



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: Prof^a Dr^a 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
Prof^a Dr^a 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
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a 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
Prof^a Dr^a 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
Prof^a Dr^a 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 dezenove 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 MULTIRESTENCIA 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

ANÁLISES GENÉTICAS NÃO INVASIVAS E SUA CONTRIBUIÇÃO PARA A GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO DE FELINOS BRASILEIROS

Andiara Silos Moraes de Castro Souza

Universidade Federal de São Carlos, UFSCar,
Departamento de Genética e Evolução, São
Carlos, SP.

Bruno Henrique Saranholi

Universidade Federal de São Carlos, UFSCar,
Departamento de Genética e Evolução, São
Carlos, SP.

Pedro Manoel Galetti Jr

Universidade Federal de São Carlos, UFSCar,
Departamento de Genética e Evolução, São
Carlos, SP.

RESUMO: O estudo genético de animais de difícil acesso, com hábitos elusivos e noturnos tem sido facilitado por meio das análises genéticas não invasivas, por exemplo, utilizando fezes obtidas no campo. Este tipo de amostra se torna ainda mais importante quando se trabalha com animais ameaçados, permitindo obter dados populacionais de demografia, razão sexual, parentesco, diversidade genética, diferenciação populacional e fluxo gênico. Muitos felinos se encontram atualmente ameaçados ou vulneráveis, principalmente devido à fragmentação e redução de habitats. Populações isoladas diminuem o fluxo gênico com outras populações e podem aumentar a taxa de deriva genética e endogamia, podendo a longo prazo serem extintas no ambiente natural.

Por isso, técnicas de amostragem não invasiva de felinos estão sendo cada vez mais utilizadas, com o intuito de detectar dados populacionais que possam ajudar na conservação destas espécies. Este capítulo apresenta aspectos básicos da Genética da Conservação e um levantamento de estudos de casos em felinos brasileiros, que usaram amostragem não invasiva para obter informações fundamentais sobre a ecologia, biologia e genética, como subsídio para a conservação e preservação em longo prazo desses animais.

PALAVRAS-CHAVE: Marcadores moleculares, Felidae, gatos, fezes.

ABSTRACT: Genetic studies of animals with elusive and nocturnal habits has been facilitated through noninvasive genetic analyses using, for instance, feces obtained in the field. This type of sample becomes even more important when working with endangered animals, allowing us to obtain population data from demographics, sex ratio, kinship, genetic diversity, population differentiation and gene flow. Many cats are currently threatened or vulnerable, mainly due to the fragmentation and reduction of habitats. Isolated populations decrease gene flow with other populations, increase the rate of genetic drift and inbreeding, and may in a longer term be extinct in the natural environment. Therefore, noninvasive cat sampling techniques are being

increasingly used, in order to record population data that may help in the conservation of these animals. This chapter presents basic aspects of Conservation Genetics and a survey of case studies in Brazilian felids, which used noninvasive sampling to obtain fundamental information on ecology, biology and genetics, as a subsidy for the long-term conservation and preservation of these animals.

KEYWORDS: Molecular markers, Felidae, cats, feces.

1 | INTRODUÇÃO

Neste capítulo iremos apresentar as bases de uma nova disciplina da área da genética, denominada Genética da Conservação, bem como iremos destacar o papel dos estudos genéticos realizados por meio de amostragem não invasiva, para o conhecimento da ecologia, biologia e genética e, conseqüente, conservação dos felinos brasileiros.

Com principal objetivo de conservação da biodiversidade no nível dos genes (MCNEELY, 1990; FRANKHAM, 2009), a Genética da Conservação alia a teoria e os métodos genéticos para entender as conseqüências sobre a diversidade genética em relação às ameaças que sofrem as espécies em risco de extinção, ajudando na elaboração de medidas para a sua conservação (FRANKHAM, 2009). Dessa maneira, essa disciplina tem como foco as espécies ameaçadas e busca identificar os sinais genéticos promovidos pelas pressões, particularmente as antrópicas, que elevam o risco de extinção, e auxiliar nas medidas de conservação.

Neste contexto, abordaremos o uso da análise genética não invasiva em estudos dos animais de difícil acesso aos pesquisadores, destacando os estudos realizados em felinos no Brasil, tendo como material fonte de DNA, amostras não invasivas como fezes, pelos e regurgito, evitando assim a captura do animal.

2 | A ABORDAGEM NÃO INVASIVA EM ESTUDOS DE GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO

A metodologia de amostragem não invasiva é empregada sobretudo em animais de difícil captura, como os que apresentam grandes áreas de vida, baixa densidade, atividade noturna e hábitos elusivos. Animais com as características mencionadas e ainda em risco de extinção são ainda mais favorecidos com este tipo de amostragem, evitando o estresse para o animal e o risco de sua perda durante o manejo (STANTON, 2016; VELLI, 2015; WALKER, 2016; WHEAT, 2016).

Entre os principais grupos estudados através dessa abordagem, destacam-se as espécies de mamíferos carnívoros terrestres, como os canídeos e os felinos. Dentre as amostras não invasivas mais utilizadas para esses grupos, destacam-se as fezes (RODGERS, 2013), por serem recobertas pelo muco do intestino do animal, permitindo

a obtenção de moléculas de DNA para os estudos genéticos (ALBAUGH, 1992), além da relativa facilidade de coleta. Isso se deve ao fato de as espécies de carnívoros possuírem, geralmente, hábitos territorialistas e frequentemente depositarem suas fezes em locais proeminentes, como trilhas e rochas, para marcarem seu território (CHAME, 2003; DAVISON, 2002).

O uso das amostras não invasivas em conjunto com técnicas moleculares tem permitido a obtenção de informações muito ricas, como a identificação molecular da espécie depositora das fezes (CHAVES, 2012; FARREL, 2000; RODRÍGUEZ-CASTRO, 2018; SOUZA, 2017). Também é possível realizar a individualização e a sexagem das amostras, permitindo avaliar questões como a distribuição dos indivíduos, área de vida, tamanho mínimo populacional e densidade (DEAGLE, 2007; HEDMARK, 2004; LIVIA, 2007; MIOTTO, 2014; SOUZA, 2012, 2013). Estudos prévios de demografia, por exemplo, confirmaram a similaridade entre os resultados obtidos por meio de amostras não invasivas e aqueles encontrados a partir de câmeras fotográficas (BELLEMAIN, 2005), bem como de radiotelemetria para estimar padrões de movimentação (ROQUES, 2014). Além das análises citadas, também podem ser respondidas questões de genética populacional, como avaliar a diversidade genética, estruturação populacional, fluxo gênico e parentesco (MIOTTO, 2012; SARANHOLI, 2017; HAAG, 2010b).

Apesar das vantagens indicadas, o uso das amostras não invasivas é, geralmente, limitado pela baixa qualidade e quantidade de DNA obtido (TABERLET, 1999). Exposto à altas temperaturas e umidade do ambiente, o DNA obtido das fezes apresenta elevada degradação (FARREL, 2000), principalmente nos ambientes tropicais (MICHALSKI, 2011; ROQUES, 2014). Além disso, este tipo de amostra pode apresentar inibidores de PCR (do inglês, *Polymerase Chain Reaction*), que é a metodologia empregada para amplificar cópias do fragmento específico de DNA para posterior análise. Esses inibidores podem dificultar as amplificações e aumentar a chance de se obter resultados errôneos. Por isso, devem ser incluídos uma série de cuidados e etapas (Figura 1), com o intuito de minimizar os erros e aumentar as chances de amplificação do DNA fecal (BUCHAN, 2005; HOFFMAN, 2005; PIGGOT, 2004).

O primeiro cuidado consiste na detecção e coleta de amostras mais frescas possíveis, para minimizar a exposição do DNA ao ambiente, que poderia degradá-lo. O uso de kits comerciais para a extração do ácido nucleico tem facilitado a obtenção de DNA em qualidade satisfatória para estudo. No processo de amplificação, é importante realizar réplicas de PCRs, possibilitando que alguma falha de amplificação devido à baixa qualidade do DNA possa ser corrigida e, assim, evitando interpretações errôneas dos resultados (TABERLET, 1999).

Outro passo decisivo é a seleção dos marcadores moleculares que serão utilizados nos estudos; estes precisam ser informativos, mesmo em pequenos fragmentos de DNA amplificados, já que o DNA fecal se apresenta degradado.

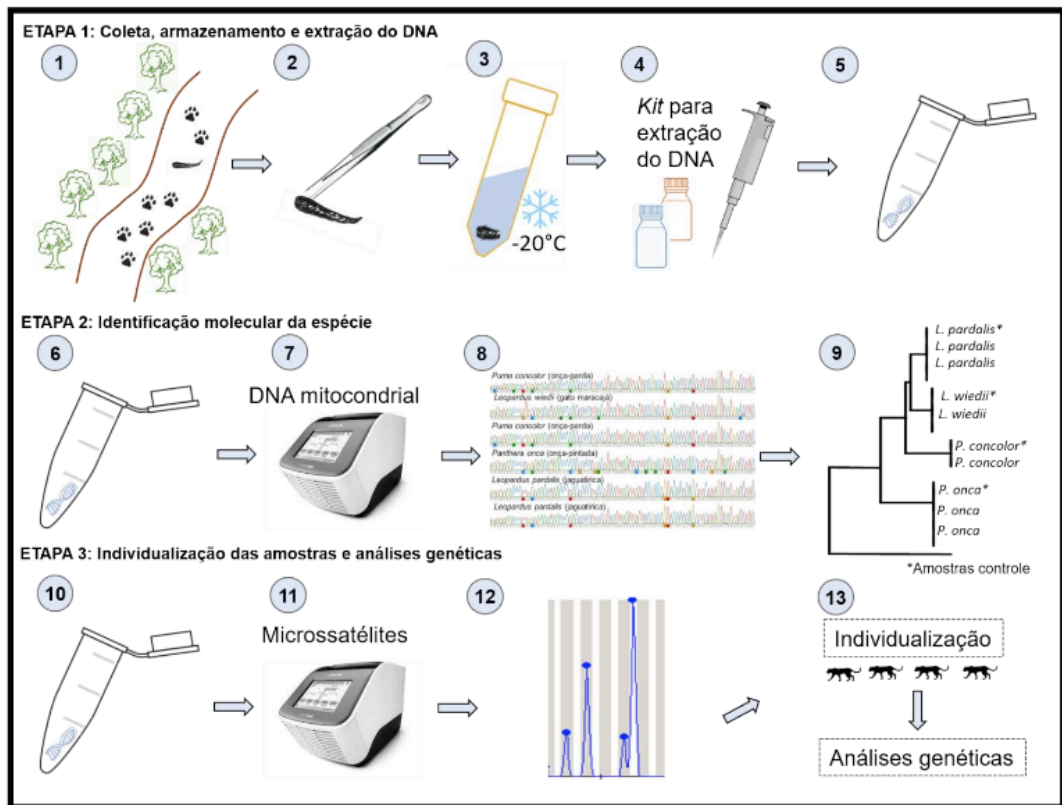


Figura 1. Etapas do processo de coleta e análises genéticas a partir de amostras não invasivas, como no caso das fezes.

ETAPA 1: 1 - Busca ativa de amostras fecais, geralmente em trilhas e estradas de terra. A presença de alguns sinais deixados pelos animais, como pegadas, pode facilitar a procura das amostras; **2** – Coleta de um porção da amostra utilizando material estéril; **3** – Armazenamento em tubos estéreis contendo solução para a conservação, como por exemplo o etanol, e acondicionamento em freezer até a extração do DNA; **4** – Extração do DNA usando kits comerciais específicos para amostras fecais, que extraem os inibidores de PCR; **5** – Obtenção do DNA que será utilizado nas etapas seguintes.

ETAPA 2: 6 – DNA obtido na primeira etapa; **7** - Amplificação em PCR de mini sequências do DNA mitocondrial para a identificação molecular das amostras; **8** – Sequenciamento dos produtos de PCR de regiões mitocondriais. Na figura é possível ver as regiões variáveis (sítios polimórficos) entre as espécies; **9** – Construção de árvores filogenéticas com as sequências obtidas e sequências controles, ou seja, sequências obtidas a partir de amostras das quais se tinha a espécie confirmada (marcadas com asterisco). Essa etapa auxilia e facilita o processo de identificação das espécies, principalmente quando se trabalha com muitas amostras.

ETAPA 3: 10 – DNA obtido na primeira etapa; **11** - Amplificação em PCR dos microsatélites; **12** – Resultado da genotipagem dos microsatélites, fornecendo os alelos e os genótipos para cada amostra; **13** – Após a obtenção dos genótipos, é possível individualizar as amostras coletadas e, em seguida, proceder com as análises genéticas (diversidade genética, parentesco, fluxo gênico etc.).

3 | MARCADORES MOLECULARES E ESTUDOS COM AMOSTRAS NÃO INVASIVAS

Um marcador molecular é qualquer caráter molecular que apresenta um certo grau de polimorfismo, ou seja, de variação entre organismos estudados (TURCHETTO-ZOLET, 2017). Entre os marcadores moleculares mais amplamente utilizados em estudos genéticos a partir de amostras não invasivas, destacam-se os microssatélites no genoma nuclear e porções dos genes do DNA mitocondrial (BEJA-PEREIRA, 2009; BROQUET, 2007), pois geram informações mesmo a partir de pequenas sequências de DNA.

O DNA mitocondrial consiste em uma molécula haploide circular (15-17kb) presente nas mitocôndrias, que é predominantemente transmitido por herança materna (PALMER, 1987). Devido à sua alta taxa de evolução, comparada aos genes nucleares, e consequente alto polimorfismo, além da ausência de recombinação, este marcador pode ser empregado tanto para estudos filogenéticos, bem como populacionais (AVISE, 2004). Nos estudos genéticos baseados em amostras de fezes, o primeiro passo é a identificação da espécie depositora das fezes e, para isso, o DNA mitocondrial tem se mostrado uma excelente ferramenta. Diversos trabalhos desenvolveram os chamados *mini-barcodes*, ou seja, pequenas sequências de DNA capazes de identificar a espécie a partir deste marcador (ADRADOS, 2018; CHAVES, 2012; FARRELL, 2000; HAAG, 2009; RODRÍGUEZ-CASTRO, 2018). O seu emprego tem permitido a confirmação de ocorrência de espécies elusivas em áreas onde as mesmas não eram mais registradas através de outros métodos de detecção (SOUZA, 2017).

Já os microssatélites permitem a individualização das amostras não invasivas (GOLDSTEIN, 1997). Considerados locos hipervariáveis do genoma nuclear, os microssatélites são muito empregados em estudos populacionais (MANEL, 2003) e permitem estimar diversos parâmetros como a diversidade genética, fluxo gênico, estruturação populacional e parentesco (GOTTELLI, 2007; NESJE, 2000). Essas análises são possíveis devido às suas características de alta taxa de polimorfismo, padrão de herança do tipo codominante, além de frequentemente ser seletivamente neutro (SELKOE, 2006). Microssatélites consistem em pequenas partes de DNA (1-6pb), repetidas em série, com distribuição por todo o genoma (TAUTZ, 1989), sendo encontrados, geralmente, em regiões não codificantes (GOLDSTEIN, 1999). Seus produtos de amplificação pela PCR são pequenos, possibilitando que sejam perfeitamente empregados em amostras com DNA fragmentado, como as não invasivas (BEJA-PEREIRA, 2009). Todas estas características têm feito dos microssatélites uma fantástica ferramenta para estudos de genética populacional em carnívoros, a partir do DNA obtido de fezes (DUTTA, 2013; HAAG, 2010b; MIOTTOa, 2007; PALOMARES, 2002, 2017; SOUZA, 2017; SARANHOLI, 2017; SRBEK-ARAUJO, 2018).

4 | COMBINANDO A AMOSTRAGEM NÃO INVASIVA E TÉCNICAS MOLECULARES PARA ESTUDOS DE GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO EM ESPÉCIES DE FELINOS BRASILEIROS

A família Felidae inclui espécies predominantemente carnívoras com amplas variações em seus tamanhos corpóreos, na distribuição geográfica, nas áreas de vida e densidades populacionais (OLIVEIRA, 2005; SUNQUIST, 2002; ZELLER, 2007). Nas Américas, podem ser encontradas 13 espécies de felinos. No Brasil, foram detectadas nove espécies: gato-palheiro (*Leopardus colocolo*), gato-do-mato-grande (*Leopardus geoffroyi*), gato-do-mato-pequeno do nordeste (*Leopardus tigrinus*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-do-mato-pequeno do sul (*Leopardus guttulus*), onça-pintada (*Panthera onca*), onça-parda (*Puma concolor*) e jaguarundi (*Puma yagouaroundi*).

A fragmentação e a perda de habitat representam uma grande ameaça para essas espécies (RIPPLE, 2014) e podem afetar principalmente o deslocamento, resultando em alterações em suas áreas de vida (WEBER, 1996), o conflito com os seres humanos (CONFORTI, 2003) e modificando seus padrões de reprodução (EIZIRIK, 2008). A fragmentação também contribui significativamente para a redução da diversidade genética das espécies, pois pode promover o isolamento de suas populações (FRANKHAM, 2002). Pequenas populações isoladas tendem a apresentar uma redução na variação genética, promovida por efeitos da deriva genética, definida como flutuação ao acaso das frequências alélicas entre gerações, além do aumento na taxa de endogamia, isto é, o cruzamento entre parentes (FRANKHAM, 2002; SPIELMAN, 2004). Com a intensificação destes processos, alelos deletérios podem se tornar fixados, comprometendo o potencial adaptativo das populações (LEHMAN, 2006), que apresentam uma menor produção e viabilidade dos espermatozoides, diminuição da habilidade de acasalamento e reduzida fecundidade das fêmeas e sobrevivência juvenil (FRANKHAM, 2002). Com o potencial adaptativo dos indivíduos reduzido, a probabilidade de extinção da população ou da espécie é ampliada (DUTTA, 2013; FRANKHAM, 2002; RIPPLE, 2014; SCHIPPER, 2008).

Inúmeras espécies de felinos se encontram ameaçadas de extinção, primordialmente pela redução e fragmentação dos habitats e a retaliação por caça (RIPPLE, 2014; DE AZEVEDO, 2013). A onça-pintada, o maior felino das Américas, é atualmente considerada “quase ameaçada” (*near threatened*) segundo a União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2018). Este felino pode inclusive ser o primeiro grande predador a desaparecer no bioma Mata Atlântica (GALETTI, 2013; PAVIOLO, 2016). Estudos populacionais já demonstraram que algumas de suas populações encontram-se geneticamente isoladas (HAAG, 2010b; SRBEK-ARAUJO, 2018). Considerando que a Mata Atlântica conta atualmente com apenas 16% da

cobertura vegetal original, com a maior parte dos remanescentes fragmentados em áreas menores de 50 ha (RIBEIRO, 2009), o risco de extinção dos animais que habitam esse bioma é alarmante.

No Brasil, diferentes estudos em felinos conduzidos pela combinação da análise genética e a amostragem não invasiva têm focado seus objetivos em diversos aspectos da biologia, ecologia e genética de nossas espécies (Tabela 1).

Para aprimorar a identificação das espécies de carnívoros, a partir de amostras de fezes, recentemente, Rodríguez-Castro e colaboradores (2018) desenvolveram um conjunto de *primers* para amplificar regiões informativas em três diferentes genes do DNA mitocondrial de felinos (Figura 2).

Referência	Espécie focal	Objetivo	Tipo de amostra	Marcador molecular
Alberts, 2017	Felinos brasileiros	Comparação entre métodos de identificação molecular e tricologia	Fezes e pelos	Mitocondrial
Adrados, 2018	<i>Leopardus pardalis</i> e <i>Leopardus wiedii</i>	Desenvolvimento de <i>primers</i> para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial
Chaves, 2012	Felinos brasileiros, além de espécies de carnívoros	Desenvolvimento de <i>primers</i> para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial
De Barba, 2014	<i>Puma concolor</i> e outras espécies de carnívoros	Desenvolvimento de <i>primers</i> para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial
Farrel, 2000	<i>Puma concolor</i> e <i>Leopardus pardalis</i>	Desenvolvimento de <i>primers</i> para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial
Haag, 2009	<i>Panthera onca</i> e <i>Puma concolor</i>	Desenvolvimento de <i>primers</i> para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial

Haag, 2010a	<i>Panthera onca</i>	Desenvolvimento de primers para identificação molecular de indivíduos melânicos de <i>P. onca</i> a partir de amostras não-invasivas	Fezes	Gene MCR1
Haag, 2010b	<i>Panthera onca</i>	Diversidade genética e estruturação genética populacional	Fezes	Mitocondrial e microsatélites
Miotto, 2007a	<i>Puma concolor</i>	Determinação do tamanho populacional mínimo	Fezes	Mitocondrial e microsatélites
Miotto, 2007b	<i>Puma concolor</i> , <i>Puma yagouaroundi</i> e <i>Leopardus pardalis</i>	Comparação entre métodos de identificação molecular e tricologia	Fezes e pelos	Mitocondrial
Miotto, 2011	<i>Puma concolor</i>	Diversidade genética e estruturação genética populacional	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina (sexagem)
Miotto, 2012	<i>Puma concolor</i>	Monitoramento populacional (detecção do número de indivíduos) e parentesco	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina (sexagem)
Miotto, 2014	<i>Puma concolor</i>	Estimativas demográficas (abundância)	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina (sexagem)
Palomares, 2012	<i>Panthera onca</i>	Identificação molecular do sexo das amostras	Fezes	Mitocondrial e amelogenina (sexagem)
Palomares, 2016	<i>Panthera onca</i> e <i>Puma concolor</i>	Identificação molecular de amostras para estudos ecológicos (segregação de habitat)	Fezes	Mitocondrial
Palomares, 2017	<i>Panthera onca</i> e <i>Puma concolor</i>	Ecologia espacial e parentesco	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina (sexagem)
Palomares, 2018	<i>Panthera onca</i> e <i>Puma concolor</i>	Confirmação molecular de amostras para estudos ecológicos (comportamento de <i>scraping</i>)	Fezes	Mitocondrial
Rodríguez-Castro, 2018	Felinos brasileiros, além de espécies de canídeos	Desenvolvimento de primers para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial

Roques, 2011	Felinos brasileiros	Desenvolvimento de <i>primers</i> para amplificação de mini sequências para confirmação molecular de amostras não invasivas	Fezes	Mitocondrial
Roques, 2014	<i>Panthera onca</i>	Diversidade genética	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina
Roques, 2016	<i>Panthera onca</i>	Diversidade genética e estruturação genética populacional	Fezes	Mitocondrial e microsatélites
Saranholi, 2017	<i>Puma concolor</i>	Diversidade genética e estruturação genética populacional	Fezes	Mitocondrial e microsatélites
Sollmann, 2013a	<i>Panthera onca</i>	Identificação molecular de amostras para estudos ecológicos (estimativa de densidade)	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina
Sollmann, 2013b	<i>Panthera onca</i>	identificação molecular de amostras para estudos ecológicos (dieta)	Fezes	Mitocondrial
Souza, 2017	<i>Panthera onca</i>	Confirmação molecular de amostras para registros de ocorrência e identificação do número de indivíduos e sexagem molecular	Fezes	Mitocondrial, microsatélites e amelogenina (sexagem)
Srbek-Araujo, 2018	<i>Panthera onca</i>	Diversidade genética e estruturação genética populacional	Fezes	Mitocondrial e microsatélites

Tabela 1. Estudos de genética não invasiva com espécies de felinos brasileiros.

Utilizando sequências *mini-barcodes* similares às descritas na tabela 2, Souza e colaboradores (2017) conseguiram demonstrar a presença da onça-pintada em uma área onde a mesma não vinha sendo mais registrada por métodos tradicionais de observação. Além da confirmação molecular da espécie a partir de amostras fecais, os autores constataram a ocorrência de, pelo menos, três indivíduos naquela área, sendo duas fêmeas e um macho. Considerando o grau de ameaça dessa espécie, esses resultados podem ser muito úteis para a proposição de medidas de conservação, ressaltando a importância dessa área específica para a conservação da espécie.

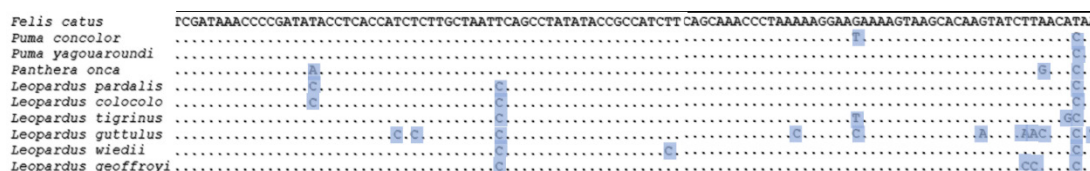


Figura 2. Destaque para os sítios polimórficos permitindo a diferenciação entre as espécies de

Em um dos primeiros trabalhos com amostragem não invasiva realizados com espécies de carnívoros no Brasil, Miotto e colaboradores (2007a) relataram o tamanho populacional mínimo das onças-pardas em unidades de conservação no interior do estado de São Paulo. Nove indivíduos de onças-pardas foram molecularmente identificados, caracterizando uma das primeiras estimativas demográficas para a espécie no Brasil. A partir da adição de novos dados, foi possível estimar a abundância (MIOTTO, 2014), a razão sexual e distribuição da espécie na área de estudo (MIOTTO, 2012), gerando informações complementares que permitiram uma maior compreensão sobre a ecologia da espécie.

Estimativas da diversidade genética das onças-pardas dessas mesmas unidades de conservação encontraram valores altos de diversidade, embora também tenham sido verificados sinais de redução demográfica recente, possivelmente devido à redução de seu habitat (MIOTTO, 2011). Embora os autores prévios não tenham verificado a ocorrência de estruturação populacional entre as áreas estudadas, em um estudo posterior, Saranholi e colaboradores (2017) verificaram sinais de restrição de fluxo gênico entre populações de onças-pardas que habitam unidades de conservação em lados opostos do rio Tietê (SP). Segundo os autores, além da área de estudo ser altamente modificada pela presença de rodovias e centros urbanos, o represamento de extensas áreas do rio, alargando significativamente o corpo de água, criam barreiras que podem estar dificultando a movimentação desses felinos e restringindo o fluxo gênico.

Dados como esses demonstram o impacto das atividades antrópicas sobre as populações animais no ambiente natural, podendo trazer prejuízos irreversíveis para a persistência das espécies a longo prazo. Mesmo espécies com maior capacidade de ocupar diferentes biomas e maior plasticidade para enfrentar as modificações de habitats, como a onça-parda, já apresentam indícios de redução na movimentação e, conseqüente, redução do fluxo gênico. Se esta tendência persiste, populações se tornarão isoladas e pequenas, sujeitas a efeitos extremos de deriva genética e endocruzamento, aumentando significativamente o seu risco de extinção.

5 | CONCLUSÃO

A amostragem não invasiva em conjunto com técnicas moleculares possui um grande potencial para responder questões ecológicas e genéticas para as espécies de difícil acesso aos pesquisadores, favorecendo o nosso conhecimento sobre elas, bem como medidas para sua conservação.

No Brasil, entretanto, esses estudos ainda são limitados a poucas espécies e a determinadas áreas de sua distribuição. Há muito mais ainda por fazer. Até o momento,

a maior parte de nossos estudos com este tipo de abordagem está concentrada na espécie onça-parda, e na onça-pintada, em segundo lugar. Entretanto, ambas as espécies ocupam extensas áreas em nosso território e a condição dessas populações ainda é desconhecida.

O crescimento exacerbado das atividades humanas por meio da agricultura, pecuária, rodovias e centros urbanos, além da poluição, caça e dos atropelamentos dos animais que se movimentam, cria um cenário potencialmente prejudicial para a persistência das espécies, como os felinos.

Dessa forma, é imperioso a intensificação de nossos estudos para compreendermos as respostas que esses animais estão dando frente à essas mudanças de habitats e, assim, nos instrumentalizarmos para tomar medidas de conservação desses animais; e para isso, a análise genética não invasiva pode ser decisiva.

REFERÊNCIAS

- ADRADOS, B., ZANIN, M., SILVEIRA, L. et al. Non-invasive genetic identification of two sympatric sister-species: ocelot (*Leopardus pardalis*) and margay (*L. wiedii*) in different biomes. Conservation Genet Resour (2018). <https://doi.org/10.1007/s12686-018-0992-5>.
- ALBAUGH, G. P.; IYENGAR, V.; LOHANI, A. **Isolation of exfoliated colonic epithelial cells, a novel, non-invasive approach to the study of cellular markers.** International Journal of Cancer, 52: 347-350. 1992.
- ALBERTS, C. C.; SARANHOLI, B. H.; FREI F. et al. **Comparing hair-morphology and molecular methods to identify fecal samples from Neotropical felids.** PLoS ONE 12(9): e0184073. 2017.
- AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history, and evolution.** 2a edição, Sinauer Associates, Inc Publishers, Sunderland, Massachusetts. 2004.
- BEJA-PEREIRA, A.; OLIVEIRA, R.; ALVES, P. C. et al. **Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics.** Molecular Ecology Resources, 9: 1279–1301. 2009.
- BELLEMAIN, E.; SWENSON, J.E.; TALLMON, D. et al. **Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected feces: four methods for brown bears.** Conservation Biology, 19(1): 150-161. 2005.
- BROQUET, T., MÉNARD, N., PETIT, E. **Noninvasive population genetics: a review of sample source, diet, fragment length and microsatellite motif effects on amplification success and genotyping error rates.** Conservation Genetics, 8(1), 249-260, 2007.
- BUCHAN, J. C.; ARCHIE, E. A.; HOM, R. C. V. et al. **Locus effects and sources of error in noninvasive genotyping.** Molecular Ecology Notes, 5: 680-683, 2005.
- CHAME, M. **Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98 (1): 71-94. 2003.
- CHAVES, P.B.; GRAEFF, V.G.; LION, M.B. et al. **DNA barcoding meets molecular scatology: short mtDNA sequences for standardized species assignment of carnivore noninvasive samples.** Molecular Ecology Resources, 12 (1): 18-35. 2012.

- CONFORTI, V. A.; DE AZEVEDO, F. C. C. **Local perceptions of jaguars (*Panthera onca*) and pumas (*Puma concolor*) in the Iguaçu National Park area, south Brazil.** *Biological Conservation*, 111(2): 215-221. 2003.
- DAVISON, A.; BIRKS, J. D. S.; BROOKES, R. C. et al. **On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats.** *Journal of Zoology* London, 257: 141-143. 2002.
- DE AZEVEDO, F. C. et al. **Avaliação do risco de extinção da onça-parda *Puma concolor* (Linnaeus, 1771) no Brasil.** *Biodiversidade Brasileira*, n. 1, p. 107–121, 2013.
- DEAGLE, B. E.; TOLLIT, D. J. **Quantitative analysis of prey DNA in pinniped faeces: potential to estimate diet composition?** *Conservation Genetics*, 8: 743-747. 2007.
- DE BARBA, M.; ADAMS, R. J.; GOLDBERG, C. S. **Molecular species identification for multiple carnivores.** *Conservation genetics resource*, v. 6, issue 4, 2014.
- DUTTA, T.; SHARMA, S.; MALDONADO, J. E. et al. **Fine-scale population genetic structure in a wide-ranging carnivore, the leopard (*Panthera pardus fusca*) in central India.** *Diversity and Distributions*, v. 19, n. 7, p. 760–771, 2013.
- EIZIRIK, E.; HAAG, T.; SANTOS, A.S. et al. **Jaguar Conservation Genetics.** *CAT News Special Issue 4 - The Jaguar in Brazil*. 2008.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D.A. **Introduction to Conservation Genetics.** Cambridge University Press, Cambridge. 2002.
- FRANKHAM, R. **Where are we in conservation genetics and where do we need to go?** *Conservation Genetics*, v. 11, n. 2, p. 661–663, 2009.
- GALETTI, M.; EIZIRIK, E.; BEISIEGEL, B. **Atlantic rainforest's jaguars in decline.** *Science*. 342(6161):930-930, 2013.
- GOLDSTEIN, D.; SCHLÖTTERER, C. **Microsatellites: Evolution and Applications.** Oxford University Press, New York, 368. 1999.
- GOLDSTEIN, D. B.; POLLOCK, D. D. **Launching microsatellites: a review of mutation process and methods of phylogenetic inference.** *Journal of Heredity*, 88: 335-342. 1997.
- GOTTELLI, D.; WANGH, J.; BASHIR, S. et al. **Genetic analysis reveals promiscuity among female cheetahs.** *Proc R Soc B*, Published online. 2007.
- HAAG, T.; SANTOS, A. S.; DE ANGELO, C. et al. **Development and testing of an optimized method for DNA-based identification of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) faecal samples for use in ecological and genetic studies.** *Diversity*, p. 505–512, 2009.
- HAAG, T.; SANTOS, A.S.; SANA, D.A. et al. **The effect of habitat fragmentation on the genetic structure of a top predator: loss of diversity and high differentiation among remnant populations of Atlantic Forest jaguars (*Panthera onca*).** *Molecular Ecology*, 19 (22): 4906-4921. 2010b.
- HAAG, T., SANTOS, A. S., VALDEZ, F. P. et al. **Molecular tracking of jaguar melanism using faecal DNA.** *Conserv Genet*, 11: 1239, 2010a.
- HEDMARK, E.; FLAGSTAD, Ø.; SEGERSTRÖM, P.; et al. **DNA-based individual and sex identification from wolverine (*Gulo gulo*) faeces and urine.** *Conservation Genetics*, 5: 405– 410. 2004.

- HOFFMAN, J. I.; AMOS W. **Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources e consequences for paternal exclusion.** *Molecular Ecology*, 14: 599–612. 2005.
- INTERNATIONAL UNION FOR THE CONSERVATION OF NATURE (IUCN) 2014. **Red list of threatened species.** Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/news/biodiversity-crisis> Acesso em: 14/05/2018.
- LEHMANN, L.; PERRIN, N. **On metapopulation resistance to drift and extinction.** *Ecology*, 87, 1844–1855. 2006.
- LIVIA, L.; FRANCESCA, V.; ANTONELLA, P. et al. **A PCR-RFLP method on faecal samples to distinguish *Martes martes*, *Martes foina*, *Mustela putorius* and *Vulpes vulpes*.** *Conservation Genetics*, 8: 757–759. 2007.
- MANEL, S.; SCHWARTZ, M.K.; LUIKART, G. et al. **Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics.** *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 189–197. 2003.
- MCNEELY, J.A.; MILLER, K.R.; REID, W.V. et al. **Conserving the world's biological diversity.** IUCN, Gland, Switzerland. 1990.
- MICHALSKI, F.; VALDEZ, F.V.; NORRIS, D. et al. **Successful carnivore identification with faecal DNA across a fragmented Amazonian landscape.** *Molecular Ecology Resources*, 11: 862–871. 2011.
- MIOTTO, R. A.; CERVINI, M.; BEGOTTI, R. A. et al. **Monitoring a Puma (*Puma concolor*) Population in a Fragmented Landscape in Southeast Brazil.** *Biotropica*, v. 44, n. 1, p. 98–104, 2012.
- MIOTTO, R. A.; CERVINI, M.; KAJIN, M. et al. **Estimating puma *Puma concolor* population size in a human-disturbed landscape in Brazil, using DNA mark–recapture data.** *Oryx*, v. 48, n. 2, p. 250–257, 2014.
- MIOTTO, R. A.; CIOCHETI, G.; RODRIGUES, F. P. et al. **Identification of pumas (*Puma concolor*, Linnaeus, 1771) through faeces: a comparison between morphological and molecular methods.** *Brazilian journal of biology. Revista brasleira de biologia*, v. 67, n. 4, p. 963–5, 2007b.
- MIOTTO, R. A.; CIOCHETI, G.; RODRIGUES, F. P. et al. **Determination of the Minimum Population Size of Pumas (*Puma concolor*) Through Fecal DNA Analysis in Two Protected Cerrado Areas in the Brazilian Southeast.** *Biotropica*, v. 39, issue 5, 2007a.
- MIOTTO, R.A.; CERVINI, M.; FIGUEIREDO, M.G. et al. **Genetic diversity and population structure of pumas (*Puma concolor*) in southeastern Brazil: implications for conservation in a human-dominated landscape.** *Conservation Genetics*, 12(6): 1447-1455. 2011.
- NESJE, M.; ROED, K. H.; LIFJELD, J. T. et al. **Genetic relationship in the falcon (*Falco peregrinus*) analysed by microsatellite DNA markers.** *Molecular Ecology*, 9: 53-60. 2000.
- OLIVEIRA, T. G.; CASSARO, K. **Guia de identificação de felinos brasileiros.** Atibaia, São Paulo: Instituto Pró-Carnívoros; Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Sociedade de Zoológicos do Brasil, Pró-Vida Brasil, 80. 2005.
- PALMER, J. D. **Chloroplast DNA evolution and biosystematics uses of chloroplast DNA variation.** *American Naturalist*, 130: S6-S29. 1987.
- PALOMARES, F. et al. **A non-invasive faecal survey for the study of spatial ecology and kinship of solitary felids in the Viruá National Park, Amazon Basin.** *Mammal Research*, v. 62, n. 3, p. 241–249, 2017.
- PALOMARES F.; ROQUES S.; CHÁVEZ C. et al. **High Proportion of Male Faeces in Jaguar Populations.** *PLoS ONE* 7(12): e52923, 2012.
- PALOMARES F.; FERNÁNDEZ N.; ROQUES S. et al. **Fine-Scale Habitat Segregation between Two Ecologically Similar Top Predators.** *PLoS ONE* 11(5): e0155626, 2016.

- PALOMARES, F.; GONZÁLEZ-BORRAJO, N.; CHÁVES C. **Scraping marking behavior of the largest Neotropical felids.** PeerJ 6: e4983, 2018.
- PALOMARES, F.; GODOY, J. A.; PÍRIZ, A.; O'BRIEN, S. J. et al. **Faecal genetic analysis to determine the presence and distribution of elusive carnivores: design and feasibility for the Iberian lynx.** Molecular ecology, v. 11, n. 10, p. 2171–82, 2002.
- PAVIOLO, A., DE ANGELO, C., FERRAZ, K.M. **A biodiversity hotspot losing its top predator: The challenge of jaguar conservation in the Atlantic Forest of South America.** Scientific Reports. n6, 2016.
- PIGGOT, M. P. **Effect of sample age and season of collection on the reliability of microsatellite genotyping of faecal DNA.** Wildlife Research, 31: 485-493, 2004.
- RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C. et al. **The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation.** Biological Conservation, 142: 1141-1153. 2009.
- RIPPLE, W. J. et al. **Status and ecological effects of the world's largest carnivores.** Science, v. 343, n. 6167, p. 1241484, 2014.
- RODGERS, T. W.; JANEČKA, J. E. **Applications and techniques for non-invasive faecal genetics research in felid conservation.** European Journal of Wildlife Research, v. 59, n. 1, p. 1–16, 2013.
- RODRÍGUEZ-CASTRO, K. G.; SARANHOLI, B. H.; BATAGLIA, L. et al. **Molecular species identification of scat samples of South American felids and canids.** Conservation Genetics Resources, p. 1–6, 2018.
- ROQUES, S.; FURTADO, M.; JÁCOMO, A. T. A. et al. **Monitoring jaguar populations *Panthera onca* with non-invasive genetics: a pilot study in Brazilian ecosystems.** Fauna & Flora International, Oryx, 1-9. 2014.
- ROQUES, S.; ADRADOS, B.; CHAVES, C. et al. **Identification of Neotropical felid faeces using RCP-PCR.** Molecular ecology Resources, v. 11, issue 1, 2011.
- ROQUES, S.; SOLLMAN, R.; JÁCOMO, A. et al. **Effects of habitat deterioration on the population genetics and conservation of the jaguar.** Conserv Genet 17: 125. 2016.
- SARANHOLI, B.; CHÁVEZ-CONGRAINS, K.; GALETTI, P. **Evidence of Recent Fine-Scale Population Structuring in South American *Puma concolor*.** Diversity, v. 9, n. 4, p. 44, 2017.
- SCHIPPER, J.; CHANSON, J. S.; CHIOZZA F. et al. **The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge.** Science, 322: 225–230. 2008.
- SELKOE, K. A.; TOONEN, R. J. **Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers.** Ecology letters, v. 9, n. 5, p. 615–629, 2006.
- SOLLMANN, R.; BETSCH, J.; FURTADO, L. et al. **Note on the diet of the jaguar in central Brazil.** European journal of wildlife research, 59(3), 445-448. 2013.
- SOLLMANN, R.; TÔRRES, N. M.; FURTADO, M. M. et al. **Combining camera-trapping and noninvasive genetic data in a spatial capture–recapture framework improves density estimates for the jaguar.** Biological conservation, 167, 242-247. 2013.
- SOUZA, A. S. M. C.; DEL LAMA, S. N.; MIÑO C. I. **Conspecific brood parasitism in the white-faced ibis *Plegadis chihi* (Aves: Pelecaniformes) revealed by microsatellites' based kinship-reconstruction.** J. Exp. Zool. 319A:277–284 2013.
- SOUZA A. S. M. C.; MIÑO C. I., DEL LAMA S. N. **Polymorphic heterologous microsatellite loci for population genetics studies of the white- faced ibis *Plegadis chihi* (Vieillot, 1817) (Pelecaniformes, Threskiornithidae).** Genet Mol Biol 35:74–80. 2012.
- SOUZA, A. S. M. C.; SARANHOLI, B. H.; CRAWSHAW JR, P. G. et al. **Re-discovering jaguar in remaining coastal atlantic forest in southeastern Brazil by non-invasive DNA analysis.** Biota

Neotropica, v. 17, n. 2, 2017.

SPIELMAN, D. et al. **Does inbreeding and loss of genetic diversity decrease disease resistance?** Conservation Genetics, 5(4): 439-448. 2004.

SRBEK-ARAUJO, A. C.; HAAG, T.; CHIARELLO, A. G. et al. **Worrisome isolation: noninvasive genetic analyses shed light on the critical status of a remnant jaguar population.** Journal of Mammalogy, v. 99, n. 2, p. 397–407, 2018.

STANTON D. W. G., JOHN H., ASHLEY V. et al. **Non-invasive genetic identification confirms the presence of the Endangered okapi *Okapia johnstoni*** south-west of the Congo River. Oryx. Volume 50, Issue 1, pp. 134-137, 2016

SUNQUIST, M. E.; SUNQUIST, F. **Wild Cats of the World.** University of Chicago Press, Chicago, IL. 2002.

TABERLET, P.; LUIKART, G. **Non-invasive genetic sampling and individual identification.** Biological Journal of the Linnean Society, 68: 41–55. 1999.

TAUTZ, D. **Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic markers.** Nucleic Acids Research, 17(16): 6463-6471, 1989.

TURCHETTO-ZOLET, C. **Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações** / Andreia Carina Turchetto, Camila Martini Zanella e Gisele Passaia (organizadores). – Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 181 p., 2017.

VELLI, E., BOLOGNA, M.A., SILVIA, C. et al. Non-invasive monitoring of the European wildcat (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777): comparative analysis of three different monitoring techniques and evaluation of their integration. Eur J Wildl Res, 61: 657, 2015.

WALKER, F. M.; WILLIAMSON, C. H. D.; SANCHEZ DE, et al. **Species from Feces: Order-Wide Identification of Chiroptera From Guano and Other Non-Invasive Genetic Samples.** PLoS ONE 11(9), 2016.

WEBER, W; RABINOWITZ, A. **A global perspective on large carnivore conservation.** Conservation Biology, 10: 1046-1054. 1996.

WHEAT R. E.; ALLEN J. M.; MILLER S. D. L. **Environmental DNA from Residual Saliva for Efficient Noninvasive Genetic Monitoring of Brown Bears (*Ursus arctos*).** PLoS ONE 11(11), 2016.

ZELLER, K.A. **Jaguars in the New Millennium.** Data Set Update: The State of the Jaguar in 2006. Wildlife Conservation Society, Bronx, New York. 2007.

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

