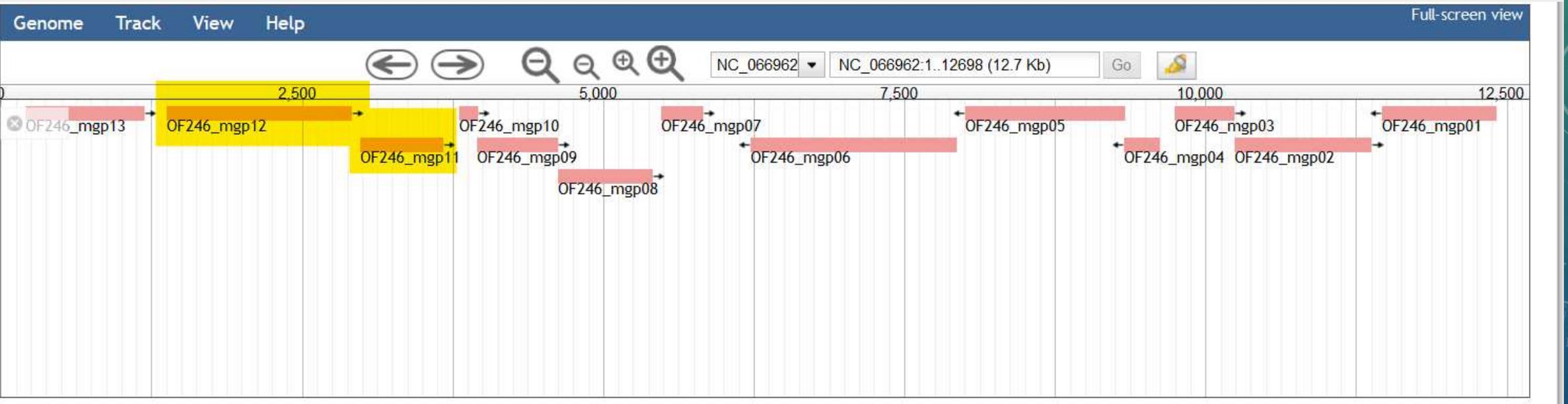
serie di loci supportano l'identificazione di specie di importanza forense

Geni mitocondriali (es. COI e COII)

ridurre al minimo la contaminazione con il contenuto dello stomaco o con acari forenci

DNA totale estratto solo da zampe o muscoli puliti del segmento toracico di coleotteri adulti

Ptomascopus plagiatus



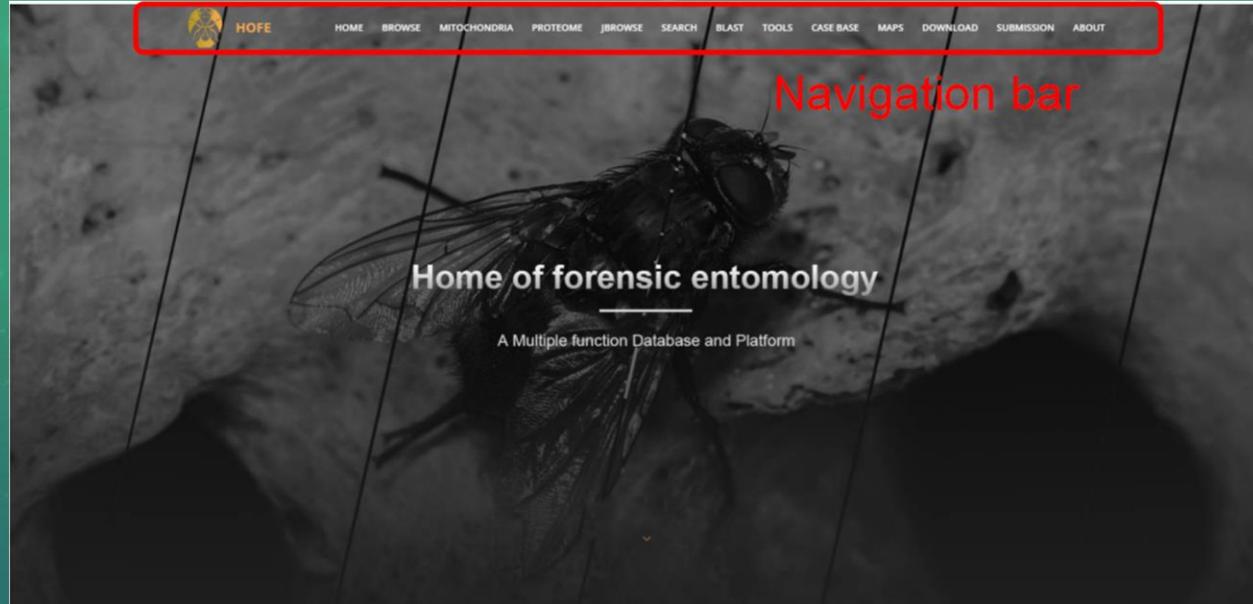
Genoma mitocondriale di *Ptomascopus plagiatus*, i geni OF246_mgp12 e OF246_mgp11 corrispondono rispettivamente a COI e COII.

A causa del suo alto grado di variazione nucleotidica, il gene della subunità I della citocromo ossidasi (COI) è stato ampiamente utilizzato per l'identificazione delle specie, il gene della citocromo ossidasi II (COII) è efficace nel determinare le connessioni filogenetiche.

Le sequenze geniche COI e COII a lunghezza intera possono identificare chiaramente la maggior parte delle specie di coleotteri necrofagi correlati alla medicina legale che sono stati campionati da diverse località della Cina.

Database che raccoglie il genoma cromosomico, il genoma mitocondriale e il proteosoma di diversi insetti rilevanti a livello forense.

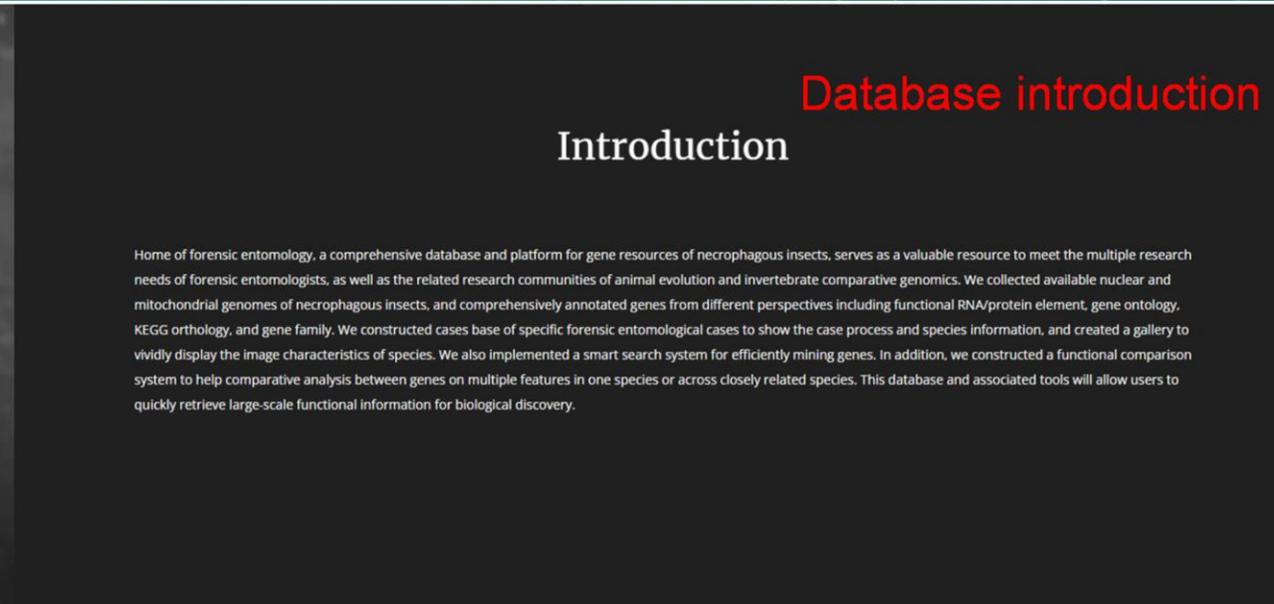
Home page del sito HOFE. (Liu, M., et al., (2024)



Navigation bar

Home of forensic entomology

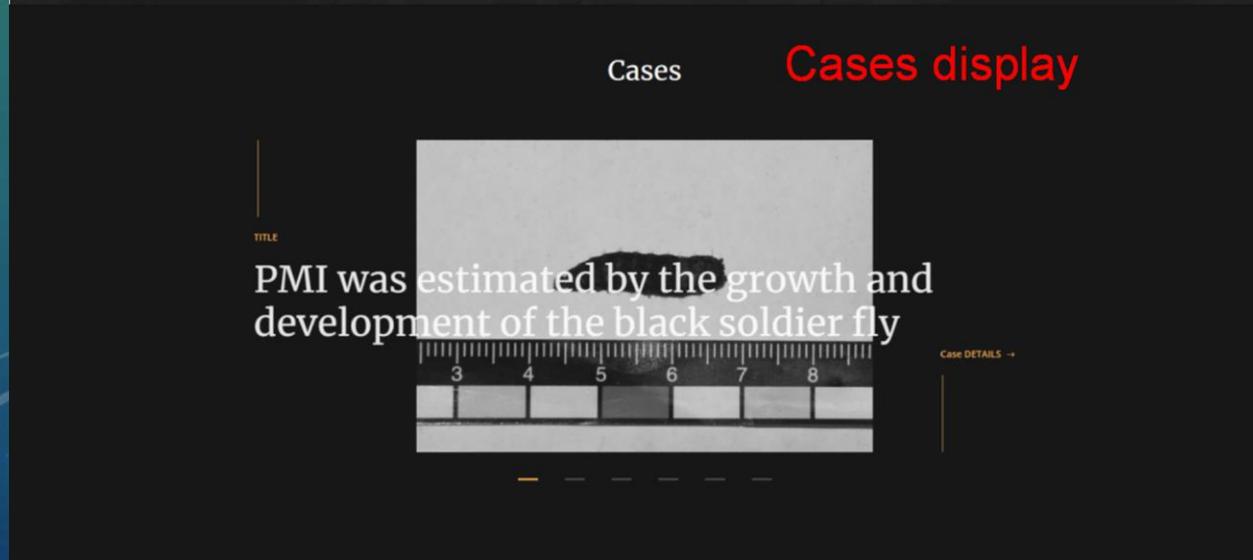
A Multiple function Database and Platform



Database introduction

Introduction

Home of forensic entomology, a comprehensive database and platform for gene resources of necrophagous insects, serves as a valuable resource to meet the multiple research needs of forensic entomologists, as well as the related research communities of animal evolution and invertebrate comparative genomics. We collected available nuclear and mitochondrial genomes of necrophagous insects, and comprehensively annotated genes from different perspectives including functional RNA/protein element, gene ontology, KEGG orthology, and gene family. We constructed cases base of specific forensic entomological cases to show the case process and species information, and created a gallery to vividly display the image characteristics of species. We also implemented a smart search system for efficiently mining genes. In addition, we constructed a functional comparison system to help comparative analysis between genes on multiple features in one species or across closely related species. This database and associated tools will allow users to quickly retrieve large-scale functional information for biological discovery.



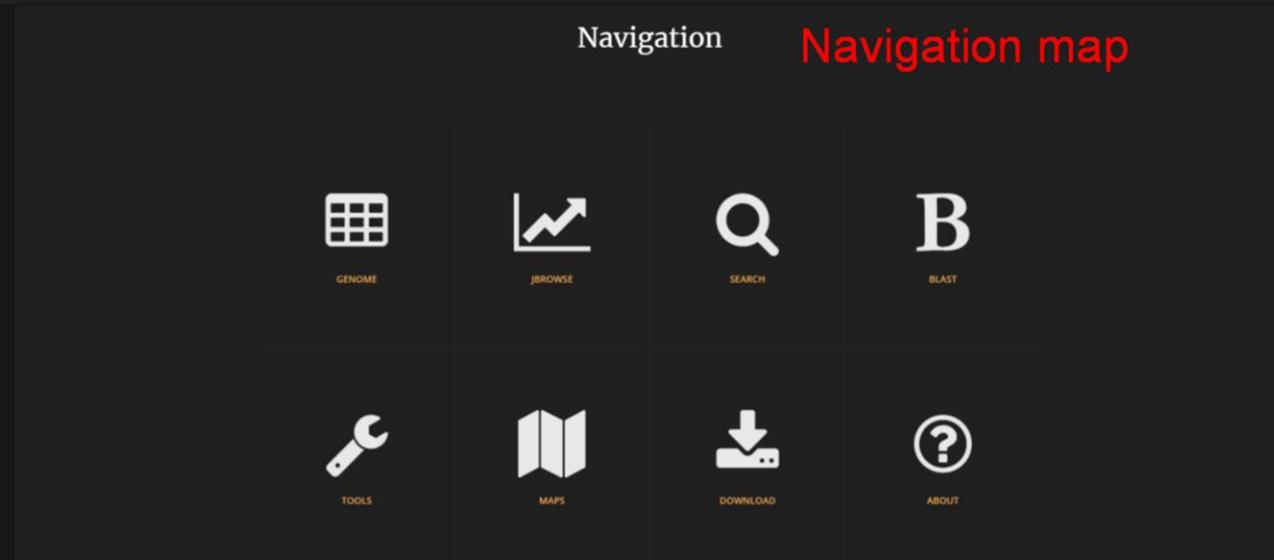
Cases

Cases display

TITLE

PMI was estimated by the growth and development of the black soldier fly

Case DETAILS →



Navigation

Navigation map



GENOME



JBROWSE



SEARCH



BLAST



TOOLS



MAPS



DOWNLOAD



ABOUT

Diversi strumenti utili come:

- ‘Muscle’,
- ‘Genewise’,
- ‘Primer’,
- ‘Lastz’,
- ‘Go Enrichment’
- ‘KEGG Enrichment’

Analisi bioinformatica relativamente completa

A

Type of query: Text File

Enter FASTA sequences:

Enter FASTA sequences or file

e.g. Example

Output Tree: none From first iteration From second iteration

Run

B

Protein sequence:

Query protein

e.g. Example

DNA sequence:

Target sequence

e.g. Example

EMBL Feature Table: ON OFF

EMBL Feature For dians: ON OFF

Ace File Gene Structure: ON OFF

Random (Null) Model: Synchronous model Flat model

Algorithm: GeneWise 623 GeneWise 2193

Gene Structure: ON OFF

Show Parameters: ON OFF

Protein Translation: ON OFF

Local/Global Mode: Local Global

Splice Site: Modelled GT/AG only

Pretty ASCII: ON OFF

cDNA: ON OFF

GFF Output: ON OFF

Default parameters

Run

genewise output

Score -10.93 bits over entire alignment

Scores as bits over a synchronous coding model

Warning: The bits scores is not probablistically correct for single seqs
See WWW help for more info

example1	142	VPEGLYM	Query protein
		P +Y+	Match information
		LPPSIYL	Translated protein
example2	148	ccctatc	DNA sequence
		tcctat	
		ataact	

‘Strumenti’ dell’HOFE.

(A) ‘Muscle’ che mostra i risultati dell’allineamento e l’albero filogenetico.

(B) ‘Genewise’ che mostra la previsione delle proteine omologhe.

(Liu, M., et al., (2024).

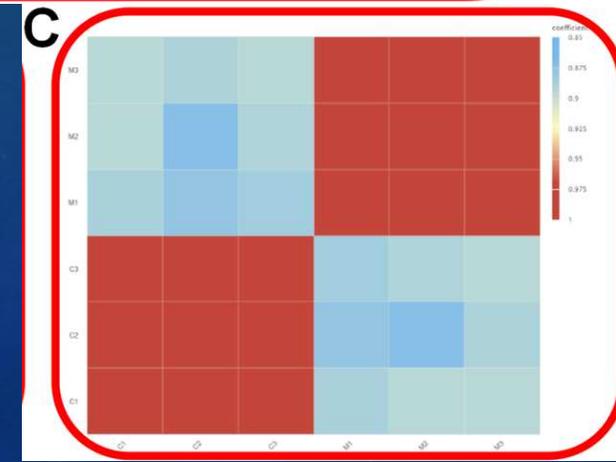
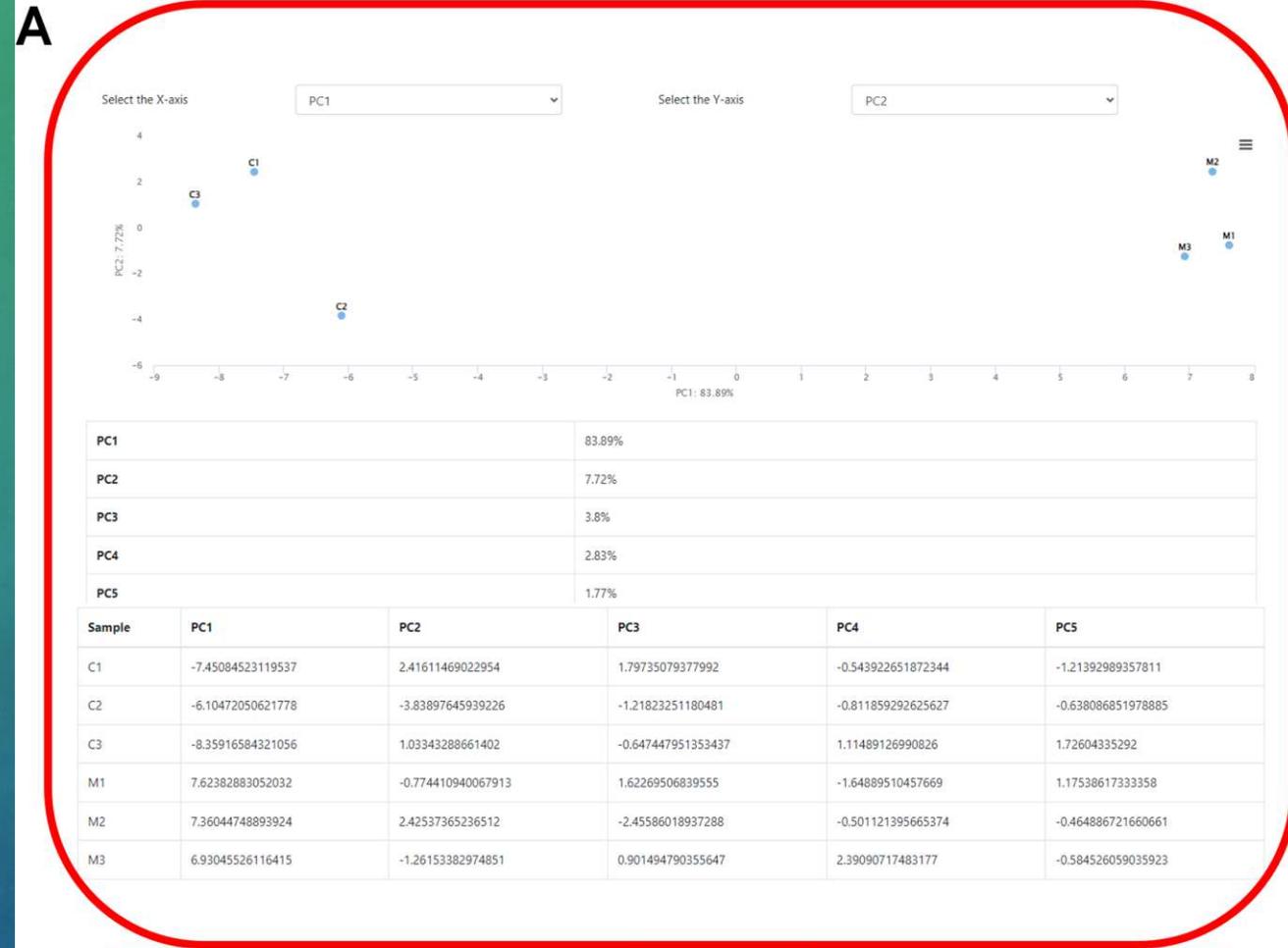
(A) Presentazione della distribuzione dei campioni nelle componenti principali e spiegazione dei contributi di ciascun componente principale mediante "PCA Analysis".

(C) Visualizzazione delle correlazioni dell'espressione genica mediante 'Correlation Heatmap'.

(Liu, M., et al., (2024).

- 'PCA Analysis',
- 'Hcluster'
- 'Correlation Heatmap'

caricamento di file di informazioni sulle espressioni per la mappatura e l'analisi





Description:

In 2004, Jonathan Blackwell went missing during a day at his workshop in Goodyear, Virginia. His remains were found near a barn in North Carolina in December 2006. The problem was that he had been missing for nearly three years, but the blowfly eggs on his body had been laid seven days earlier. The investigators contacted Wes Watson, a professor of entomology at North Carolina State University.

Based on fresh maggot on the body, Watson determined that the area near the barn where Blackwell's remains were found was not the scene of the first crime. He thought that the murderer had used some method of preserving Blackwell's body when he first buried him, and that when the murderer dug him up for a second time, it gave the blowfly an opportunity to produce maggots. This is the first time a blowfly has produced maggots on a mud-covered carcass. Had it not been for the maggots, the fact that the body had been moved might have been overlooked. The killer, Stacy Morris Webster, surrendered to police a few days later. Stacey Morris Webster was convicted of murder in 2010.

Gallery

Species	Taxonomy	Accession Number
<i>Lucilia sericata</i>	Diptera:Calliphoridae:Lucilia	NC_009733.1
<i>Lucilia porphyrina</i>	Diptera:Calliphoridae:Lucilia	NC_019637.1
<i>Calliphora vomitoria</i>	Diptera:Calliphoridae:Calliphora	NC_028411.1

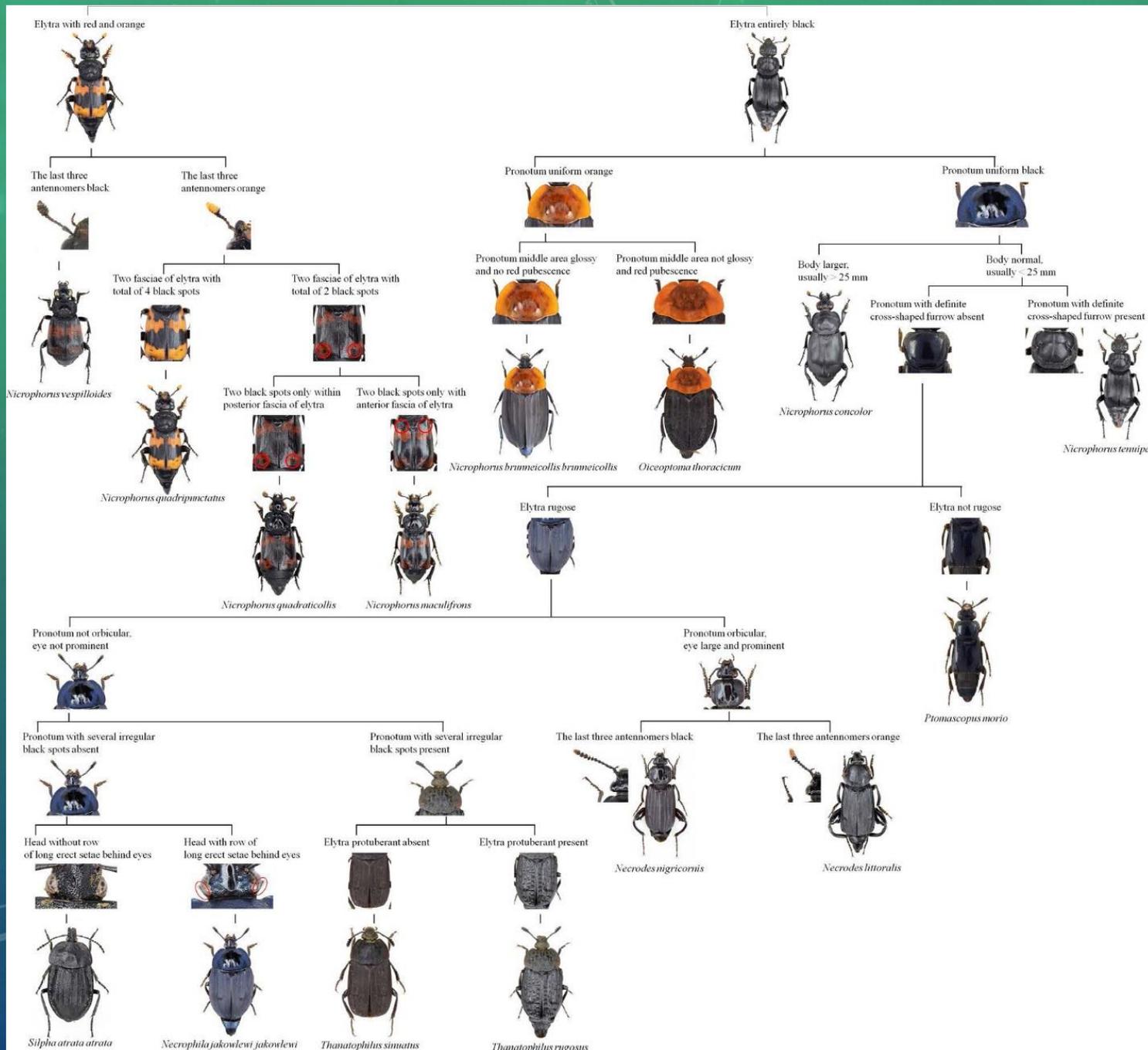
Reference:

1. Parry W. How 'bugs of death' may help solve murder cases[EB/OL]. (2011-11-12) [2023-4-13]. <https://www.nbcnews.com/id/wbna45262150>

Dettagli del caso e degli insetti necrofagi coinvolti.

(Liu, M., et al., (2024).

Il sito presenta inoltre un a sezione in cui sono mostrati casi criminali inerenti all'entomologia forense con tanto di dettagli, immagini e riferimenti.



Un altro interessante strumento è stato proposto da Sang-Hyun Park e Tae-Young Moon: uno schema pittografico affidabile che possa essere utilizzato per identificare le specie trovate su cadaveri umani e animali.

Lo schema pittografico degli scarabei necrofagi coreani di potenziale importanza forense mediante caratteri morfologici esterni. (Park, Sang-Hyun, and Tae-Young Moon. (2020).

Sebbene relativamente semplice, questo tipo di schema aiuterebbe gli investigatori criminali, evidenziandone così l'importanza.

CITAZIONI

1. Park, Sang-Hyun, and Tae-Young Moon. "Carrion Beetles (Coleoptera, Silphidae) of Potential Forensic Importance and Their Pictorial Identification Key by User-Friendly Characters in Korea." *Korean J. Leg. Med* 44 (2020): 143-149.
2. Han, W., Feng, D., & Dai, S. (2023). Characterization of the complete mitochondrial genome of a forensically important beetle, *Ptomascopus plagiatus* (Coleoptera: staphylinidae: silphinae). *Mitochondrial DNA Part B*, 8(11), 1276–1279. <https://doi.org/10.1080/23802359.2023.2281705>
3. Yifei Luo, Fanming Meng, Identification of Forensically Important Carrion Beetles (Coleoptera: Staphilinidae) in China Based on COI and COII, *Journal of Medical Entomology*, Volume 60, Issue 1, January 2023, Pages 24–31, <https://doi.org/10.1093/jme/tjac141>
4. Liu, M., Qu, Y., Luo, Y. et al. HOFÉ: an interactive forensic entomological database. *Database* (2024) Vol. 2024: article ID baae058; DOI: <https://doi.org/10.1093/database/baae058>; <http://ihofe.com/>