

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)



Conceitos Básicos da Genética

Atena
Editora
Ano 2019

Benedito Rodrigues da Silva Neto

(Organizador)

Conceitos Básicos da Genética

Atena Editora

2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Geraldo Alves
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.ª Dr.ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)
C744 Conceitos básicos da genética [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos do sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de Acesso: World Wide Web Inclui bibliografia. ISBN 978-85-7247-421-4 DOI 10.22533/at.ed.214192106 1. Genética – Estudo e ensino. 2. Genética e melhoramento. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. CDD 576
Elaborado por Maurício Amormino Júnior CRB6/2422

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Há exatos dezanove anos, mais precisamente na data de 21 de junho de 2000, um dos anúncios mais esperados nos últimos tempos pela comunidade científica era feito: simultaneamente nos Estados Unidos e em Londres o presidente Bill Clinton e o primeiro ministro Tony Blair divulgaram, o que segundo eles seria uma nova era para a humanidade, o sequenciamento do genoma humano. O “rascunho da vida” como denominaram traria novas expectativas quanto à doenças incuráveis, desafios éticos, novas propostas tecnológicas para a pesquisa, mas principalmente uma acessibilidade muito maior ao conceito de genética para a população.

Desde então uma revolução molecular pôde ser observada, novos conceitos adentraram às salas de aula, novos equipamentos evoluíram os laboratórios de pesquisa, novos e milhares de artigos passaram a publicar quase que “em tempo real” as descobertas no campo ambiental, microbiológico, industrial e da saúde. Podemos dizer também que a genética chegou como nunca às mesas das famílias, deixando de ser um assunto apenas dos cientistas.

Portanto a literatura aqui apresentada e intitulada “Conceitos básicos da genética” torna-se relevante não apenas por abordar assuntos relativos à comunidade acadêmica, mas principalmente por demonstrar a diversidade de áreas que hoje utilizam das ferramentas genéticas e moleculares em seus estudos que estão diretamente relacionados ao dia-a-dia da população.

Cada vez mais, o acelerado mundo das descobertas científicas caminha a passos largos e rápidos no sentido de transformar a pesquisa básica em aplicada, portanto é relevante destacar que investimentos e esforços nessa área contribuem grandemente com o desenvolvimento de uma nação. A genética como sabemos possui um campo vasto de aplicabilidades que podem colaborar e cooperar grandemente com os avanços científicos e tecnológicos.

Esperamos que seja apenas o primeiro de muitos outros livros na área, já que a cada dia novas tecnologias genéticas tornam-se acessíveis e novas descobertas são possíveis. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que as novas gerações se interessem cada vez mais pelo ensino e pesquisa em genética.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
FERRAMENTAS GENÔMICAS E GEOGRÁFICAS PARA AVALIAR A DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES SUÍNAS	
<i>Elizabete Cristina da Silva</i>	
<i>Samuel Rezende Paiva</i>	
<i>Concepta Margaret McManus Pimentel</i>	
<i>Victor Huço de Vasconcelos Calado</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2141921061	
CAPÍTULO 2	12
A ABORDAGEM DE GENÉTICA SOB O OLHAR DOS DISCENTES DE ENFERMAGEM DE UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO SEMIPRESENCIAL NO MUNICÍPIO DE ANANINDEUA, ESTADO DO PARÁ	
<i>Letícia Gomes de Oliveira</i>	
<i>Maria Josilene Castro de Freitas</i>	
<i>Brena Yasmim Barata Nascimento</i>	
<i>Shirlene de Nazaré Costa da Silva</i>	
<i>Leandro Neves da Silva Costa</i>	
<i>Dolanno Ferreira Alves</i>	
<i>Adan Rodrigues de Oliveira</i>	
<i>Joycianne Rodrigues Parente</i>	
<i>Karina Guedes Lima</i>	
<i>Abigail das Mercês do Vale Batista</i>	
<i>Dayara de Nazaré Rosa de Carvalho</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2141921062	
CAPÍTULO 3	17
A GENÉTICA TOXICOLÓGICA E O BIOENSAIO <i>Allium cepa</i>	
<i>Schirley Costalonga</i>	
<i>Maria do Carmo Pimentel Batitucci</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2141921063	
CAPÍTULO 4	25
ANÁLISES GENÉTICAS NÃO INVASIVAS E SUA CONTRIBUIÇÃO PARA A GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO DE FELINOS BRASILEIROS	
<i>Andiara Silos Moraes de Castro Souza</i>	
<i>Bruno Henrique Saranholi</i>	
<i>Pedro Manoel Galetti Jr</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2141921064	
CAPÍTULO 5	40
AVALIAÇÃO DA DISCIPLINA DE GENÉTICA HUMANA FRENTE ÀS DIRETRIZES CURRICULARES NACIONAIS PARA O CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA	
<i>Sulyanne Saraiva de Almeida</i>	
<i>Alcivan Batista de Moraes Filho</i>	
<i>João Paulo da Silva Liberalino</i>	
<i>Sandy Albuquerque Silveira</i>	
<i>Bruna Prado de Oliveira</i>	
<i>Thales Allyrio Araújo de Medeiros Fernandes</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2141921065	

CAPÍTULO 6 54

CITOGENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE DO SULFATO DE COBRE EM DIFERENTES VARIEDADES DE *allium cepa* LINN

Júlio Brando Messias
Rosanne Lopes de Brito
Gerusa Tomaz de Aquino Beltrão
Inalda Maria de Oliveira Messias
Mônica Simões Florêncio
Betty Rose de Araújo Luz
Sura Wanessa Nogueira Santos Rocha
Mércia Cristina de Magalhães Caraciolo
João Ferreira da Silva Filho

DOI 10.22533/at.ed.2141921066

CAPÍTULO 7 65

COMO SURGEM NOVAS ENZIMAS? EVOLUÇÃO MOLECULAR DE NOVAS CÓPIAS GÊNICAS NA SUPERFAMÍLIA DAS RODANASES EM DIPTERA

Luana Sousa Soares
Iderval da Silva Júnior Sobrinho

DOI 10.22533/at.ed.2141921067

CAPÍTULO 8 83

DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794) REVELA DIFERENTES LINHAGENS EM BACIAS MARANHENSES

Walna Micaelle de Moraes Pires
Maria Claudene Barros
Elmary da Costa Fraga

DOI 10.22533/at.ed.2141921068

CAPÍTULO 9 98

DNA BARCODING CONFIRMA A OCORRÊNCIA DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS NA ICTIOFAUNA DO RIO TURIAÇU, MARANHÃO/BRASIL

Bruno Rafael da Silva Teixeira
Maria Claudene Barros
Elmary da Costa Fraga

DOI 10.22533/at.ed.2141921069

CAPÍTULO 10 111

EVALUATION OF HETEROLOGOUS PROTEIN EXPRESSION AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF MGSO₄ AND IPTG IN ESCHERICHIA COLI W110

Yago Queiroz dos Santos
Gabriella Silva Campos Carelli
Bruno Oliveira de Veras
Joelton Igor Oliveira da Cruz
Geovanna Maria Medeiros Moura
Antônio Moreira Marques Neto
Anderson Felipe Jácome de França

DOI 10.22533/at.ed.21419210610

CAPÍTULO 11 119

ANÁLISE DA IMPORTANCIA DE ESTUDOS DO GENE MDR1 E SEU PAPEL NO DESENVOLVIMENTO DE MULTIRESISTENCIA A FÁRMACOS PARA TRATAMENTO DE CANDIDÍASE

Lucas Lopes Lima
Benedito R. Da Silva Neto

DOI 10.22533/at.ed.21419210611

CAPÍTULO 12 128

EVALUATION OF PLASMA MIRNAS FOR EARLY DIAGNOSIS OF BREAST CANCER

Alexis Germán Murillo Carrasco
Stefano Giannoni Luza
Oscar Acosta Conchucos
José Manuel Cotrina Concha
Alfredo Aguilar Cartagena
Lia Pamela Rebaza Vásquez
Ricardo Miguel Fujita Alarcón
José Luis Buleje Sono

DOI 10.22533/at.ed.21419210612

CAPÍTULO 13 139

POLIMORFISMO DO GENE GOLA-DRB.2 EM REBANHOS CAPRINOS LEITEIROS

Luciana Florêncio Vilaça Lopes
Elizabete Cristina da Silva
Elizabete Rodrigues da Silva
Severino Benone Paes Barbosa
Ângela Maria Vieira Batista
Kleber Régis Santoro

DOI 10.22533/at.ed.21419210613

CAPÍTULO 14 151

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PEIXES DA APA DO INHAMUM, LESTE MARANHENSE, BRASIL

Renato Corrêa Lima;
Marcelo Silva de Almeida;
Maria Claudene Barros;
Elmary da Costa Fraga;

DOI 10.22533/at.ed.21419210614

CAPÍTULO 15 169

MIRNAS: UMA CLASSE DE PEQUENOS RNAs REGULATÓRIOS

Juliana Santana de Curcio
Kleber Santiago Freitas e Silva
Lívia do Carmo Silva
Amanda Alves de Oliveira
Thaynara Gonzaga Santos
Lucas Weba Soares

DOI 10.22533/at.ed.21419210615

CAPÍTULO 16	179
O CICLO CELULAR E SEUS MECANISMOS DE CONTROLE: UMA REVISÃO	
<i>Schirley Costalonga</i>	
<i>Maria do Carmo Pimentel Batitucci</i>	
DOI 10.22533/at.ed.21419210616	
CAPÍTULO 17	191
OSTEOSSARCOMA PEDIÁTRICO	
<i>Natália Paiva do Nascimento</i>	
<i>Thauanna Alves Meira</i>	
<i>Mariana Camargo Maschietto</i>	
DOI 10.22533/at.ed.21419210617	
CAPÍTULO 18	202
PHYLOGENETIC ANALYSIS AND IDENTIFICATION OF A CELLULASE PRODUCING BACILLUS SP. STRAIN BY 16S RRNA SEQUENCING	
<i>Yago Queiroz dos Santos</i>	
<i>Anderson Felipe Jácome de França</i>	
<i>Bruno Oliveira de Veras</i>	
<i>Gabriella Silva Campos Carelli</i>	
<i>Geovanna Maria Medeiros Moura</i>	
<i>Joelton Igor Oliveira da Cruz</i>	
<i>Fernanda Granja da Silva Oliveira</i>	
<i>João Ricardhis Saturnino de Oliveira</i>	
<i>Luciclaudio Cassimiro de Amorim</i>	
<i>Elizeu Antunes dos Santos</i>	
DOI 10.22533/at.ed.21419210618	
CAPÍTULO 19	210
POLIMORFISMOS GENÉTICOS E DOENÇAS HUMANAS NA ERA DA BIOINFORMÁTICA	
<i>Kleber Santiago Freitas e Silva</i>	
<i>Juliana Santana de Curcio</i>	
<i>Lucas Weba Soares</i>	
<i>Lívia do Carmo Silva</i>	
<i>Amanda Alves de Oliveira</i>	
<i>Thaynara Gonzaga Santos</i>	
DOI 10.22533/at.ed.21419210619	
CAPÍTULO 20	226
QUIMIOPROTEÔMICA: DESCOBRINDO MOLÉCULAS BIOATIVAS E SEUS ALVOS	
<i>Lívia do Carmo Silva</i>	
<i>Kleber Santiago Freitas e Silva</i>	
<i>Juliana Santana De Curcio</i>	
<i>Lucas Weba Soares</i>	
DOI 10.22533/at.ed.21419210620	
SOBRE O ORGANIZADOR	240

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PEIXES DA APA DO INHAMUM, LESTE MARANHENSE, BRASIL

Renato Corrêia Lima;

Universidade Estadual do Maranhão (CESC/UEMA), Departamento de Química e Biologia, Caxias-MA.

Marcelo Silva de Almeida;

Universidade Estadual do Maranhão (CESC/UEMA), Departamento de Química e Biologia, Caxias-MA.

Maria Claudene Barros;

Universidade Estadual do Maranhão (CESC/UEMA), Departamento de Química e Biologia, Caxias-MA.

Elmary da Costa Fraga;

Universidade Estadual do Maranhão (CESC/UEMA), Departamento de Química e Biologia, Caxias-MA.

RESUMO: O DNA *barcode* vem sendo utilizado como método auxiliar na identificação de espécies. Além do gene COI, o gene mitocondrial rRNA16S, também tem se revelado como um bom marcador na diferenciação de peixes. Neste trabalho, objetivou-se realizar a identificação e caracterização genética das espécies de peixes da Área de Proteção Ambiental (APA) Municipal do Inhamum, a partir de sequências dos genes COI e rRNA 16S. Para a coleta foram utilizados vários apetrechos de pesca e os espécimes coletados foram identificados com auxílio de literatura específica e confirmados por especialista. O DNA dos espécimes foi extraído

usando o kit da Promega e os fragmentos dos genes mitocondriais COI e rRNA 16S foram amplificados através da técnica de PCR. Os produtos das PCRs foram purificados e sequenciados em sequenciador automático de DNA. Foram coletados 440 espécimes dos quais obteve-se 72 sequências do gene COI e 74 do gene rRNA 16S identificadas em seis ordens, 10 famílias e 15 espécies. Dentre essas espécies, *Megalechis thoracata* caracteriza um novo registro para a bacia do rio Itapecuru. A árvore filogenética para o gene COI evidenciou 16 clados coespecíficos fortemente suportados com 100% de *bootstrap*. A reconstrução filogenética gerada a partir do gene rRNA 16S, evidenciou a ocorrência de 15 clados. A maioria dos clados correspondem a uma única espécie, entretanto, as sequências de *Gymnotus carapo* e *Hemigrammus guyanensis* formaram cada uma, dois clados fortemente agrupados com 99% de *bootstrap*. Portanto, esse trabalho representa, além da caracterização genética dos peixes dessa APA, uma extensão a extensão de distribuição de *M. thoracata*, pois agora sabe-se de sua ocorrência na bacia do rio Itapecuru.

PALAVRAS – CHAVE: DNA mitocondrial, COI, rRNA 16S, *Megalechis thoracata*

ABSTRACT: DNA barcode has been used as an auxiliary method to identify species. In

addition to the COI gene, the mitochondrial gene rRNA16S, has also been shown to be a good marker in fish differentiation. The objective of this work was to identify and characterize the fish species of the Inhamum Municipal Environmental Protection Area (APA), based on sequences of the COI and 16S rRNA genes. For the collection, several fishing tools were used and the specimens collected were identified with the aid of specific literature and confirmed by specialists. The DNA of the specimens was extracted using the Promega kit and the fragments of the mitochondrial genes COI and 16S rRNA were amplified by the PCR technique. PCR products were purified and sequenced in an automated DNA sequencer. A total of 440 specimens were collected from which 72 sequences of the COI gene and 74 of the 16S rRNA gene were identified in six orders, 10 families and 15 species. Among these species, *Megalechis thoracata* characterizes a new record for the Itapecuru river basin. The phylogenetic tree for the COI gene evidenced 16 heavily supported co-specific clades with 100% bootstrap. The phylogenetic reconstruction generated from the 16S rRNA gene, evidenced the occurrence of 15 clades. Most clades correspond to a single species, however, the sequences of *G. carapo* and *Hemigrammus guyanensis* formed each, two clades strongly grouped with 99% bootstrap. Therefore, this work represents, in addition to the genetic characterization of the fish in this APA, an extension of the distribution of *M. thoracata*, since it is now known to occur in the Itapecuru river basin.

KEYWORDS: Mitochondrial DNA, COI, rRNA 16S, *Megalechis thoracata*

1 | INTRODUÇÃO

A identificação correta de espécies constitui uma etapa primordial para o êxito de qualquer programa de manejo e conservação quando se leva em conta que as espécies constituem a unidade básica de comparação na biologia, desde estudos de anatomia, até aqueles de comportamento, desenvolvimento, ecologia, evolução, genética, biologia molecular, paleontologia, fisiologia, sistemática, entre outros (DE QUEIROZ, 2005).

No intuito de realizar identificação de espécies, genes do DNA mitocondrial têm sido constantemente utilizados como ferramentas auxiliares à taxonomia clássica na resolução de problemas de identificação. Dentre esses genes, o que obteve maior destaque na identificação de espécies animais na última década foi o Citocromo Oxidase subunidade I (COI ou Cox1), cujo um curto fragmento de 648 nucleotídeos da extremidade 5' fora eleito como o código de barras de DNA (DNA *barcode*) (HEBERT et al., 2003a; 2003b). Este se baseia na suposição que a variação interespecífica é maior que a variação intraespecífica (“DNA *barcoding gap*”) (MEYER e PAULAY, 2005).

Paralelamente, em meio a grande exploração do DNA mitocondrial em estudos taxonômicos de peixes, o gene mitocondrial rRNA 16S também se revelou um bom marcador na diferenciação para esse grupo, como estudos com o objetivo de elucidar relações filogenéticas entre Mugiliformes (FRAGA et al., 2007).

Os peixes de água doce da região neotropical estão compreendidos em mais de 5.600 espécies catalogadas, estima-se, no entanto, que o total exceda 7.000 (CARVALHO e ALBERT, 2011). Uma parte substancial da biodiversidade neotropical permanece desconhecida, isso é considerado um problema para a conservação biológica, pois entende-se que seja um impedimento taxonômico. Propostas para amenizar esse problema inclui abordagens como a taxonomia integrativa (DAYRAT, 2005) e “turbo-taxonômico” (RIEDEL et al., 2013) nas quais a identificação baseada no DNA atrela-se à descrição morfológica e imagens de alta resolução (PUGEDO et al., 2016).

O presente estudo contribui na identificação da ictiofauna da bacia do rio Itapecuru, tendo em vista que foca em riachos tributários dessa bacia e, sobretudo pela adição de um novo registro, *Megalechis thoracata* (VALENCIENNES, 1840). Dessa forma, agrega conhecimento ao trabalho de Nascimento et al. (2016), os quais identificaram a fauna de peixe do curso principal desse rio via DNA *barcode*.

Portanto, o reconhecimento preciso das espécies de peixes da APA do Inhamum é de importância impar para a preservação de sua ictiofauna, pois, produz informações que poderão futuramente servir como um subsídio indispensável. E para isso objetivou-se identificar e caracterizar geneticamente, por meio de sequências de COI (DNA *barcoding*) e rRNA 16S, a ictiofauna da APA do Inhamum e gerar dados que contribuam para futuros programas de manejo e preservação.

2 | AMOSTRAGEM

A APA do Inhamum está localizada à margem esquerda da BR-316, no sentido de Caxias/MA à São Luís/MA, aproximadamente 2 km do perímetro urbano de Caxias/MA, entre as coordenadas 04° 53' 30" de latitude S e 43° 24' 53" de longitude W (FERNANDES et al., 2007) (Figura 1).

A área do Inhamum faz parte do patrimônio municipal que, pela Lei nº 1.464/2001, foi modificada em Área de Proteção Ambiental detentora de cerca de 3500 hectares. Essa região apresenta dois tipos de vegetações: uma vegetação graminosa em área plana, característica de cerradões ou chapadas e outra vegetação de árvores e arbustos e uma depressão com árvores de grande porte e buritizais agregado ao curso de água, designando o que se chama brejo (ALBUQUERQUE, 2012).

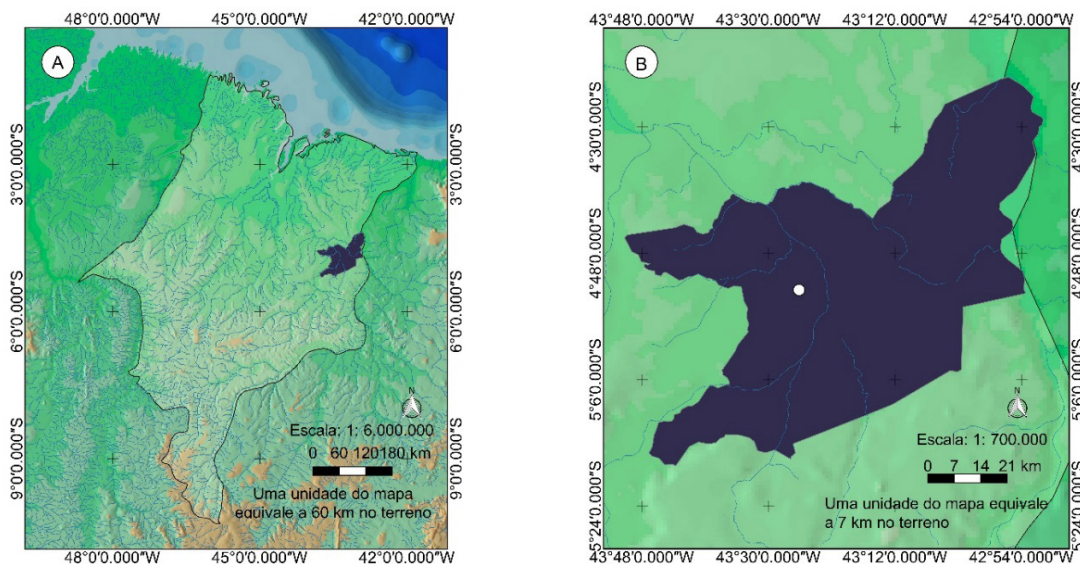


Figura 1. Mapa do Maranhão evidenciando em azul escuro o município de Caxias/MA (A). Mapa de Caxias evidenciando com um ponto branco a localização aproximada da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum (B).

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa Quantum Gis 2.8.7.

As coletas foram realizadas de 2011 a 2017 na APA do Inhamum. Para tanto, foram utilizados apetrechos de pesca como puçás, peneira redondas de arame e redes de armação de cano PVC (*Policloreto de polivinila*) (OYAKAWA et al., 2006). Foram escolhidos principalmente três igarapés da APA do Inhamum chamados de Igarapé Soledade, Igarapé Inhamum e Igarapé Sumidouro do Padre (Tabela 1 e Figura 2). Esses três igarapés foram escolhidos por apresentarem condições mais adequadas de captura de peixes, além de nos fornecerem uma boa representatividade da ictiofauna da APA do Inhamum.

Ponto de amostragem	Coordenadas	Figura
Igarapé Soledade (Ponte Inhamum)	4°53'27.1" S, 43°24'54.1" W	3A
Igarapé Soledade	4°53'26.9" S, 43°25'10.0" W	3B
Igarapé Inhamum	4°53'47.0" S, 43°25'23.0" W	3C
Igarapé Sumidouro do Padre	4°53'28.6" S, 43°25'37.8" W	3D

Tabela 1. Coordenadas geográficas dos pontos coleta de peixes na Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum relacionadas às suas respectivas figuras.

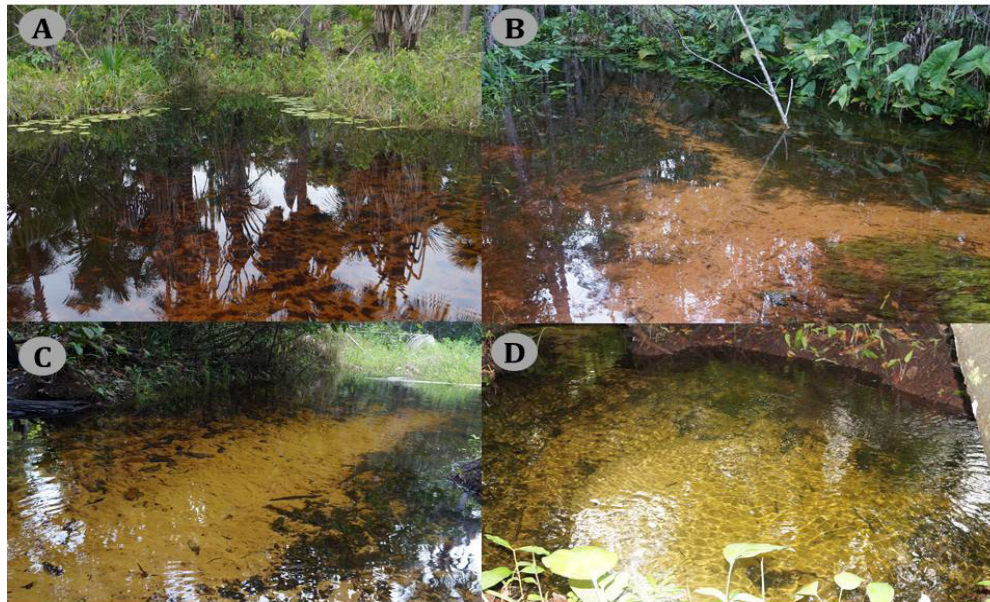


Figura 2. Igarapés onde foram coletados os peixes na Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum em Caxias, Maranhão: (A/B) Igarapé Soledade, (C) Igarapé Inhamum, (D) Igarapé Sumidouro do Padre.

As amostras foram levadas para o laboratório de Genética e Biologia Molecular (GENBIMOL) no Centro de Estudos Superiores de Caxias da Universidade Estadual do Maranhão (CESC/UEMA), onde foi realizada a identificação taxonômica com o auxílio de literatura específica (BRITSKI et al., 1999; SOARES, 2005; OYAKAWA et al., 2006) e, posteriormente, foi confirmada por especialista. A conservação dos exemplares foi feita em via úmida, colocando-os em formalina por 48 horas e depois transferindo-os para álcool à 70%. Pelo menos cinco espécimes de cada um dos táxons identificados e seus testemunhos foram depositados na coleção Zoológica do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo/MZUSP e Museu de Zoologia da Universidade de Londrina/MUZEL (*vouchers* determinados) e o restante dos espécimes foram depositados no GENBIMOL. As coletas das amostras biológicas foram autorizadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis (IBAMA) através da licença de número 02012.004159/2006.

2.1 Análise Genética

O DNA total foi extraído pelo manuseio do kit Wizard Genomic DNA Purification da Promega seguindo as instruções do fabricante. O isolamento e amplificação das regiões genômicas mitocondriais (COI e rRNA 16S), a partir do DNA total, foi realizada através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na qual foi utilizada a combinação de *primers* e condições específicas em Ward et al. (2005) para o gene COI e em Palumbi et al. (2002) para o gene rRNA 16S. As amostras de PCR foram submetidas à visualização em gel de agarose a 1%, corado com Neotaq Brilliant Green Plus DNA Stain, através de luz ultravioleta (UV), para observação da amplificação

dos fragmentos dos genes analisados. Os produtos de PCR foram purificados com a enzima ExoSAP-IT conforme recomendações do fabricante e submetidos à reação de sequenciamento de DNA segundo o método de Sanger et al. (1977).

As reações de sequenciamento foram realizadas nos termocicladores da Life Technologies, applied biosystems, 2720 Thermal Cycler e Veriti 96 Well Thermal Cycler com o seguinte programa: uma desnaturação inicial de 96°C por 60 segundos, 35 ciclos de 96°C por 15 segundos, 50°C por 15 segundos e 60°C por quatro minutos. Após a reação de sequência, as amostras foram precipitadas para retirada do excesso de reagentes não incorporados. As sequências, tanto do gene COI como do gene rRNA 16S, foram alinhadas pelo método Clustal W do programa Bioedit (HALL, 1999). O programa MEGA 7.0 (KUMAR et al., 2016) foi utilizado para gerar as árvores filogenéticas e matrizes de distâncias genéticas por meio do método de agrupamento de vizinhos (NJ) (SAITOU e NEI, 1987) e o modelo de distância de Kimura-2-Parâmetros (K2P). A significância dos agrupamentos foi estimada pela análise de *bootstrap* (1000 pseudoréplicas) (FELSENSTEIN, 1985).

A identificação molecular (gene COI) foi realizada por comparação das sequências do presente estudo e sequências depositadas na plataforma bioinformática BOLD Systems v4 (BOLD) (<http://v4.boldsystems.org/>) (RATNASINGHAM e HEBERT, 2007). Plataforma na qual foram depositas as sequências do gene COI obtidas no presente trabalho sob os códigos RENA001-16 até RENA070-16.

3 | RESULTADOS

3.2 Amostras obtidas

Foram coletados 440 espécimes dos quais obteve-se 72 sequências do gene COI e 74 do gene rRNA 16S identificadas em seis ordens, 10 famílias e 15 espécies (Tabela 2). Dentre essas espécies, *M. thoracata* caracteriza um novo registro para a bacia do rio Itapecuru.

Ordem	Família	Voucher	Espécie	COI	16S
Characiformes	Erythrinidae	MZUEL 10444	<i>Hoplias malabaricus</i> (Bloch, 1794)	8	5
	Characidae	MZUSP 110829	<i>Bryconops</i> sp.	6	7
		MZUEL 10449	<i>Hemigrammus guyanensis</i> Géry, 1959	3	20
	Lebiasinidae	MZUEL 10441	<i>Nannostomus beckfordi</i> Günther, 1872	7	7
Siluriformes	Heptapteridae	MZUSP 110827	<i>Pimelodella</i> sp.	7	5
	Callichthyidae	MZUEL 10448	<i>Callichthys callichthys</i> (Linnaeus, 1758)	1	1
		MZUEL 15410	<i>Megalechis thoracata</i> (Valenciennes, 1840)	1	-
Gymnotiformes	Gymnotidae	MZUEL 10443	<i>Gymnotus carapo</i> Linnaeus, 1758	7	7

	Sternopygidae	MZUSP 104554	<i>Sternopygus macrurus</i> (Bloch & Schneider, 1801)	5	2
Perciformes	Cichlidae	MZUSP 110828	<i>Apistogramma</i> sp.	8	6
		MZUEL 10445	<i>Aequidens tetramerus</i> (Heckel, 1840)	3	2
		MZUSP 110826	<i>Crenicichla menezesi</i> Ploeg, 1991	6	6
		MZUEL 15411	<i>Cichlasoma orientale</i> Kullander, 1983	3	-
Cyprinodontiformes	Rivulidae	MZUEL 10442	<i>Rivulus</i> sp.	6	5
Synbranchiformes	Synbranchiidae	MZUSP 10825	<i>Synbranchus marmoratus</i> Bloch, 1795	1	1
6	10		15	72	74

Tabela 2. Número de sequências dos genes COI e rRNA 16S de cada táxon geradas a partir das amostras de peixes da APA do Inhamum, e os números dos vouchers determinados

3.3 Novo registro de *M. thoracata* (Siluriformes, Callichthyidae) para a bacia do rio Itapecuru

Megalechis é distinto de outros gêneros de Callichthyinae por reunir características exclusivas: ossos infraorbitais expostos (vs. coberto por camada espessa de pele), nadadeira caudal truncada ou convexa (vs. bifurcada ou côncava) e presença de dois raios não ramificados na nadadeira dorsal (vs. um) (REIS et al., 2005).

O gênero *Megalechis* atualmente inclui duas espécies válidas, *Megalechis picta* (Müller e Troschel, 1849), das bacias dos rios Amazonas, Orinoco e Essequibo, e também de rios costeiros do nordeste brasileiro, e *Megalechis thoracata* (Valenciennes, 1840), da bacia dos rios Amazonas e Orinoco, além de drenagens costeiras das Guianas e nordeste do Brasil (REIS et al., 2005). *M. thoracata* pode ser distinguido de *M. picta* pelo menor espinho na nadadeira dorsal, geralmente maior número de raios na nadadeira anal (seis, raramente cinco vs. cinco, raramente quatro) e principalmente pelo padrão de coloração da nadadeira (REIS et al., 2005).

M. thoracata apresenta uma banda esbranquiçada na base da nadadeira caudal e a parte restante é escura ou com manchas pretas, enquanto que *M. picta* apresenta a base da nadadeira caudal enegrecida, com notáveis barras escuras nas bordas medias e distais também enegrecidas, as regiões entre as bandas enegrecidas são visivelmente amarelas claras (TENCATT et al., 2013).

O diagnóstico morfológico do espécime de *M. thoracata* coletado no presente estudo (Figura 3) foi confirmado por dados moleculares ao se depositar sequência do gene COI de *M. thoracata* na plataforma BOLD (RENA002-16) a qual mostrou similaridade de 99.06% com outras sequências de *M. thoracata*. Esse percentual de similaridade está dentro do limite coespecífico (HEBERT et al., 2003a). Por meio da análise de um único espécime coletado na APA do Inhamum, em um igarapé tributário da bacia do Rio Itapecuru, estendeu-se a distribuição dessa espécie para a bacia do



Figura 3. *Megalechis thoracata* (MZUEL 15410, barra de escala = 2 cm).

3.4 Análises genéticas de sequências do gene COI

O valor médio de distância genética intraespecífica encontrada no presente trabalho é de 0,55%, com a grande maioria das espécies apresentando valores inferiores a 1% (84,6%) (Tabela 3). Não foi possível obter valores de distância dentro de gênero no presente trabalho, porque nenhum desses gêneros possui mais que uma espécie. O valor médio de divergência dentro das famílias foi de 16,7% (Tabela 3).

A matriz de médias de divergências genéticas obtidas a partir de sequências do gene COI mostrou que as espécies mais proximamente relacionadas foram *Cichlasoma orientale* e *Aequidens tetramerus*, pertencentes à mesma família (Cichlidae) as quais tiveram 13,1% de divergência genética. Por outro lado, as espécies mais distantemente relacionadas foram *Crenicichla menezesi* e *Callichthys callichthys*, estas tiveram 33,7% de divergência genética (Tabela 4). Essa tabela mostra também que *Gymnotus carapo* apresentou maior índice de divergência genética intraespecífica com 3,6%.

Nível	N	Taxón	Min Dist(%)	Média Dist(%)	Max Dist(%)
Dentro de espécie	64	12	0,00	0,55	3,6
Dentro de família	29	3	11,7	16,7	19,9

Tabela 3. Médias de distâncias genéticas K2P coespecíficas e dentro das famílias dos peixes da APA do Inhamum a partir de sequências do gene COI.

Min Dist = distância mínima; Média Dist = distância média; Max Dist = distância máxima.

Táxons	Médias de divergência genética (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 - <i>Callichthys callichthys</i>	n/c														

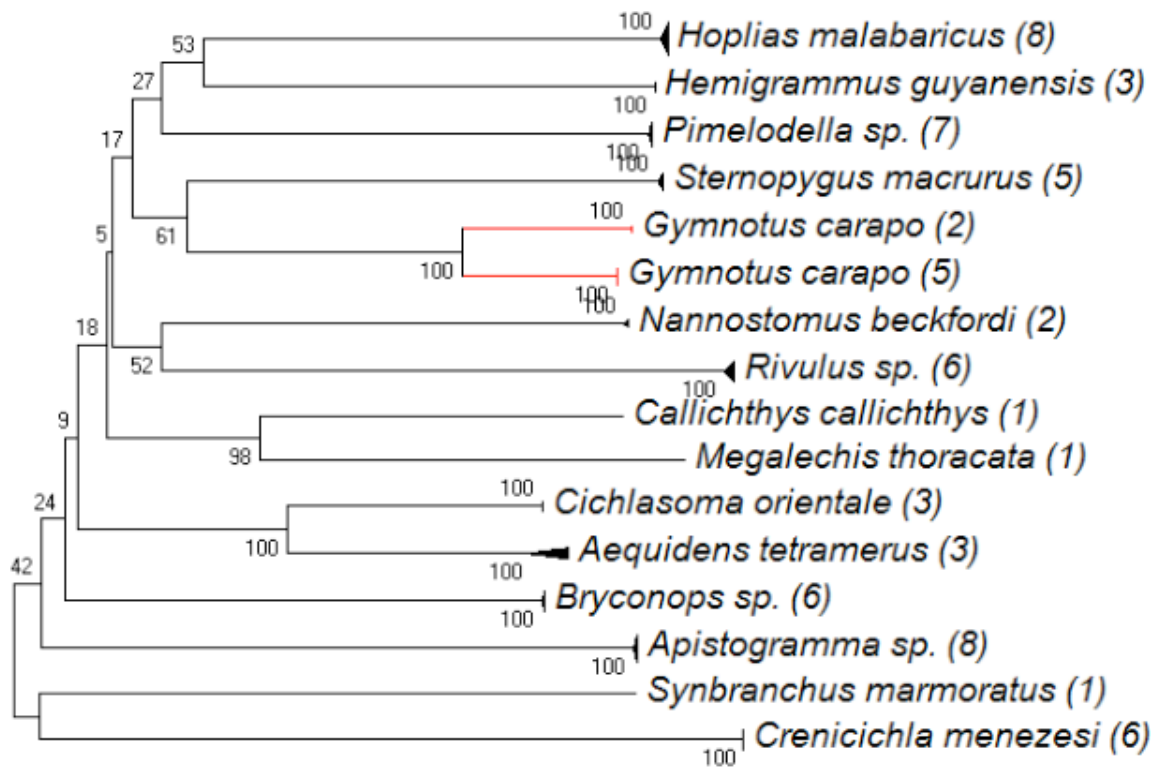


Figura 4. Árvore filogenética resumida utilizando sequências do gene COI, algoritmo K2P e método de agrupamento de vizinho (NJ) dos peixes da APA do Inhamum. Os números entre parênteses representam o número de sequências obtidas de cada espécie. Em vermelho, está destacado um problema de identificação.

3.5 Identificação Molecular Realizada na Plataforma BOLD

As porcentagens de similaridade consideradas neste item foram aquelas oriundas de comparações entre sequências de trabalhos de outros autores com as sequências obtidas no presente trabalho, pois, logicamente, as comparações entre somente as sequências da APA do Inhamum sempre resultam em similaridades de 100%. Além disso, apenas as similaridades iguais ou acima de 97% foram expostas, porque indicam tratar-se de uma unidade genética. As espécies que não são mencionadas não obtiveram similaridades iguais ou superiores a 97% em relação as sequencias depositadas na plataforma BOLD.

Diante das comparações entre as sequências do presente trabalho e as sequências depositadas na plataforma BOLD por outros autores, observou-se que a identificação molecular corrobora com a identificação morfológica para as espécies *Hoplias malabaricus*, *Gymnotus carapo*, *Aequidens tetramerus*, *Callichthys callichthys* e *M. thoracata* com similaridades genéticas de 97,64%, 99,37%, 98,41%, 99,50% e 99,06%, respectivamente (Tabela 5). O DNA *barcode* indicou os epítetos específicos de *Bryconops affinis* e *Pimelodella vittata* com percentuais de similaridade genética de 99,21 e 99,37, respectivamente. Nas análises morfológicas, essas duas espécies tinham sido identificadas somente até gênero. As amostras de *G. carapo* demonstraram similaridade acima de 97% com *Gymnotus chaviro*, *Gymnotus pantanal* e *G. carapo* (Tabela 5).

Morfológica	Molecular	Similaridade (%)	RN
<i>H. malabaricus</i>	<i>H. malabaricus</i>	97,64	*
<i>G. carapo</i>	<i>G. carapo</i> / <i>G. chaviro</i> / <i>G. pantanal</i>	99,37/97,83/ 97,8	**
<i>A. tetramerus</i>	<i>A. tetramerus</i>	98,41	BOLD: AAD8366
<i>C. callichthys</i>	<i>C. callichthys</i>	99,50	BOLD: ACR8860
<i>M. thoracata</i>	<i>M. thoracata</i>	99,06	*
<i>Bryconops</i> sp	<i>B. affinis</i>	99,21	BOLD: AAF6579
<i>Pimelodella</i> sp	<i>P. vittata</i>	99,37	BOLD: AAD0882

Tabela 5. Identificação molecular das amostras de peixes da APA do Inhamum realizada através de comparações das sequências do presente estudo com sequências disponíveis na plataforma BOLD systems para o gene COI, e seus respectivos registros numéricos (RN) index barcode para o BOLD.

Obs. * Tem status de saída antecipada e por isso não possui registro numérico no BOLD. ** *G. carapo*: BOLD:AAB6212, *G. pantanal*: BOLD:AAE3544. *G. chaviro* não possui registro numérico na plataforma.

3.6 Análises genéticas de sequências do gene rRNA 16S

O valor médio de distância genética intraespecífica das sequências de rRNA 16S foi de 0,54% e o valor médio de distância genética dentro das famílias foi de 9,0%. Ademais, foram encontrados altos índices distância genética dentro do gênero *Gymnotus* (1,5%) e *Hemigrammus* (3,8%) (Tabela 6 e Tabela 7). A matriz de médias de distâncias genéticas intra e interespecífica (Tabela 7) mostrou que as espécies mais proximamente relacionadas foram *Sternopygus macrurus* e *G. carapo* com 9,8% de divergência. Em contrapartida, as espécies mais distantemente relacionadas foram *Synbranchus marmoratus* e *C. callichthys*, com 26,2% de divergência genética.

Nível	N	Taxón	Min Dist(%)	Média Dist(%)	Max Dist(%)
Dentro de espécie	72	11	0,00	0,54	3,8
Dentro de Família	42	2	8,5	9,0	9,4

Tabela 6. Médias de distâncias genéticas K2P mostrando a distribuição das médias coespecíficas e dentro das famílias na APA do Inhamum utilizando o gene rRNA 16S.

Taxóns	Médias de divergência genética (%)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1 - <i>Pimelodella</i> sp.	0,0												
2 - <i>C. callichthys</i>	13,5	n/c											
3 - <i>G. carapo</i>	13,4	15,0	1,5										

4 - <i>S. macrurus</i>	10,0	16,2	9,8	0,0									
5 - <i>Apistogramma</i> sp.	19,6	21,4	19,0	17,3	0,1								
6 - <i>A. tetramerus</i>	17,0	20,4	17,4	14,5	11,2	0,0							
7 - <i>Bryconops</i> sp.	13,0	17,2	10,9	11,7	19,9	16,7	0,1						
8 - <i>H. malabaricus</i>	12,6	16,0	13,8	11,9	18,9	17,5	10,7	0,0					
9 - <i>C. menezesi</i>	19,4	20,7	17,3	16,3	13,6	11,9	17,3	19,0	0,3				
10 - <i>H. guyanensis</i>	17,4	19,3	16,8	13,6	19,3	18,5	14,4	11,4	19,5	3,8			
11 - <i>N. beckfordi</i>	15,8	18,9	16,3	13,3	17,3	16,5	15,1	14,1	17,6	15,4	0,0		
12 - <i>S. marmoratus</i>	25,0	26,2	23,1	21,5	19,7	22,1	22,8	23,2	22,6	21,3	24,9	n/c	
13 - <i>Rivulus</i> sp.	23,1	24,4	21,6	22,7	18,2	18,9	22,1	21,9	22,7	21,6	24,3	20,4	0,2

Tabela 7. Matriz de médias de divergência genética K2P interespecíficas de peixes da APA do Inhamum a partir de sequências do gene rRNA 16S.

A reconstrução filogenética gerada a partir do método de agrupamento de vizinhos e o algoritmo K2P utilizando sequências do gene rRNA 16S, evidenciou a ocorrência de 15 clados. A maioria dos clados correspondem a uma única espécie, entretanto, as sequências de *G. carapo* e *Hemigrammus guyanensis* formaram cada uma, dois clados fortemente agrupados com 99% de *bootstrap*. (Figura 5).

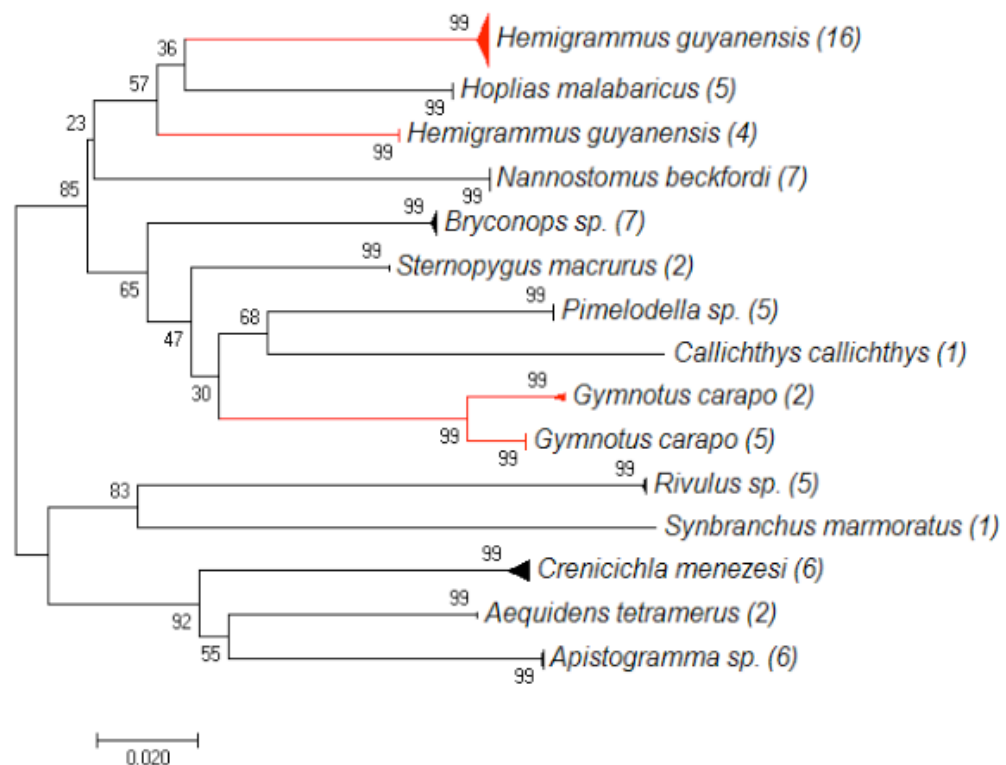


Figura 5. Árvore filogenética resumida utilizando sequências do gene rRNA 16S, algoritmo K2P e método de agrupamento de vizinho (NJ) dos peixes da APA do Inhamum. Os números entre parênteses representam o número de sequência para cada espécie. Em vermelho estão destacados contrapontos de identificação.

4 | DISCUSSÃO

4.1 Novo registro de *Megalechis thoracata* para a bacia do rio Itapecuru

Em coletas na APA do Inhamum, Fraga et al. (2012) e Lima et al. (2015) não haviam registrado a ocorrência de *M. thoracata*, assim como em estudos que objetivaram a identificação de toda a bacia do rio Itapecuru (BARROS et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2016). Somente em setembro de 2015 um espécime de *M. thoracata* espécie foi capturado.

Entre os estudos realizados nas bacias hidrográficas do Nordeste: Carvalho et al. (2011b) (bacia do rio São Francisco), Ramos et al. (2014) (bacia do rio Parnaíba) e Matavelli et al. (2015) (bacias dos rios Munim e Parnaíba), *M. thoracata* só foi registrado por Soares (2005), na bacia do rio Mearim. Portanto, esse resultado representa uma extensão do conhecimento da distribuição da espécie, pois agora sabe-se de sua ocorrência na bacia do rio Itapecuru. Tencatt et al. (2013; 2015) cogitaram que a introdução de *M. picta* na bacia do alto rio Paraná ocorreu provavelmente devido ao seu uso como uma isca viva. Essa hipótese também pode ser considerada para a introdução de *M. thoracata* na bacia do rio Itapecuru, levando em conta que a diferenciação entre *M. picta* e *M. thoracata* é dificultosa por não especialistas, então podem ser facilmente misturadas e vendidas como uma única espécie por vendedores de iscas vivas ou em lojas de aquário.

Ainda é precipitado afirmar que *M. thoracata* é capaz de se fixar na bacia ou causar impactos sobre as espécies nativas do rio Itapecuru. Percebe-se, todavia, que é preciso preocupar-se com a introdução e/ou transportação de espécies entre bacias, de forma intencional ou não, que se torna cada vez mais corriqueiro e que quase sempre tem efeito nocivo sobre as espécies nativas. Recomenda-se, dessa forma, que atitudes como essa sejam suprimidas de forma rigorosa.

4.2 Análises genéticas de sequências do gene COI

Muitos trabalhos já foram realizados visando identificar, via DNA *barcode*, peixes de grandes bacias hidrográficas brasileiras (CARVALHO et al., 2011b; PEREIRA et al., 2013; DÍAZ et al., 2016). Esses trabalhos comumente mostram baixos valores de divergência intraespecífica, raramente ultrapassam o valor de 1,5%. No presente trabalho não foi diferente, o valor médio de distância intraespecífica foi de 0,55% (Tabela 3).

Carvalho et al. (2011b) ao estudar peixes de água doce provenientes da bacia do rio São Francisco, encontrou valor médio de divergência genética intraespecífico de 0,50%. Pereira et al. (2013) revelou percentual médio intraespecífico de 1,30 (mas esse valor decresce para 0,3 quando considerado cada subclado como uma unidade genética independente) na megadiversa fauna de peixes Neotropicais. Em consonância a esses baixos valores médios, Díaz et al. (2016), ao analisar os peixes do baixo rio Paraná, encontraram 0,53% de divergência intraespecífica.

O valor médio de divergência dentro das famílias encontrado no presente trabalho foi de 16,7% (Tabela 3), valor que está de acordo com outros valores observados na literatura. Nos trabalhos de Hubert et al. (2008), Carvalho et al. (2011b), Pereira et al. (2013) e Díaz et al. (2016) verificou-se valores percentuais médios dentro das famílias de 15,38, 21,01 e 20,1 e 19,61, respectivamente.

Foi detectado elevado valor de distância genética (3,6%) em *G. carapo* (Tabela 4), essa porcentagem supera o limite de divergência intraespecífica que delimita espécie de 3% estabelecido por Hebert et al. (2003a). Com base nisso, é possível tratar-se de duas espécies dentro do gênero *Gymnotus*, e não apenas de uma como propôs a identificação morfológica. Neste cenário, evidencia-se o potencial do gene COI em revelar a diversidade escondida. Similarmente, Benzaquem et al. (2015) mostrou diversidade críptica em peixes ornamentais da Amazônia brasileira.

Carvalho et al. (2011b) encontraram elevada divergência intraespecífica em amostras de *G. carapo* (5%) provenientes da bacia do rio São Francisco. Esses autores indicaram que essa elevada divergência pode estar relacionada a história filogeográfica ou estrutura geográfica, como é comum em peixes de água doce (WARD et al., 1994). *G. carapo* (holótipo do Suriname) foi descrito por Linneaus na primeira metade do século XVIII (ALBERT e CRAMPTON, 2003). Atualmente é definido como *G. carapo sensu stricto* e é conhecido como um complexo de espécies de morfologia similar ou espécie críptica, com uma larga área de distribuição (ALBERT e CRAMPTON, 2003). Estudos citogenéticos de amostras identificadas como *G. carapo* mostraram diferentes cariótipos: $2n = 54$ e $2n = 52$ do Sul do Brasil, $2n = 48$ em Amazonas, $2n = 42$ no Pará (MILHOMEM et al., 2007).

Outro estudo sobre o cariótipo de indivíduos morfologicamente indistinguíveis de cinco populações de *G. carapo sensu stricto* da Amazônia oriental do Brasil revelou dois citótipos, $2n = 42$ (30 M/SM + 12 ST/A) e $2n = 40$ (34M/SM + 6 ST/A). Os autores concluíram que as diferenças entre essas duas espécies crípticas se devem a inversões pericêntricas e uma fusão tandem. (MILHOMEM et al., 2008). Nagamachi et al. (2010) usaram mapeamento genômico comparativo através do FACS (Fluorescent Activated Chromosome Sortin), metodologia que permitiu verificar a alta reorganização genômica encontrada entre as duas populações citotípicas de *G. carapo sensu stricto* estudadas e confirmar a hipótese que elas são realmente diferentes espécies.

O fato de a morfologia externa, os dados merísticos e a pigmentação deles não permitirem a distinção de espécies (MILHOMEM et al., 2008), sugere que a especiação delas foi um evento recente no qual a reorganização cromossômica teve o papel principal (NAGAMACHI et al., 2010). Somado a isso, as elevadas divergências genéticas encontradas no presente trabalho e em Carvalho et al. (2011b) corroboram com essa informação. As amostras do presente estudo de *G. carapo* demonstraram similaridade acima de 97% com *Gymnotus chaviro*, *Gymnotus pantanal* e com *G. carapo* (Tabela 5) quando realizada a identificação molecular na plataforma BOLD. Isso novamente aponta para identificação errônea de espécimes, ou indica a presença

de espécie negligenciada no gênero *Gymnotus*.

4.3 Análises genéticas de sequências do gene rRNA 16S

A média de distância genética coespecífica do gene rRNA 16S (0,54%) equiparou-se ao valor de distância intraespecíficas revelado nas sequências do gene COI (0,55%), contrariando assim, Palumbi et al. (2002) quando este afirma que as sequências do gene rRNA 16S são mais conservadas, com taxa de mutações menores do que a média do genoma mitocondrial. Provavelmente, isso ocorreu porque *H. guyanensis* obteve elevada divergência genética (3,8%).

A média de distância genética K2P intrafamiliar foi mais baixa para o gene rRNA 16S (9%) em relação à média correspondente do gene COI (16,7%). Esse dado corrobora com Kochzius et al. (2010), trabalho no qual as distâncias genéticas verificadas em cada nível taxonômico analisado foram menos elevadas que suas correlatas no gene COI. Os valores de distância genética K2P coespecífico e intrafamiliar do presente estudo (0,54% e 9%, respectivamente) (Tabela 6) foram inferiores em relação aos seus equivalentes encontrados em peixes comerciais da África do Sul (CAWTHORN et al., 2012) (0.03% e 5.10%). Isso possivelmente ocorreu em reflexo ao melhor conhecimento taxonômico de espécies comercialmente importantes, de médio e grande porte, o que minimiza os problemas de identificação (CARVALHO et al., 2011b).

Diante dos resultados é possível concluir, portanto, que o DNA barcode demonstrou sua potencialidade em identificar espécie, pois esteve de acordo com a identificação morfológica na grande maioria das espécies (93,3%) e ainda apontou para problema de identificação em *G. carapo*, espécie na qual provavelmente existe negligência de identificação. Faz-se necessário, então, aprofundamento nos estudos genéticos e taxonômicos de *G. carapo* ocorrentes na APA do Inhamum, através de uma revisão taxonômica dos exemplares por um especialista no grupo.

O gene rRNA 16S indicou a presença de mais de uma espécie em *Hemigrammus*, de tal modo que se faz necessária a análise dessa indicação por meio de mais sequências do gene COI de amostras desse gênero.

Identificou-se a espécie *M. thoracata* na área de estudo, dessa forma sua distribuição foi estendida para a bacia do rio Itapecuru, o que contribui para o conhecimento da amplitude de ocorrência dessa espécie. Por meio da utilização do gene COI, foi possível indicar os epítetos específicos de *B. affinis* e *P. vittata*, essas espécies anteriormente haviam sido identificadas apenas em nível genérico.

REFERÊNCIAS

ALBERT, J. S. e CRAMPTON, W. G. R. **Seven new species of the Neotropical electric fish *Gymnotus* (Teleostei, Gymnotiformes) with a redescription of *G. carapo* (Linnaeus)**. *Zootaxa*, 28: 1-54. 2003.

ALBUQUERQUE, A. B. **Riacho Ponte e Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum,**

Caxias/MA. in: BARROS, M. C. (org.). **Biodiversidade na Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum.** São Luís: UEMA, cap. 6, p. 107 – 116. 2012.

BARROS, M. C.; FRAGA, E. C. e BIRINDELLI, J. L. O. **Fishes from the Itapecuru River basin, State of Maranhão, northeast Brazil Brazilian.** *Journal of Biology* 71(2): 375-380. 2011.

BENZAQUEM, D. C.; OLIVEIRA, C.; DA SILVA BATISTA, J.; ZUANON, J.; PORTO, J. I. R. **DNA Barcoding in Pencilfishes (Lebiasinidae: Nannostomus) reveals cryptic diversity across the Brazilian Amazon.** *PLOS ONE*, 10, e 0112217. 2015.

BRITSKI, H. A.; KEVE, Z. S. S.; BALZAC, S. L. **Peixes do Pantanal. Manual de Identificação.** Brasília: Embrapa-SPI; Corumbá: Embrapa-CPAP, 184 p. 1999.

CARVALHO, T. P. e ALBERT, J. S. The Amazon-Paraguay Divide. in: J.S. Albert and R.E. Reis (org.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes.** Los Angeles: University of California Press, pp. 193-202. 2011.

CARVALHO, D. C. de; LEAL, C. G.; POMPEU, P. S.; MELO JUNIOR, J. V.; OLIVEIRA, D. A. A. **Aplicações da técnica de identificação genética - DNA Barcode - nos peixes da bacia do rio São Francisco.** *Sociedade Brasileira de Ictiologia*, São Paulo, v. 104, ISSN 1808-1436, set. 2011a.

CARVALHO, D. C. de; OLIVEIRA, D. A. A.; POMPEU, P. S.; LEAL, C. G.; OLIVEIRA, C.; HANNER R. **Deep barcode divergence in Brazilian freshwater fishes: the case of the São Francisco River basin.** *Mitochondrial DNA*, v. 22, p. 80–86, out. 2011b.

CAWTHORN, D.; STEINMAN, H. A.; WITTHUHN, R. C. **Evaluation of the 16S and 12S rRNA genes as universal markers for the identification of commercial fish species in South Africa.** *Gene*, v. 491, p. 40-48. 2012.

DAYRAT, B. **Towards integrative taxonomy.** *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 85, p. 407–415. 2005.

DE QUEIROZ, K. **Ernst Mayr and the modern concept of species.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102 Suplemento 1 p. 6600, 2005.

DÍAZ, J.; VILLANOVA, G. V.; BRANCOLINI, F.; DEL PAZO, F.; POSNER, V. M.; GRIMBERG, A.; ARRANZ, S. E. **First DNA Barcode Reference Library for the Identification of South American Freshwater Fish from the Lower Paraná River.** *PLOS ONE*, v. 11. 2016.

FELSENSTEIN, J. **Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap.** *Evolution*, v. 39, p. 783-791. 1985.

FERNANDES, R. S.; CONCEIÇÃO, G. M.; BRITO, E. S.; PAULA-ZÁRATE, E. L. **Diversidade Florística de Pteridófitas da Área de Preservação Ambiental do Inhamum, Caxias, Maranhão, Brasil.** *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 411-413, 2007.

FRAGA, E.; SCHNEIDER, H.; NIRCHIO, M.; SANTA-BRIGIDA, E.; RODRIGUES-FILHO, L. F.; SAMPAIO, I. **Molecular phylogenetic analyses of mullets (Mugilidae, Mugiliformes) based on two mitochondrial genes.** *Journal of Applied Ichthyology*, v. 23, p. 598-604. 2007.

FRAGA, E. C.; BIRINDELLI, J. L. O.; AZEVEDO, C. A. S.; BARROS, M. C. **A Ictiofauna da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias/MA.** In: BARROS, M. C. (Org). **Biodiversidade na Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum.** São Luís: UEMA, cap. 6, p. 107 – 116. 2012.

HALL, T. A. **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.** In: *NUCLEIC ACIDS SYMPOSIUM*, 41., 1999, Raleigh. Oxford University

Press, p. 95-98. 1999.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; de WAARD, J. R. **Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society B. Biological Sciences**, Guelph, v. 270, p. 313-322, jan. 2003a.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S. e de WARD, J. R. **Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society**. v. 270, p. 96- 99. 2003b.

HUBERT, N.; HANNER, R.; HOLM, E.; MANDRAK, N. E.; TAYLOR, E.; BURRIDGE, M.; WATKINSON, D.; DUMONT, P.; CURRY, A.; BENTZEN, P.; ZHANG, J.; APRIL, J.; BERNATCHEZ, L. **Identifying canadian freshwater fishes trough DNA barcodes. PLOS ONE**, v. 3, e. 2490, jun. 2008.

KOCHZIUS, M.; SEIDEL, C.; ANTONIOU, A.; BOTLA, S. K.; CAMPO, D.; et al. **Identifying Fishes through DNA Barcodes and Microarrays. PLoS ONE**, v. 5, n. 9. 2010.

KUMAR, S.; STECHER, G. e TAMURA, K. MEGA7: **Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution**, 33: 1870-1874. 2016.

LIMA, R. C.; NASCIMENTO, M. H. S.; FRAGA, E.C. e BARROS, M.C. **Identificação Molecular via DNA barcoding dos Peixes da APA do Inhamum, Caxias/MA**; in: CARVALHO NETA, R. F. (org.). *Áreas De Proteção Ambiental No Maranhão: situação atual e estratégias de Manejo*. São Luís: UEMA, p. 301-313. 2015.

LIMA, R. C.; NASCIMENTO, M. H. S.; BIRINDELLI, J. L. O.; BARROS, M. C.; FRAGA, E. C. **Extension of the distribution of *Megalechis thoracata* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Callichthyidae) to the basin of the Itapecuru River, northeastern Brazil. Check List**, 13 (4): 327–330. <https://doi.org/10.15560/13.4.327>. 2017.

MALABARBA, L. R.; NETO, P. C. BERTACO. V. A.; CARVALHO, T. P.; SANTOS, J. F.; ARTIOLI, L.G. S. **Guia de identificação dos peixes da bacia do rio Tramandaí**, editora. Via Sapiens, Porto Alegre, 2013.

MATAVELLI, R.; CAMPOS, A. M.; VALE, J.; PIORSKI, N. M. e POMPEU, P. S. **Ichthyofauna sampled with tadpoles in northeastern Maranhão State, Brazil. Check List**, v. 11, n. 1, p. 1550. 2015.

MEYER, C. P. e PAULAY G. **DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. PLoS Biology**, v. 3. 2005.

MILHOMEM, S. S. R.; PIECZARKA, J. C.; CRAMPTON, W. G. R.; DE SOUZA, A. C. P.; CARVALHO JR, J. R. e NAGAMACHI, C. Y. **Differences in karyotype between two sympatric species of *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) from the eastern amazon of Brazil. Zootaxa**, 1397: 55–62. 2007.

MILHOMEM, S. S. R.; PIECZARKA, J. C.; CRAMPTON, W. G. R.; SILVA, D. S.; DE SOUZA, A. C. P.; CARVALHO JR, J. R. e NAGAMACHI C. Y.: **Chromosomal evidence for a putative cryptic species in the *Gymnotus carapo* species-complex (Gymnotiformes, Gymnotidae). BMC Genetics**, 9:75. 2008.

NASCIMENTO, M. H. S; ALMEIDA, M. S.; VIEIRA, M. N. S; LIMEIRA FILHO, D.; LIMA, R. C.; BARROS, M. C.; FRAGA, E. C. **A barcoding reveals high levels of genetic diversity in the fishes of the Itapecuru Basin in Maranhão, Brazil. Genetic and Molecular Research**, v: 15. 2016.

NAGAMACHI, C. Y. PIECZARKA, J. C.; MILHOMEM, S. S. R.; O'BRIEN, P. C. M.; DE SOUZA, A. C. P. e FERGUSON-SMITH, M. A. **Multiple rearrangements in cryptic species of electric knifefish, *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Gymnotiformes) revealed by chromosome painting. BMC**

Genetics, 11:28. 2010.

OYAKAWA, O. T.; AKAMA, A.; MAUTARI, K. C.; NOLASCO, J. C. **Peixes de riacho da Mata Atlântica na Unidades de Conservação do Vale do Rio Ribeira de Iguape no Estado de São Paulo**. São Paulo: Editora Neotropical, 2006.

PALUMBI, S.; MARTIN, A.; RAMANO, S.; MACMILLAN, W. O.; STICE, L.; GRABOWSKI, G. **The simple fool's guide to PCR ver. 2.0**. University of Hawaii Honolulu. 2002.

PEREIRA, L. H. G.; MAIA, G. M. G.; HANNER, R.; FORESTI, F. OLIVEIRA, C. **Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?** **Bio med center Genetics**, v. 14, n. 20, 1471 – 2156, 2013.

PUGEDO, M. L.; DE ANDRADE NETO, F. R.; PESSALI, T. C.; BIRINDELLI, J. L. O. e CARVALHO D. C.; **Integrative taxonomy supports new candidate fish species in a poorly studied neotropical region: the Jequitinhonha River Basin**. **Springer**, v. 144, p. 341–349, 2016.

RAMOS, T. P. A.; RAMOS, R. T. C. e RAMOS, S. A. Q. A. **Ichthyofauna of the Parnaíba river basin, Northeastern Brazil**. **Biota Neotropica** 14(1): 1-8. 2014.

RATNASINGHAM, S. e HEBERT, P. D. N. **BOLD: The Barcode of Life Data System** (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes**, vol. 7, p. 355 – 364. 2007.

REIS, R. E. 2003. **Family Callichthyidae (armored catfishes)**; pp. 291-309. In R.E. REIS, S.O.; KULLANDER, e FERRARIS, JR., C.J. (org.). **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre, Edipucrs. 2003.

REIS, R. E.; LE BAIL, P.-Y.; MOL, J. H. A. e ARMBRUSTER, J. W. **New arrangement in the synonym of *Megalechis* Reis, 1997 (Siluriformes: Callichthyidae)**. **Copeia** v. 3, p. 678-682. 2005.

RIEDEL, A.; SAGATA, K.; SUHARDJONO, Y. R.; TÄNZLER, R., BALKE, M. **Integrative taxonomy on the fast track-towards more sustainability in biodiversity research**. **Frontiers in Zoology**, v.10, n. 15. 2013.

SAITOU, N. e NEI, M. **The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees**. **Molecular Biology and Evolution**, Houston, v. 4, p. 406-425. 1987.

SANGER, F.; NICHLEN, S.; COULSON, A. R. **DNA sequencing with chain termination inhibitors**. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Cambridge, v. 74, N. 12, p. 5463-5467, dec. 1977.

SOARES, E. C. **Peixes do Mearim**. São Luiz: Editora Instituto Geia, 2005.

TENCATT, L. F. C.; DA GRAÇA, W. J.; PAVANELLI, C. S. **First record of *Megalechis picta* (Müller and Troschel, 1849) (Siluriformes: Callichthyidae) in the upper Rio Paraná basin, Brazil**. **Check List**, v. 9, n. 5, p. 1081–1083. 2013.

TENCATT, L.F.; SEVERO-NETO e FROEHLICH, O. **First record of the camboatá *Megalechis picta* (Müller & Troschel, 1849) (Siluriformes: Callichthyidae) for the Pantanal, Brazil**. **Biota Neotropica**, v. 15, n. 1. 2015.

WARD, R. D.; WOODWARK, M.; SKIBINSKI, D. O. F. **A comparison of genetic diversity levels en marine, freshwater, and anadromous fishes**. **Journal Fish Biology**, v. 44, p. 213 – 232. 1994.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. **DNA barcoding Australia's fish species**. **Philosophical Transactions Royal Society B**, v. 360, p. 1847-1857, set. 2005.

SOBRE O ORGANIZADOR

Benedito Rodrigues da Silva Neto - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. arroz, milho, sorgo, plantas de cobertura e integração lavoura pecuária. E-mail para contato: alan_zuffo@hotmail.com

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-421-4

