journal homepage: www.sjfm.ir

Iranian Journal of Forensic Medicine

Iran J Forensic Med. 2023 June;29(1):25-33 Volume 29, Issue 1, Spring 2023 Research Article

Forensic Botany as a Useful Tool in Crime Scene Investigation

Shirin Jalili[1*] PhD, Sajjad Bahramian[2] MSc

[1] Institute of Police Equipment and Technologies, Policing Sciences and Social Studies Research Institute, Tehran, Iran
[2] Research Center for Life & Health Sciences & Biotechnology of the Police, Directorate of Health, Rescue & Treatment, Police Headquarter, Tehran, Iran

***Correspondence to:** Shirin Jalili, Email: jalili.shirin@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article history:
Received: December 9, 2022
Accepted: April 29, 2023
Online Published: June 6, 2023

Keywords:
Forensic botany
DNA barcoding
Hawthorn
Silver cypress

HIGHLIGHTS

1. Plant remains left at the crime scene can be identified using plant DNA markers.
2. the two gene markers matK and rbcl can be used as two appropriate gene markers to identify two plant species of hawthorn and silver cypress.

ABSTRACT

Introduction: Plant remains are often found in various parts of the crime scene, including on the dead bodies and objects found at the crime scene. An experienced identification system can be beneficial in accurately identifying and tracking plant evidence at a crime scene. Due to the advances made in the field of DNA, DNA barcoding has become an important tool to discover unknown plant species and plant remains in a wide range of fields including forensic medicine and science. The main purpose of this study is to investigate and analyze the two gene regions of matK and RBCL in two species of woody plants, hawthorn and silver cedar.
Methods: Genomic DNA of samples collected from hawthorn and silver cypress plants was extracted after transfer in liquid nitrogen by dnazist company kit. The matK and RBCL gene regions were examined on the extracted DNA samples, by polymerase chain reaction (PCR). The amplified fragments were purified and sequenced and their phylogenetic tree was plotted by MEGA6 software.
Results: The results of this study showed that the two markers, matK and rbcl, can be used as two appropriate gene markers to identify two plant species, hawthorn and Silver cypress, and these two plant species can be well separated from each other through these two markers.
Conclusion: By using genotyping of plant remains found in the crime scene, which do not have a specific morphology, it is possible to identify the desired plant species using DNA genetic markers, which can be used as a useful tool in criminal science and forensic medicine.

How to cite: Jalili S, Bahramian S. Forensic botany as a useful tool in crime scene investigation. Iran J Forensic Med. 2023;29(1):25-33.

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

Copyright © 2023 The Author(s); Published by Legal Medicine Research Center. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مرکز تحقیقات پزشکی قانونی

مجله
پزشکی قانونی ایران

www.sjfm.ir

دوره ۲۹، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۲۵ تا ۳۳

مقاله پژوهشی

استفاده از DNA مارکرها در گیاه‌شناسی جنایی به‌عنوان یک ابزار سودمند در بررسی صحنه جرم

شیرین جلیلی[1*] PhD ، سجاد بهرامیان[2] MSc

[1] پژوهشکده تجهیزات و فناوری‌های انتظامی، پژوهشگاه علوم انتظامی و مطالعات اجتماعی فراجا، تهران، ایران
[2] مرکز تحقیقات علوم و فناوری‌های زیستی و سلامت پلیس، معاونت بهداشت، امداد و درمان، فرماندهی انتظامی، تهران، ایران

***نویسنده مسئول:** شیرین جلیلی، پست الکترونیک: jalili.shirin@yahoo.com

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۱۸
پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۹
انتشار برخط: ۱۴۰۲/۰۳/۱۶

واژگان کلیدی:
گیاه‌شناسی جنایی
DNA بارکدینگ
زالزالک
سرو نقره‌ای

نکات ویژه

۱- با کمک نشانگرهای DNA گیاهی می‌توان بقایای گیاهی باقی مانده در صحنه جرم را شناسایی کرد.
۲- نشانگرهای ژنی matK و rbcl می‌توانند به‌عنوان دو مارکر مناسب برای شناسایی دو گونه گیاهی زالزالک و سرونقره‌ای به کار گرفته شوند.

چکیده

مقدمه: بقایای گیاهان اغلب در بخش‌های مختلف صحنه جرم از جمله روی اجساد و اشیای موجود در صحنه جرم یافت می‌شوند. وجود یک سیستم شناسایی کارآزموده می‌تواند در تشخیص صحیح و ردیابی شواهد گیاهی موجود در صحنه جرم سودمند باشد. با توجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه DNA، DNA بارکدینگ به یک ابزار مهم برای کشف گونه‌های ناشناس گیاهی و بقایای گیاهی تبدیل شده که در طیف وسیعی از زمینه‌ها از جمله پزشکی قانونی و علوم جنایی کاربرد دارد. هدف از این مطالعه بررسی و آنالیز دو منطقه ژنی matK و RBCL در دو گونه گیاه چوبی زالزالک و سرو نقره‌ای است.

روش بررسی: DNA ژنومی نمونه‌های جمع‌آوری شده از دو گیاه زالزالک و سرو نقره‌ای بعد از انتقال در ازت مایع توسط کیت شرکت dnazist استخراج شد. در نمونه‌های DNA استخراج شده، نواحی ژنی matK و rbcl توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد بررسی قرار گرفت. درخت فیلوژنی قطعات تکثیر یافته، بعد از خالص‌سازی و تعیین توالی، توسط نرم‌افزار MEGA6 رسم شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که دو مارکر matK و rbcl می‌تواند به‌عنوان دو نشانگر مناسب برای شناسایی دو گونه گیاهی زالزالک و سرونقره‌ای به کار گرفته شوند و این دو گونه گیاهی از طریق این دو مارکر به خوبی از هم تفکیک شوند.

نتیجه‌گیری: با استفاده از ژنوتایپینگ بقایای گیاهی موجود در صحنه جرم که فاقد مورفولوژی مشخصی هستند، می‌توان گونه گیاهی مورد نظر را با استفاده از DNA مارکرهای ژنی تشخیص داد که می‌تواند به‌عنوان یک ابزار سودمند در علوم جنایی و پزشکی قانونی به کار گرفته شود.

مقدمه

با توجه به آمار روزافزون جرم و جنایت و اینکه جنایتکاران و مجرمان همسو با پیشرفت دانش‌های کاربردی بشری، از شیوه‌های پیچیده‌تری برای ارتکاب جرم استفاده می‌کنند، محققان و کارشناسان علوم جنایی و پزشکی قانونی برای اینکه بتوانند پرونده‌های پیچیده جنایی را بررسی کنند باید به دانش‌های نوین تشخیصی و شناسایی مدارک جرم احاطه کاملی داشته باشند، زیرا امروزه دیگر روش‌های سنتی و قدیمی جوابگوی حل این پرونده‌های پیچیده جنایی نیستند. از این رو دستیابی به فناوری‌های نوینی که حاصل از تلفیق علوم مختلف است و می‌تواند در کشف، شناسایی و بررسی مدارک بیولوژیکی جمع‌آوری‌شده از صحنه جرم و کمک‌کننده باشد، بسیار حائز اهمیت است. یکی از این علوم تلفیقی که در چند سال اخیر به‌عنوان یک ابزار کشف جرم به محققان این حوزه کمک کرده، گیاه‌شناسی جنایی است. در حقیقت گیاه‌شناسی جنایی به‌کارگیری دانش گیاه‌شناسی و تکنیک‌های علمی این حوزه با هدف کشف جرم و قضاوت در طول تحقیقات جنایی است [۱]. گیاه‌شناسی جنایی یک رشته متنوع است که جنبه‌های بسیاری از علوم گیاهی، به ویژه طبقه‌بندی، گیاه‌شناسی، آناتومی، اکولوژی و ژنوتایپینگ گیاهی را در بر می‌گیرد. با گسترش دانش مولکولی در بحث گیاه‌شناسی جنایی در سطح بین المللی، فرصت قابل توجهی برای گسترش کاربرد گیاه‌شناسی جنایی در تحقیقات جنایی و پزشکی

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

قانونی، به ویژه جنایات جنگی، نسل‌کشی، قتل، خشونت جنسی، تجاوز، تجارت غیرقانونی گونه‌های در معرض خطر و جنایات حیات وحش به‌وجود آمده است [۲،۳].

معمولاً در محل وقوع جرم، علاوه بر نمونه‌های رایج موجود در صحنه جرم همچون خون، بزاق، مو، مایع منی، شواهد دیگری از جمله بقایای گیاهان و حیوانات نیز وجود دارد. در سال‌های اخیر در کنار آنالیز و شناسایی شواهد انسانی، بررسی DNA غیرانسانی از جمله گیاهان در کشف و شناسایی جرایم اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. از آنالیز شواهد گیاهی باقیمانده در صحنه جرم می‌توان به مواردی چون حرکت و جابه‌جایی جسد، تعیین زمان مرگ، شناسایی سموم گیاهی در یک بازه زمانی سریع که می‌تواند در درمان قربانیانی که به طور تصادفی یا عمدی در معرض قرار گرفته‌اند، حیاتی باشد، مسیر ردیابی مظنون، شناسایی گیاهان مخدر، کشف تجارت غیرقانونی گونه‌های در معرض انقراض، نظارت بر تجارت مواد غیرقانونی و همچنین ارائه اطلاعات در مورد تقلب غذاها، محصولات دارویی و گیاهی و غیره اشاره داشت [۴-۶]. با وجود چنین مزیت‌هایی که گیاه‌شناسی جنایی در کشف و شناسایی جرایم دارد، معمولاً بسیاری از آزمایشگاه‌های جنایی از این پتانسیل در بررسی‌های پرونده‌های جنایی استفاده نمی‌کنند. دلایل متعددی برای این امر وجود دارد که از مهم‌ترین آنها می‌توان به نبود متخصص در زمینه گیاه‌شناسی جنایی و همچنین مراکزی که بتواند چنین افرادی را تربیت کند، اشاره کرد. کارشناسان امور جنایی که در شناسایی DNA انسان متخصص هستند، معمولاً هیچ تجربه‌ای در مورد تجزیه و تحلیل DNA غیر انسانی ندارند. با این اوصاف شواهدی که از طریق گیاه‌شناسی جنایی به دست می‌آید، توسط دادگاه‌ها پذیرفته شده است [۷]. برای اولین بار در سال ۱۹۳۲، در لیدنبرگ برای حل یک موضوع کودک‌ربایی، از گیاه‌شناسی جنایی استفاده شد و پرونده از طریق شواهد گیاه‌شناسی به اثبات رسید. از اینجا به بعد بود که گیاهان، به‌عنوان سر نخ‌هایی برای بررسی موضوعات جنایی مورد توجه قرار گرفتند و گزارشات علمی متنوعی درخصوص استفاده از گیاه‌شناسی جنایی و حل پرونده‌های جنایی ثبت شده است [۸-۱۱]. از این رو انجام مطالعات در حوزه گیاه‌شناسی می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مهم در کشف و شناسایی جرایم به محققان این حوزه کمک‌کننده باشد.

امروزه باتوجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه کشف نشانگرهای مختلف در DNA، تکنولوژی تعیین توالی و محاسبات بیوانفورماتیکی، DNA بارکدینگ به یک ابزار مهم برای کشف و شناسایی گونه‌های ناشناس گیاهی و همین‌طور بقایای گیاهی باقیمانده در صحنه جرم که دارای مورفولوژی نامشخصی هستند، تبدیل شده است [۱۲،۴]. بارکدگذاری DNA، با استفاده از اطلاعات موجود در یک منطقه ژنی مشترک یا ناحیه بین ژنی در تمام گونه‌ها و سپس تعیین توالی آنها، روشی موفق در شناسایی و آنالیز موجودات به شمار می‌رود. این روش برای نخستین بار در سال ۲۰۰۳ توسط هبرت و همکاران مطرح شد و سپس کنسرسیوم بارکدگذاری موجودات زنده (CBOL)، تلاش‌های فراوانی را برای توسعه این روش انجام داد [۱۳].

در این خصوص نشانگرهای بسیار زیادی کشف و شناسایی شدند. به‌طور مثال در جانوران، ژن سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی (CO1)، به‌عنوان یک نشانگر استاندارد پیشنهاد شده [۱۴-۱۶] اما در گیاهان به علت ماهیت میتوکندریایی آنها، پیشنهاد نمی‌شود، زیرا ساختار ژنوم میتوکندریایی در گیاهان مختلف، متغیر بوده و میزان تغییرات در ژن‌های میتوکندریایی گیاهان پایین است. از این رو بسیاری از بارکدهای پیشنهادی در گیاهان، بر اساس یک منطقه منحصر به فرد از کلروپلاست و یا ترکیبی از مناطق کلروپلاستی و هسته‌ای هستند. در شناسایی و مستندسازی تنوع گیاهان، بارکدهای trnH-psbA، matk، rbcl و ITS توسط محققان بسیاری مورد آزمون قرار گرفته است [۱۷،۱۸]. بر همین اساس کنسرسیوم بارکدگذاری موجودات زنده در سال ۲۰۰۹، ژن‌های کلروپلاستی rbcl matK را به‌عنوان بارکد استاندارد کلروپلاستی پیشنهاد کرده که دارای کیفیت مطلوب توالی و سطوح بالای تفکیک گونه‌ای برای گیاهان است. DNA کلروپلاستی (cpDNA) به دلیل محافظت شدگی بالا، ثابت ماندن در نوترکیبی و جهش و همین‌طور میزان جانشینی اندک نوکلوتیدی، از جمله نشانگرهایی است که برای جنس‌های مختلف گیاهی به‌عنوان DNA بارکد مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۹،۲۰].

در مناطق مختلف ایران پوشش‌های گیاهی متفاوت، همراه با ویژگی‌های ژنتیکی منحصربه‌فردی وجود دارد که از این فاکتور می‌توان در حوزه علوم جنایی بهره‌مند شد. ازآنجایی که زالزالک (Crataegus) و سرو نقره‌ای (Cupressus Arizonica) دارای پراکنش

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

منحصر به فردی در نقاط مختلف ایران هستند، در این مطالعه به‌عنوان گزینه مناسبی برای انجام این پژوهش انتخاب شدند. بر اساس طبقه‌بندی کریستینسن در سال ۱۹۹۲، سرده Crataegus در سراسر دنیا به ۵ بخش تقسیم شده که در ایران فقط گونه‌های مربوط به‌Sect.Crataegus وجود دارد که خود متشکل از ۵ سری Ser.Pentagynae،Ser.Erianthae، Ser. Orientalis، Ser. Microphyllae، Ser. Crataegus است [۲۱]. از طرف دیگر درخت سرو نقره‌ای (Cupressus) از نظر اقلیمی در آب و هوای معتدل گرم و معتدل سرد رویش داشته و به خشکی مقاوم است. از همین رو در مناطق خشک و نیمه‌خشک بیشتر کشت می‌شود و در جنگل‌کاری‌های اطراف قم، اصفهان و پارک پردیسان تهران به طور گسترده‌ای کشت شده است. واریته‌های مختلف این سرو شامل: var.arizonica،var. glabra،var.montana،var.nevadensis، var.stephensonii است (۲۲). هدف از مطالعه حاضر این است که بدون توجه به ویژگی‌های مورفولوژیک زالزالک و سرو نقره‌ای، شناسایی گونه‌های نامبرده را از زاویه مولکولی و با استفاده از پرایمرهای مربوط به مارکرهای matK وrbcl، از طریق ارایه یک سیستم مولکولی بهینه‌سازی شده و کارآزموده اعتبار بخشی شود.

روش بررسی

در مطالعه حاضر ۲۵ قطعه از برگ جوان زالزالک و ۲۵ قطعه برگ سرو نقره‌ای از درختان مختلف جمع‌آوری و به آزمایشگاه ژنتیک انتقال داده شد. سپس برگ‌ها یک به یک به صورت جداگانه، به خوبی در هاون چینی حاوی ازت مایع پودر، و ۰/۱ گرم از آن به میکروتیوب منتقل شد و سپس DNA ژنومی توسط کیت شرکت dnazist استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از نظر شکستگی، وجود یا عدم وجود RNA همراه مولکول DNA، توسط ژل الکتروفوز و دستگاه نانودراپ بررسی شد.

در مرحله بعد واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، توسط دستگاه ترموسایکلر شرکت BIO-RAD بر روی DNA نمونه‌های استخراج شده بهینه‌سازی شد. برای این منظور از پرایمرهای matK و rbcl که توالی آنها در جدول ۱ موجود است استفاده شد. حجم نهایی هر واکنش PCR، ۲۰ میکرولیتر بود که شامل ۱۰ میکرولیتر مستر میکس آمپلیکون X2، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر فروارد و ریورس به همراه ۷ میکرولیتر آب مقطر و ۲ میکرولیتر DNA بوده است. چرخه دمایی استفاده شده برای هر دو پرایمر matK و rbcl به صورت زیر بود:

در ابتدا واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس در ادامه ۳۵ چرخه PCR به ترتیب واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۵۴ درجه به مدت ۴۰ ثانیه، طویل‌سازی در دمای ۷۲درجه به مدت ۱ دقیقه و در نهایت PCR با یک دور نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه به اتمام رسید. سپس به‌منظور تأیید عملکرد PCR، محصولات بر روی ژل آگاروز ۲ درصد الکتروفورز شد.

کیفیت باندهای حاصل بعد از الکتروفورز (ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه) توسط نور UV حاصل از دستگاه GEL Documentation بررسی شد. سپس از هر مارکر برای هر گونه سه نمونه به صورت رندوم جدا و پس از خالص سازی، فرایند توالی یابی از هر دو سمت فوروارد و ریورس، توسط دستگاه ABI بر روی نمونه‌ها انجام شد. نتایج توالی یابی توسط نرم افزار کروماس بررسی و پیک‌های بی کیفیت از ابتدا و انتهای هر یک از توالی‌ها جداسازی و توالی باقی مانده ذخیره شد. سپس به برای ادغام توالی فوروارد و ریورس از برنامه آنلاین CAP3 استفاده شد و از آنجایی که در قسمت Assembly details برنامه CAP3 رشته ریورس به صورت پلاس ادغام شده بود با استفاده از سایت Revers-complement رشته مکمل ایجاد شد. پس از آن توالی حاصل را به منظور بررسی حداکثر تشابه با توالی گونه‌های دیگر در سایتNCBI تحت BLAST مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله بعد نتایج BLAST دو گونه زالزالک و سرو نقره‌ای ادغام و در غالب یک فایل fasta برای هر مارکر ذخیره شد. توسط نرم‌افزار MEGA6 درخت فیلوژنی رسم شد. بررسی روابط فیلوژنتیک ژنوتیپ‌ها بر اساس مدل«تامورا-نی» صورت گرفت (۲۳) و آزمون «بوت استرپ» بر اساس ۵۰۰ تکرار انجام شد (۲۴). نتایج در نمودارهای ۱و۲ قابل مشاهده است.

یافته ها

طراحی پرایمرها

توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر دو ناحیه ژنی matK و rbcl در جدول ۱ قابل مشاهده است.

مخلوط PCR مربوط به واکنش تکیر دو نشانگر ژنی matK و

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

rbcl طبق جدول ۲ بسته شد و میکروتیوب‌ها طبق برنامه جدول ۳ در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند.

چرخه دمایی استفاده شده برای هر دو پرایمر matK و rbcl در جدول ۳ نشان داده شده است سپس به منظور تایید عملکرد PCR، محصولات بر روی ژل آگاروز ۲ درصد الکتروفورز شد.

نتایج حاصل از تکثیر دو نشانگر ژنی matK و rbcl برای دو گونه‌ای گیاهی مورد مطالعه در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است.

رسم درخت فیلوژنی

درخت فیلوژنی بر اساس ساختار maximum likelihood برای توالی‌های مورد بررسی رسم شد. در رسم درخت فیلوژنی توالی‌های بلاست شده دو گونه گیاهی در یک فایل با هم ادغام و برای هر مارکر در یک درخت فیلوژنی نمایش داده شد (نمودارهای ۱ و ۲).

▼ جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر دو ناحیه تکثیر دو نشانگر ژنی matK و rbcl

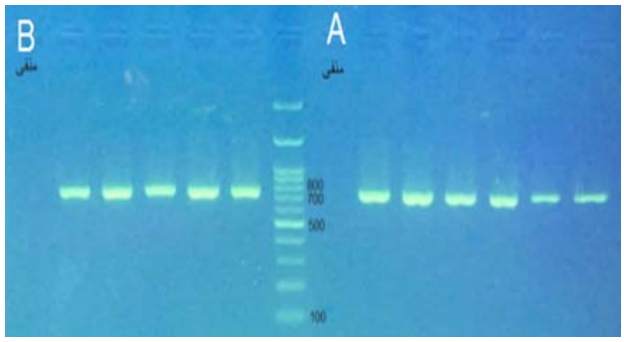
نام پرایمر	توالی پرایمر
matK-F1	5-CCCATTCATCTGGAAATTTTGGTTC-3
matK-R1	5-GGATCCACTGTAATAATGAGAAAGAT-3
rbcl-F1	5-TAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTAC-3
rbcl-R1	5-TTGCGCGGTGGATGTGAAGAAGTAG-3

▼ جدول ۲- مخلوط واکنش PCR

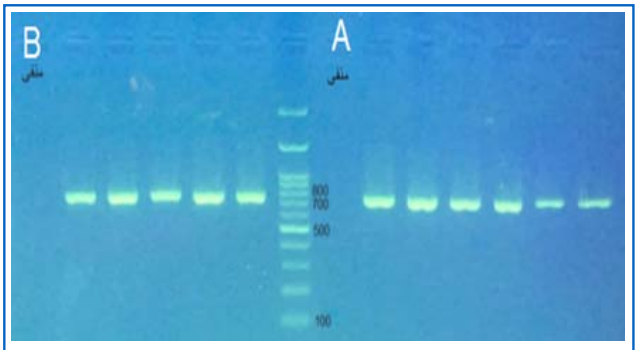
Master mix	10ul
Primer F (Stoke)	0.5 ul
Primer RA or RG (Stoke)	0.5 ul
DNA	2ul-(100ng)
H2O	7ul

▼ جدول ۳- برنامه دمایی درواکنش PCR

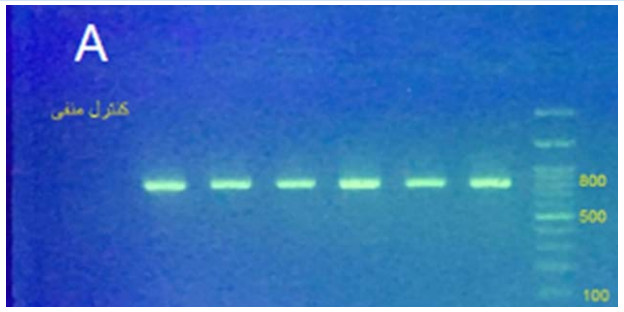
		35 X		
94 C	94 C	54 C	72 C	72 C
5:00	30s	40s	01:00	10:00



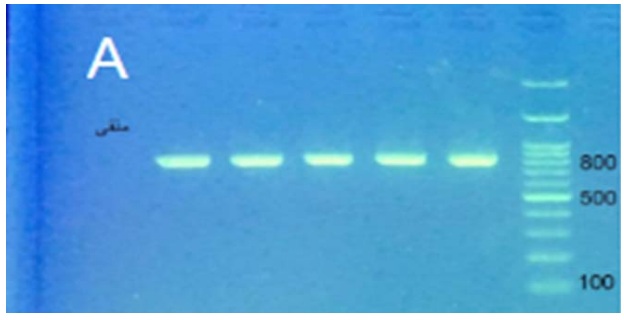
▲ شکل ۱- محصول RCP ناحیه lcbr بر روی ژل آگاروز ۲ درصد. (مربوط به گونه سرو نقره‌ای)



▲ شکل ۲- محصول RCP ناحیه lcbr بر روی ژل آگاروز ۲ درصد. (مربوط به گونه زالزالک)

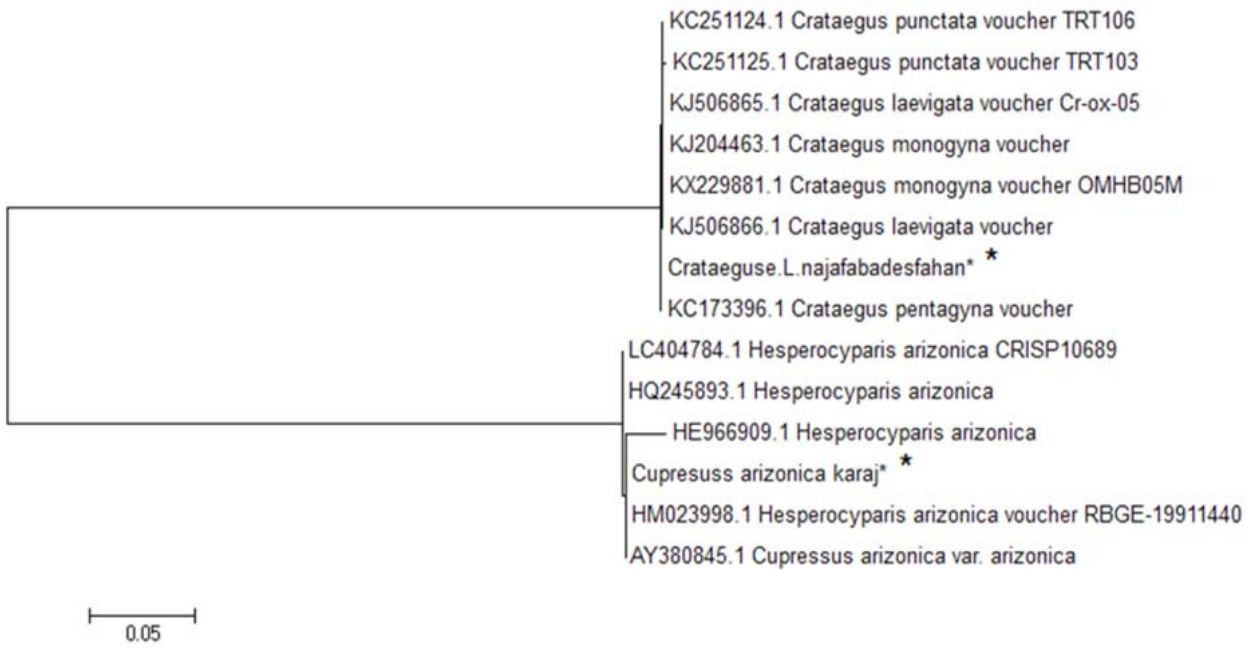


▲ شکل ۳- محصول RCP ناحیه Ktam بر روی ژل آگاروز ۲ درصد تصویر مربوط به الکتروفورز محصول RCP گونه سرو نقره‌ای می‌باشد.

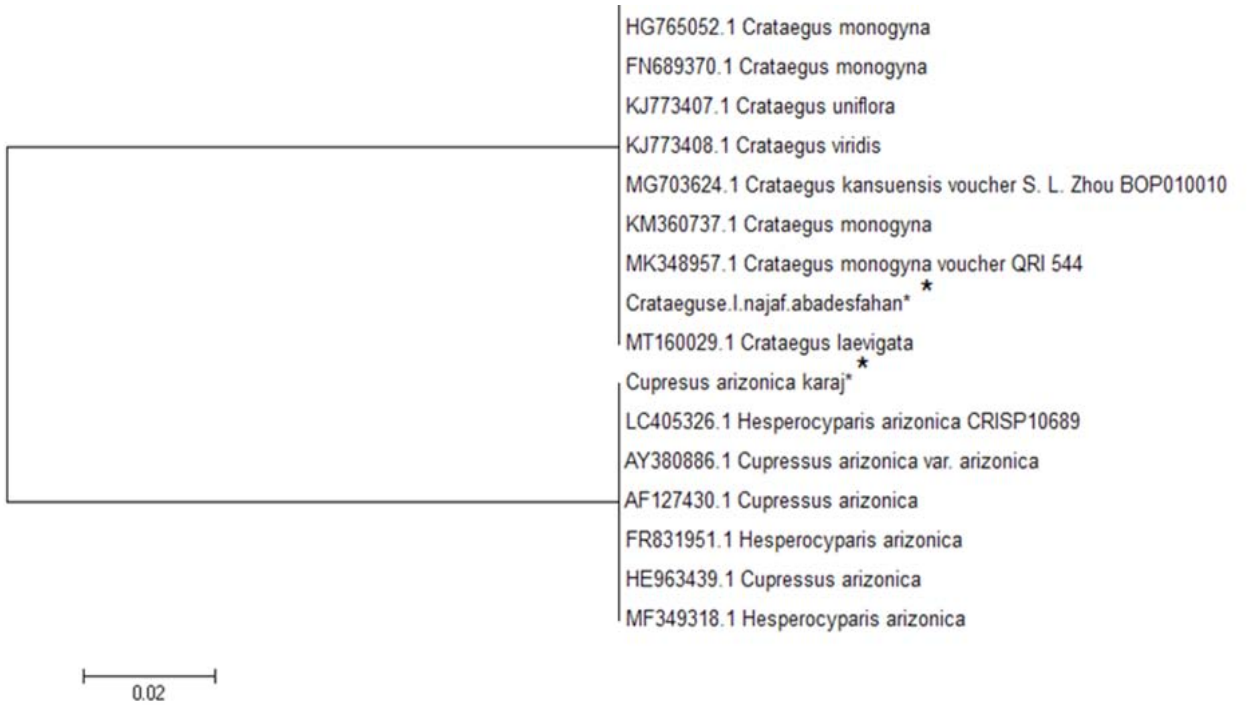


▲ شکل ۴-محصول RCP ناحیه Ktam بر روی ژل آگاروز ۲ درصد تصویر مربوط به الکتروفورز محصول RCP گونه زالزالک است.

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]



▲نمودار ۱-رسم درخت فیلوژنی بر اساس ساختار doohilekil mumixam صورت گرفته است. این درخت بر اساس ناحیه KtaM در هر دوگونه سرو نقره‌ای و زالزالک در یک تست رسم شده است. همان‌طور که در تصویر مشخص است به خوبی دو گونه از هم تفکیک شده اند. دوگونه ستاره دار شده نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش هستند.



▲نمودار ۲- رسم درخت فیلوژنی بر اساس ساختار doohilekil mumixam صورت گرفته است. این درخت بر اساس ناحیه Icbr در هر دوگونه سرو نقره‌ای و زالزالک در یک تست رسم شده است. همان‌طور که در تصویر مشخص است به خوبی دو گونه از هم تفکیک شده اند. دوگونه ستاره داز شده نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش هستند.

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

بحث

در سال‌های اخیر استفاده از علوم مختلف در حوزه جنایی رشد چشمگیری داشته است. پیشرفت علم، گرایش‌های جدیدی را در این حیطه وارد کرده و بررسی مسائل و معماهای جنایی را تا حدود زیادی تسهیل کرده است. یکی از این گرایش‌های جدید که از علوم پایه گیاهی مشتق شده است، گسترش سریع علوم گیاهی و کلیه مواد و بقایای گیاهی موجود در صحنه جرم و نقش آنها در حل مسائل جنایی یا به عبارت دیگر گیاه‌شناسی جنایی می‌باشد. بررسی حاصل از مطالعات انجام شده در زمینه گیاه‌شناسی جنایی نشان می‌دهد که با افزایش دانش محققان جنایی در بخش گیاه‌شناسی، این حوزه می‌تواند به یک ابزار قوی در بررسی پرونده‌های جنایی مربوطه تبدیل شود. استفاده از مارکرهای ژنتیکی از جمله انواع نشانگرهای DNA، از جمله ابزارهایی به شمار می‌روند که در طیف وسیعی از زمینه‌ها از جمله پزشکی قانونی و مبحث گیاه‌شناسی جنایی کاربرد دارند (۲۵-۲۷). به‌طور مثال در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱ توسط استالین و همکارانش بر روی DNA مارکرهای گیاهی انجام شده بود نشان داد که نشانگر rbcL می‌تواند به‌عنوان یک مارکر DNA برای شناسایی گیاهانی که دارای ترکیبات سمی هستند مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه ذکر شده است که از نشانگر ITS2 یا trnH-psbA نیز می‌توان به‌عنوان نشانگر ثانویه برای شناسایی گیاهان سمی استفاده شود. نتایج این مطالعه، توسعه یک روش مولکولی قابل اعتماد برای شناسایی گونه‌های سمی از نمونه‌های استفراغ افرادی که دچار مسمومیت جنایی شده اند را فراهم می‌کند و با توجه به اینکه در نمونه‌های استفراغ مورفولوژی گیاه کاملاً از بین می‌رود با استفاده از DNA بارکدینگ گونه گیاهی تشخیص داده می‌شود که نقش مهمی در بررسی این دسته از پرونده‌های جنایی خواهد داشت(۲۸).

معمولاً در نمونه‌های که به آزمایشگاه جنایی ارسال می‌شوند نمونه‌های خاک چسبیده به لاستیک ماشین یا کف کفش نیز دیده می‌شوند. مواد گیاهی و حشرات بازیافت شده در چنین نمونه‌هایی به ندرت مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند، زیرا شناسایی مورفولوژیکی بقایای گیاهی و جانوری موجود در این نمونه‌ها بخاطر تخریب آنها، بسیار شوار است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۸ توسط کلی و همکارانش بر روی نشانگرهای DNA انجام شده بود دو نشانگر matK و rbcl به‌عنوان دو مارکر برای شناسایی بقایای گیاهی و نشانگر COI را به‌عنوان یک نشانگر در ردیابی و شناسایی بقایای حشرات موجود در این نمونه خاک‌ها معرفی شدند (۱۸).

با توجه به پتانسیل بالقوه‌ای که DNA مارکرهای گیاهی در شناسایی بقایای گیاهی برجای مانده در صحنه جرم دارند، در مطالعه حاضر دو ناحیه matK و rbcl برای دو گونه گیاهی زالزالک و سرو نقره‌ای توسط پرایمرهای طراحی شده تکثیر و نتایج بر روی ژل آگاروز ۲ درصد بررسی شد. کیفیت باندهای حاصل از عمل الکتروفورز بر روی ژل آگاروز و همین‌طور طول قطعات نشان داد که پرایمرها به درستی عمل کرده اند. در مرحله بعد با انتخاب چند نمونه به صورت رندوم، توالی یابی از نمونه‌ها صورت گرفت و همردیفی توالی‌های حاصل از سیکوئینسینگ برای هر ماکر و گونه به صورت جداگانه توسط نرم افزار CLC Genomic workbench، تأیید شد. پس از آن نتایج توسط ابزارهای آنلاین موجود در سایت NCBI بلاست شد. در گام بعدی توالی‌های مشابه با توالی‌های حاصل از این پژوهش توسط نرم افزار MEGA6 آنالیز و درخت فیلوژنی بر اساس ساختار maximum likelihood برای آن رسم شد. در رسم درخت فیلوژنی توالی‌های بلاست شده دو گونه گیاهی در یک فایل با هم ادغام و برای هر مارکر در یک درخت فیلوژنی نمایش داده شد. در نمودار ۱ و ۲ مشخص است که مارکرها، دو گونه گیاهی را به خوبی از هم تفکیک کرده اند. گونه‌های ستاره دار شده توالی‌های حاصل از نمونه‌های مورد آزمایش بودند که به خوبی در رده‌بندی مربوط به خود قرار گرفته اند. نتایج حاصل نشان می‌دهد که مارکرهای matK و rbcl می‌توانند در شناسایی گونه‌های سرو نقره‌ای و زالزالک به‌عنوان یک مارکر در واکنش‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرند. نتایج حاصل هم چنین مشخص می‌نمایند با توجه به اینکه برخی از گیاهان مورد مطالعه در این پژوهش جزوه بقایای گیاهی بودند و مورفولوژی نامشخصی داشتند، با استفاده از ابزارهای مولکولی مطرح شده در این مطالعه ماهیت گیاهان موردنظر شناسایی شد.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که می‌توان با استفاده از نشانگرهای موجود در سطح DNA و ابزارهای مولکولی،

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

بدون توجه به ویژگی‌هـای مورفولوژیک بقایای گیاهی، گونه مورد نظر را شناسـایی کرد و می‌توانند به یک ابزار سودمند و کارامد در بحث کشف جرم مطرح شوند.

تشـکر و قدردانی: نویسـندگان این مقاله از همکاری و حمایت مسـئولین ذیربط در پژوهشـگاه علوم انتظامی تشـکر و قدردانی می‌نمایند. همچنین مقاله حاضر مربوط به پروژه کسر خدمت سجاد بهرامیان در پژوهشگاه علوم انتظامی فراجا است.

تأییدیه اخلاقی: مطالعه حاضر در شـورای پژوهشی پژوهشـگاه علوم انتظامی فراجا تصویب شده است.

تعارض منافع: بدینوسـیله نویسـندگان مقاله تصریح می‌نمایند که هیچگونه تعارض منافعی در قبال مطالعه حاضر وجود ندارد.

سـهم نویسندگان: شیرین جلیلی نویسنده مسئول: طراحی مطالعه، تحلیل داده‌ها و نگارش یافته‌ها و بحث به میزان ۶۰ درصد؛ سجاد بهرامیان نویسنده همکار: جمع‌آوری داده‌ها و نگارش مقدمه به میزان ۴۰ درصد.

منابع مالی: پژوهش حاضر با حمایت مالی پژوهشگاه علوم انتظامی فراجا صورت گرفته است.

References

1. Aquila I, Sacco MA, Ricci P, Gratteri S. The role of forensic botany in reconstructing the dynamics of trauma from high falls. J Forensic Sci. 2019;64(3):920-4. doi: 10.1111/1556-4029.13934.
2. Daeid NN, Hackman L, Spencer MA. Forensic botany: time to embrace natural history collections, large scale environmental data and environmental DNA. Emerg Top Life Sci. 2021;5(3):475-85.
3. Ishak S, Dormontt E, Young JM. Microbiomes in forensic botany: a review. Forensic Sci Med Pathol. 2021;17:297-307. doi: 10.1007/s12024-021-00362-4.
4. Park E, Kim J, Lee H. Plant dna barcoding system for forensic application. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser. 2017;6:e282-3. doi: 10.1016/j.fsigss.2017.09.141.
5. Raje SC, Bhagat DS, Nimbalkar RK, Shejul SK, Bumbrah GS, Sankhla MS. Contributions and Current Trends of Forensic Botany in Crime Scene Investigation. Forensic Sci J. 2022;21(1):1-2.
6. Gafner S, Blumenthal M, Foster S, Cardellina JH, Khan IA, Upton R. Botanical ingredient forensics: Detection of attempts to deceive commonly used analytical methods for authenticating herbal dietary and food ingredients and supplements. J Nat Prod. 2023;30;86(2):460-72. doi: 10.1021/acs.jnatprod.2c00929.
7. Bryant VM, Jones GD. Forensic palynology: Current status of a rarely used technique in the United States of America. Forensic Sci Int. 2006;163(3):183-97. doi: 10.1016/j.forsciint.2005.11.021.
8. Margiotta G, Bacaro G, Carnevali E, Severini S, Bacci M, Gabbrielli M. Forensic botany as a useful tool in the crime scene: Report of a case. J Forensic Leg Med. 2015;34:24-8. doi: 10.1016/j.jflm.2015.05.003.
9. Caccianiga M, Caccia G, Mazzarelli D, Salsarola D, Poppa P, Gaudio D, et al. Common and much less common scenarios in which botany is crucial for forensic pathologist and anthropologists: a series of eight case studies. Int J Legal Med. 2021;135:1067-77. doi: 10.1007/s00414-020-02456-0.
10. Aquila I, Ausania F, Di Nunzio C, Serra A, Boca S, Capelli A, et al. The role of forensic botany in crime scene investigation: case report and review of literature. J Forensic Sci. 2014;59(3):820-4. doi: 10.1111/1556-4029.12401.
11. Paranaiba RT, Carvalho CB, Freitas JM, Fassio LH, Botelho ÉD, Neves DB, 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. doi: 10.1139/gen-2018-0066.
12. Robertson JM, Damaso N, Meiklejohn KA. DNA-Based Analysis of Plant Material in Forensic Investigations. In: Dash HR. Shrivastava P, Lorente JA. (eds) Handbook of DNA Profiling. Springer, Singapore, 2021. doi: 10.1007/978-981-15-9364-2_59-1.
13. Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, DeWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. Proc Biol Sci. 2003;270(1512):313-21. doi: 10.1098/rspb.2002.2218.
14. Rodrigues MS, Morelli KA, Jansen AM. Cytochrome c oxidase subunit 1 gene as a DNA barcode for discriminating Trypanosoma cruzi DTUs and closely related species. Parasit Vectors. 2017;10(1):1-8. doi: 10.1186/s13071-017-2457-1.
15. Hebert PD, Ratnasingham S, De Waard JR. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proc Biol Sci. 2003;270(suppl_1):S96-9. doi: 10.1098/rsbl.2003.0025.
16. Girard EB, Langerak A, Jompa J, Wangensteen OS, Macher JN, Renema W. Mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1: a promising molecular marker for species identification in foraminifera. Front Mar Sci. 2022;9:809659. doi: 10.3389/fmars.2022.809659.

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]

17. Bolson M, Smidt ED, Brotto ML, Silva-Pereira V. ITS and trnH-psbA as efficient DNA barcodes to identify threatened commercial woody angiosperms from southern Brazilian Atlantic rainforests. PloS One. 2015;10(12):e0143049. doi: 10.1371/journal.pone.0143049.
18. Meiklejohn KA, Jackson ML, Stern LA, Robertson JM. A protocol for obtaining DNA barcodes from plant and insect fragments isolated from forensic-type soils. Int J Legal Med. 2018;132:1515-26. doi: 10.1007/s00414-018-1772-1.
19. Graham K, Houston R. Evaluation of chloroplast DNA barcoding markers to individualize Papaver somniferum for forensic intelligence purposes. Int J Legal Med. 2022:1-9. doi: 10.1007/s00414-022-02862-6.
20. Santos C, Pereira F. Identification of plant species using variable length chloroplast DNA sequences. Forensic Sci Int Genet. 2018;36:1-2. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.009.
21. Beigmohamadi M, Rahmani F, Mirzaei L. Study of genetic diversity among crataegus species (hawthorn) using ISSR markers in Northwestern of Iran. Pharm Biomed Res. 2021;7(1):55-62. doi: 10.18502/pbr.v7i1.7357.
22. Shahali Y, Majd A, Tajaddod G, Pourpak Z, Haftlang M, Moein M. Comparative study of the pollen protein contents in two major varieties of Cupressus arizonica planted in Tehran. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2007;6(3):123-7.
23. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Mol Biol Evol. 1993;10(3):512-26.
24. Zoubir AM, Boashash B. The bootstrap and its application in signal processing. IEEE Signal Process. 1998;15(1):56-76. doi: 10.1109/79.647043.
25. Craft KJ, Owens JD, Ashley MV. Application of plant DNA markers in forensic botany: genetic comparison of Quercus evidence leaves to crime scene trees using microsatellites. Forensic Sci Int. 2007;165(1):64-70. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.03.002.
26. Dalton DL, de Bruyn M, Thompson T, Kotzé A. Assessing the utility of DNA barcoding in wildlife forensic cases involving South African antelope. Forensic Sci Int Rep. 2020;2:100071. doi: 10.1016/j.fsir.2020.100071.
27. Mitra I, Roy S, Haque I. Application of molecular markers in wildlife DNA forensic investigations. J Forensic Sci Med. 2018;4(3):156-60.
28. Nithaniyal S, Majumder S, Umapathy S, Parani M. Forensic application of DNA barcoding in the identification of commonly occurring poisonous plants. J Forensic Leg Med. 2021;78:102126. doi: 10.1016/j.jflm.2021.102126.

[Downloaded from sjfm.ir on 2025-06-29]