




Tópicos Integrados de Zoologia 2

José Max Barbosa Oliveira-Junior
Lenize Batista Calvão
(Organizadores)



Tópicos Integrados de Zoologia 2

José Max Barbosa Oliveira-Junior
Lenize Batista Calvão
(Organizadores)

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremona

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Prof^ª Dr^ª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof^ª Dr^ª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
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. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^ª Dr^ª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof^ª Dr^ª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª 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. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dr^ª Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Alborno – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior

Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo

Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará

Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba

Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão

Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo

Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana

Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí

Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo

Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Luiza Alves Batista
Correção: Giovanna Sandrini de Azevedo
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizador:es José Max Barbosa Oliveira-Junior
Lenize Batista Calvão

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T674 Tópicos integrados de zoologia 2 / Organizadores José Max Barbosa Oliveira-Junior, Lenize Batista Calvão. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-562-4

DOI 10.22533/at.ed.624201311

1. Zoologia. I. Oliveira-Junior, José Max Barbosa (Organizador). II. Calvão, Lenize Batista (Organizadora). III. Título.

CDD 590

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

Declaração dos Autores

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos.

APRESENTAÇÃO

O e-book “**Tópicos Integrados de Zoologia 2**” é composto por oito capítulos que abordam distintos tópicos de uma especialidade da biologia que estuda os animais, a Zoologia. Com muita satisfação convidamos os leitores a lerem o e-book que traz temas relevantes sobre atualidade dentro da área de estudo.

Nessa segunda edição, o e-book disponibiliza temas diversificados de conhecimentos e áreas de interesse. A transformação das características naturais dos diversos sistemas terrestres e aquáticos no globo devido as alterações antrópicas estão aumentando continuamente. Buscar ferramentas efetivas de conservação da biodiversidade exige um conhecimento técnico e também abrangente. Uma vez que, diferentes organismos apresentam distribuições geográficas distintas, bem como requerimentos muito específicos seja de habitat e de alimentação, que devem ser levados em consideração no planejamento de conservação da diversidade. Outro aspecto importante a ser destacado é a importância de coleções estruturadas a nível de espécie para preencher lacunas taxonômicas, que contribuiu para avaliação da vulnerabilidade das espécies. Diante desse arcabouço, dentro do e-book “**Tópicos Integrados de Zoologia 2**”, os seguintes tópicos são abordados (i) monitoramento e novos registros de espécies exóticas invasoras; (ii) levantamento e contribuição de coleções entomológicas. Interessante que esse estudo foi realizado na Mata Atlântica um dos biomas com grande concentração de desmatamento; (iii) registro da primeira ocorrência de um bivalve de água doce; (iv) hábitos alimentares específicos de peixes de água doce; (v) efeitos negativos que a construção das hidrelétricas causam no bem estar de populações de peixes; (vi) uso de organismos bioindicadores da qualidade da água; (vii) uso de biomarcadores para estudos genéticos de populações; e (viii) uma revisão de estudos genéticos no litoral amazônico para aprimorar o conhecimento sobre os estoques da região e suas dinâmicas em relação a pesca.

Demonstramos acima a diversidade de conteúdos que a Zoologia abrange e sua importância, desta forma, apresentamos os oito capítulos que integram esse e-book, que demonstram em seus objetivos de forma aplicada e holística vários tópicos da Zoologia.

A você leitor(a), desejamos uma excelente leitura.

José Max Barbosa Oliveira-Junior
Lenize Batista Calvão

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

SISTEMA INTEGRADO DE MANEJO DE FAUNA

Graziele Oliveira Batista
Juliana Junqueira
Virginia Santiago Silva
Geordano Dalmedico
Marcelle Nogueira Moura
Ivan Teixeira
Raquel Monti Sabaini
Rodrigo Dutra da Silva
João Pessoa Riograndense Moreira Júnior

DOI 10.22533/at.ed.6242013111

CAPÍTULO 2..... 10

A CONTRIBUIÇÃO DA COLEÇÃO ENTOMOLÓGICA DA RESERVA NATURAL VALE PARA ODONATA (INSECTA)

Karina Schmidt Furiere
Wesley Dondoni Colombo

DOI 10.22533/at.ed.6242013112

CAPÍTULO 3..... 18

NOVO REGISTRO DE *LIMNOPERNA FORTUNEI* (DUNKER 1856) (BIVALVIA, MYTILIDAE) NO RIO IBICUÍ, SUL DO BRASIL

Luciani Figueiredo Santin

DOI 10.22533/at.ed.6242013113

CAPÍTULO 4..... 24

HÁBITOS ALIMENTARIOS DE LA MORRÚA *Geophagus steindachneri* (CICHLIDAE) EN LA CIÉNAGA DE BETANCÍ, COLOMBIA

Charles W. Olaya-Nieto
Rafael Ricardo Macea-Portillo
Yovilma Rosa Petro-Hoyos
Ángel L. Martínez-González
Glenys Tordecilla-Petro
Fredys Fernando Segura-Guevara
Delio César Solano-Peña
William Andrés Pérez-Doria

DOI 10.22533/at.ed.6242013114

CAPÍTULO 5..... 38

EFECTOS DE LA HIDROELÉCTRICA URRÁ SOBRE EL CRECIMIENTO Y CONDICIÓN DEL BLANQUILLO *SORUBIM CUSPICAUDUS* EN EL RÍO SINÚ

Sonia E. Sánchez-Banda
Ángel L. Martínez-González
Fredys Fernando Segura-Guevara
Glenys Tordecilla-Petro

Delio César Solano-Peña
William Andrés Pérez-Doria
Charles W. Olaya-Nieto

DOI 10.22533/at.ed.6242013115

CAPÍTULO 6..... 52

EFEITO DO HIDROPERÍODO SOBRE OS MACROBENTOS UTILIZADOS NA ANÁLISE DA QUALIDADE DA ÁGUA NO TRECHO MÉDIO DO RIO PITIMBU/RN

Jaqueline Cristina Oliveira dos Santos
Victor Henrique Silva Cavalcanti
Herbet Tadeu de Almeida Andrade
João Vinícius Cruz Barbosa

DOI 10.22533/at.ed.6242013116

CAPÍTULO 7..... 65

BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES PARA IDENTIFICACIÓN TEMPRANA DE SEXO Y ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES*

Jorge Touma
Killen Garcia
Scarleth Bravo
Francisco Leiva
Rodrigo Vidal

DOI 10.22533/at.ed.6242013117

CAPÍTULO 8..... 78

ESTUDOS MOLECULARES APLICADOS A CONSERVAÇÃO DE ELASMOBRÂNQUIOS NO LITORAL AMAZÔNICO

Luis Fernando da Silva Rodrigues Filho
Eduardo Lopes de Lima
João Victor Almeida de Carvalho
João Bráullio de Luna Sales

DOI 10.22533/at.ed.6242013118

SOBRE OS ORGANIZADORES 97

ÍNIDICE REMISSIVO 98

CAPÍTULO 7

BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES PARA IDENTIFICACIÓN TEMPRANA DE SEXO Y ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES*

Data de aceite: 01/11/2020

Jorge Touma

Laboratory of Molecular Ecology, Genomics, and Evolutionary Studies, Department of Biology, University of Santiago de Chile, Santiago, Chile.

Facultad de Medicina, Centro de Investigación Biomédica, Universidad Diego Portales, Santiago, Chile

Killen Garcia

Laboratory of Molecular Ecology, Genomics, and Evolutionary Studies, Department of Biology, University of Santiago de Chile, Santiago, Chile

Scarleth Bravo

Laboratory of Molecular Ecology, Genomics, and Evolutionary Studies, Department of Biology, University of Santiago de Chile, Santiago, Chile

Francisco Leiva

Laboratory of Molecular Ecology, Genomics, and Evolutionary Studies, Department of Biology, University of Santiago de Chile, Santiago, Chile

Rodrigo Vidal

Laboratory of Molecular Ecology, Genomics, and Evolutionary Studies, Department of Biology, University of Santiago de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN: Una de las actividades más relevantes que tiene Chile es la acuicultura. Focalizado principalmente en salmónidos. Por lo que, en los últimos años, el país ha puesto en marcha un programa de diversificación acuícola de especies marinas como *Dissostichus eleginoides* (*Patagonian toothfish* o bacalao de profundidad *D. eleginoides* es un recurso con un elevado valor económico, nutricional y con una elevada demanda tanto en mercados nacionales como internacionales. La sobrepesca de este recurso ha dejado como consecuencia que se encuentra catalogado como “Agotado y en fuerte sobrepesca” por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura de Chile. Este pez se distribuye por todo el territorio marítimo chileno, y es de gran tamaño y con una vida media de 50 años, con una madurez sexual de alrededor de 10 años. Este lento crecimiento sexual, dificulta la separación temprana de machos y hembras que mejoran el manejo de la especie en términos productivos. La búsqueda de biomarcadores específicos de sexo es un recurso importante si se plantea generar una producción sostenible en el tiempo de *D. eleginoides*. Por otro lado, los estudios genéticos de población pueden generar información relevante y necesaria tales como conexión de poblaciones, diseño de unidades de administración y diversidad genética. Información relevante para poder evitar el *inbreeding*, mejorando la producción. Se logró determinar un SNP (*single nucleotide polymorphism*) para determinar de manera temprana el sexo y obtuvieron 11 SSR (*simple sequence repeat*) para análisis de estructura poblacional mediante RADseq y secuenciación mediante Illumina

MiSeq Nano platform respectivamente.

PALABRAS CLAVE: Biomarcador, SNPs, SSR, *Dissostichus eleginoides*.

SEARCH FOR BIOMARKERS FOR EARLY IDENTIFICATION OF SEX AND POPULATION STRUCTURE OF DISSOSTICHUS ELEGINOIDES

ABSTRACT: One of the most relevant activities that Chile has is aquaculture. Mainly focused on salmonids. Therefore, in recent years, the country has launched an aquaculture diversification program for marine species such as *Dissostichus eleginoides* (Patagonian toothfish). *D. eleginoides* is a resource with high economic and nutritional value and with high Demand both in national and international markets. The overfishing of this resource has resulted in it being classified as "Exhausted and heavily overfished" by the Chilean Undersecretary of Fisheries and Aquaculture. This fish is distributed throughout the Chilean maritime territory, and it is large in size and with a half-life of 50 years, with a sexual maturity of around 10. This slow sexual growth makes the early separation of males and females difficult, improving the management of the species in productive terms. Search of specific sex biomarkers is an important resource if it is proposed to generate a sustainable production over time of *D. eleginoides*. On the other hand, genetic studies of the population can generate relevant and necessary information such as population connection, design of management units and genetic diversity. Relevant information to avoid inbreeding, improving production. It was possible to determine a SNP (single nucleotide polymorphism) to determine the sex early and they obtained 11 SSRs (single sequence repeat) for population structure analysis by RADseq and sequencing by Illumina MiSeq Nano platform respectively.

KEYWORDS: Biomarker, SSR, SNPs, *Dissostichus eleginoides*.

1 | INTRODUCCIÓN

Desde su origen en 1950 en Chile como una actividad socio-económica relevante, la acuicultura, entendiéndose como tal el cultivo de organismos acuáticos con técnicas encaminadas a hacer más eficiente su producción, ha experimentado a nivel mundial un crecimiento sostenido, con una velocidad de progresión superior al resto de los sectores de producción de alimentos de origen animal. El principal fundamento para esta rápida expansión corresponde a la limitación que presentan los recursos naturales como fuente de alimento, incapaces por sí solos de hacer frente a la creciente demanda mundial por alimentos. Esto se refleja claramente en que, en la actualidad más de la mitad de los productos acuícolas consumidos por la población mundial proceden de centros de cultivo. (FUENTES OLMOS, 2014)

Aunque la acuicultura es muy diversa e incluye peces, moluscos, crustáceos, algas e invertebrados, su principal actividad se centra en el cultivo de peces, que actualmente representa dos tercios de la producción acuícola mundial animal y engloba 346 especies (FISHERIES; AQUACULTURE, 2013). En Chile, la acuicultura representa una de las actividades económicas más relevantes, junto con la minería y el sector forestal.

Una de las principales especies acuícolas con gran potencial exportador para nuestro país, corresponde a *Dissostichus eleginoides* (Smitt, 1898) o bacalao de profundidad. El bacalao de profundidad, también conocido como merluza negra, patagonian toothfish, Mero, chilean seabass, merluza negra austral o merluza austral de la patagonia, es un importante recurso pesquero nacional con un elevado valor comercial (USD\$35 por kilogramo de peso) (IFOP, 2017). Esta especie corresponde a un pez bentopelágico, con una larga vida y que está ampliamente distribuido a lo largo de la costa de Chile, desde la plataforma patagónica e islas subantárticas y montes submarinos a profundidades de 1.000 a 2.000 metros (COLLINS et al., 2010). *D. eleginoides*. logra un gran tamaño, alcanzando longitudes de 2 a 3 metros y pesos mayores de 200 kilogramos, y es un recurso objetivo de pesquerías comerciales que suministra al mercado individuos silvestres (COLLINS et al., 2010) which initially grow rapidly on the shallow shelf areas, before undertaking an ontogenetic migration into deeper water. Although they are active predators and scavengers, there is no evidence of large-scale geographic migrations, and studies using genetics, biochemistry, parasite fauna and tagging indicate a high degree of isolation between populations in the Indian Ocean, South Georgia and the Patagonian Shelf. Patagonian toothfish spawn in deep water (ca. 1000. m. Sin embargo, debido a la débil normativa y en parte a la pesca indiscriminada, inclusive capturando individuos juveniles de muy bajo peso (<2kg) que generan una disrupción en el ecosistema de este pez, desde la década de los 90, este recurso está considerado en estatus de sobreexplotado (MARKO; NANCE; GUYNN, 2011; REYES et al., 2012), lo cual impone serias restricciones al volumen total de individuos silvestres que pueden ser capturados.

De esta forma, el desarrollo e implementación del cultivo industrial del bacalao de profundidad representa un objetivo fundamental dentro de los programas de diversificación acuícolas nacionales. Por lo que es menester conocer sobre la biología de la especie a cultivar, factores ambientales que la afectan, condiciones de alimentación, comportamiento, patógenos y caracterización de las etapas de desarrollo embrionario y larvario entre otros aspectos.

Hoy en día, al sur de Chile, en Chiquihue, Puerto Montt, se encuentra en centro pionero de incubación y desarrollo de *D. eleginoides* (Chilean Seabass Aquaculture - www.chileanseabass.cl). En la actualidad, ha logrado estandarizar el proceso reproductivo de este pez, en términos de dieta, temperatura, condiciones de cultivo (condiciones del agua, fotoperiodos y termoperiodos), procesos de maduración para hembras y machos; logrando conseguir los gametos correspondientes de cada uno de ellos para su posterior fecundación y reproducción, además caracterizar morfológicamente los estadios embrionarios y larvales de esta especie (MUJICA et al., 2016)

El bacalao de profundidad (*Dissostichus eleginoides*) es un gran nototénido con una gran capacidad migratoria, que se encuentra en las plataformas y pendientes del sur de América del Sur y alrededor de las islas subantárticas del Océano Austral (EVSEENKO;

KOCK; NEVINSKY, 1995). Debido a su tamaño y características nutricionales, es un recurso de alto valor económico, con alta demanda, tanto en los mercados nacionales como en el exterior (GRILLY et al., 2015). Además, el bacalao de profundidad es una especie clave dentro del ecosistema marino (EVSEENKO; KOCK; NEVINSKY, 1995). Sin embargo, las características biológicas del bacalao de profundidad, como una vida útil prolongada, el inicio tardío de la madurez reproductiva y un número relativamente pequeño de huevos, lo hacen altamente vulnerable a la sobreexplotación.

Actualmente, está ampliamente aceptado que los estudios genéticos poblacionales, en combinación con otros estudios (por ejemplo, ecológicos), pueden generar información relevante y necesaria en varios aspectos clave, como la conexión de las poblaciones, el diseño de unidades de manejo y la diversidad genética, entre otros (HEDRICK, 1999). En este contexto, el desarrollo de marcadores moleculares es uno de los primeros pasos lógicos. Los microsatélites (o la repetición de secuencias simples -SSR-) han sido durante mucho tiempo, los marcadores moleculares más utilizados en estudios genéticos poblacionales, debido a sus altos niveles de polimorfismo, estabilidad y codominancia (LI et al., 2002; WEBER, 1990). Aunque hay algunos estudios enfocados en la evaluación de los aspectos genéticos poblacionales de las dentaduras patagónicas, se han visto limitados por el escaso número de microsatélite disponibles para esta especie (cinco loci (ARANEDA et al., 2017)). Aunque el número exacto de loci de segregación independiente que se utilizará en estudios genéticos poblacionales es todavía una cuestión de controversia, los estudios empíricos y teóricos han demostrado que un número limitado de loci puede generar conclusiones sesgadas (KOSKINEN et al., 2004). Hoy en día, los avances en tecnologías de secuenciación de alto rendimiento (REUTER; SPACEK; SNYDER, 2015) ofrecen una gran oportunidad para generar cientos de loci de microsatélites. Por lo tanto, para satisfacer las necesidades de los marcadores moleculares en esta valiosa especie, desarrollamos y evaluamos un número importante de loci de microsatélites utilizando Illumina MiSeq. Por otro lado, Si se plantea generar una producción sostenible en el tiempo de *D. eleginoides*, la búsqueda de biomarcadores específicos de sexo para animales es un recurso muy relevante para la industria (LIU et al., 2018). Los estudios genéticos de población pueden generar información relevante y necesaria tales como conexión de poblaciones, diseño de unidades de administración y diversidad genética. Información relevante para poder evitar el *inbreeding*, mejorando la producción (CONNON et al., 2018; HERAS, 2020; YOU; LI; ZHOU, 2019). En el presente trabajo se encontró un SNP (*single nucleotide polymorphism*) de identificación de sexo temprano y 11 SSR no codificantes (*simple sequence repeat*) para análisis de estructura poblacional mediante RADseq (restriction site-associated DNA sequencing) y secuenciación mediante Illumina MiSeq Nano *platform* respectivamente. Los marcadores generados aquí representan una herramienta importante para futuros estudios de diversidad genética, estructura poblacional y sexo temprano de *D. eleginoides*.

2 | MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis de SSR, se obtuvo DNA genómico total de 8 individuos. Posteriormente los DNA totales extraídos se mezclaron y secuenciaron en la plataforma Illumina MiSeq Nano (San Diego, CA, EE. UU.). Posteriormente se realizó procesamiento de lecturas (EDGAR, 2010; MEGLÉCZ et al., 2010). Para la evaluación de polimorfismos y diversidad genética de cada locus, se recolectaron 20 muestras de *D. eleginoides* de dos localidades separadas 2,370 kilómetros. Se recogieron doce de la costa del océano Pacífico de Puerto Montt y ocho muestras de la costa del océano Pacífico de Iquique (Figura 1). Los SSRs posteriormente se procesaron en un analizador genético SeqStudio (Applied Biosystems™). Los datos de Fsa con valores pico se procesaron y analizaron en Genemarker v2.4. Se utilizó el programa GeneAlex v6.51b2 para determinar varios parámetros genéticos. Genepop para estimar el coeficiente de consanguinidad de Wright (FIS) y el posible desequilibrio de ligamiento entre pares de loci y Cervus v3.0.7 para estimar el contenido de información polimórfica (PIC) por loci. También se evaluó la presencia de alelo nulo, gran abandono de alelos y presencia de *stutter* para cada locus de microsatélite con Microchecker v2.2.3, utilizando 1000 aleatorizaciones.

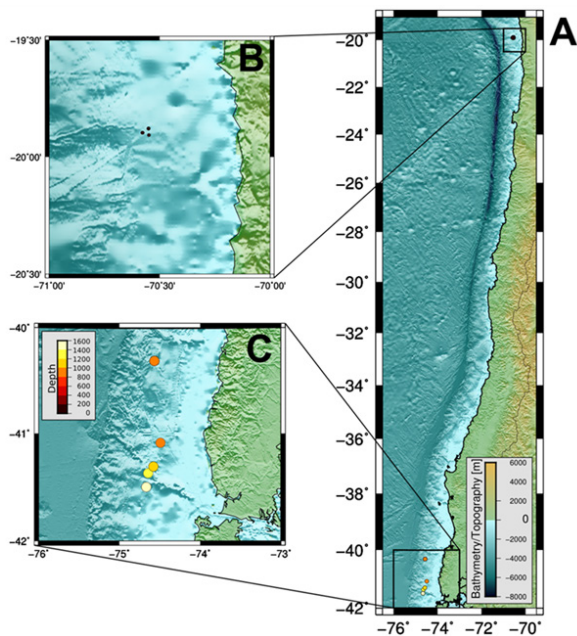


Figura 1. Muestras de ubicaciones de sitios a través del océano pacífico chileno. A) Amplio panorama de la distancia entre ambas regiones chilenas utilizada para la recolección de muestras. B) Región norte (Iquique) en 3 sitios diferentes, se recolectaron 8 muestras. C) Región sur (Puerto Montt) en 5 sitios diferentes (y diferentes profundidades) se recolectaron 12 muestras.

Para la búsqueda de biomarcadores de sexo, se obtuvieron 10 individuos de sexo conocido de la zona de Pisagua, Iquique, Chile. Posteriormente se realizó un RAD-seq por Floragenex, Inc. (Eugene, OR, EE. UU.) (STÖLTING et al., 2013) two ecologically divergent hybridizing forest trees, using >38,000 SNPs assayed by restriction site associated DNA (RAD). Posteriormente, se realizaron análisis bioinformáticos (LANGMEAD et al., 2009; LI, 2011). Finalmente se realizó alineamientos para identificar el fragmento de proteína del biomarcador. Se realizó análisis de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) en gel de poliacrilamida y posteriormente análisis de SNaPshot y secuenciación Sanger del amplicón de 110pb para observar el SNP presente en machos y hembras de *D. eleginoides* con el equipo Applied Biosystems SeqStudio Genetic Analyzer, ThermoFisher, USA

3 I RESULTADOS

3.1 Obtención de biomarcadores de tipo SSR no codificantes en *D. eleginoides* para análisis poblacional para su mejor cultivo

Usando la secuenciación de Illumina del ADN genómico del bacalao de profundidad, se obtuvieron 1,861,572 secuencias en bruto, con aproximadamente 456 millones de bases. Se identificaron 1,071 loci de microsatélite con sus respectivos pares de primers. Entre ellos, 888 (82.9%) microsatélites eran motivos de secuencia de repetición doble, 161 (15.03%) fueron motivos de secuencia de repetición triple, 15 (1.4%) fueron motivos de secuencia repetitiva tetra, 5 (0.46%) secuencia de repetición penta los motivos y 2 (0.18%) fueron motivos de secuencia de repetición hexagonal. Parece ser que la frecuencia de los motivos repetidos disminuye con el aumento de las cantidades de bases en cada motivo, con la excepción del motivo CG, que es el único motivo de secuencia de repetición doble con la frecuencia mínima.

De los 195 pares de cebadores seleccionados, los primeros treinta y cinco cebadores con los motivos más repetitivos se eligieron para usar en este estudio, de los cuales se comprobó que veintidós motivos de microsatélites tienen buena calidad técnica, es decir, no presentaron una cantidad significativa de *stutter*. En un nivel de población global, la mayoría de estos loci de microsatélites mostraron un nivel adecuado de polimorfismo. El rango de alelos y PIC varió de 2 a 22 (media por locus: 11.14) y de 0.374 a 0.937 (media: 0.748), respectivamente.

En un análisis local, el número de alelos varió de 2 a 17 en la ubicación de Puerto Montt y la heterocigosidad observada varió de 0,00 a 0,90, mientras que la heterocigosidad esperada varió de 0,15 a 0,92. En el caso de la ubicación de Iquique, 3 loci (DELIG-22, DELIG 31 y DELIG 32) fueron monomorfas y el resto de los loci presentaron un rango de número de alelos de 2 a 12 y un rango de heterocigosidad observada y esperada de 0.12 a 0.87. y de 0.11 a 0.90, respectivamente. Los coeficientes de consanguinidad (PIS) estadísticamente significativos ($p < 0.05$) variaron de 0.11 a 1.0 en la ubicación de

Puerto Montt y de -0.02 a 0.80 en la ubicación de Iquique. Se determinaron desviaciones significativas de HWE a cuatro loci (DELIG-6, DELIG-12, DELIG-15 y DELIG-25) en la ubicación de Puerto Montt y a uno (DELIG-18) en la ubicación de Iquique. La devaluación de artefactos técnicos por Micro-Checker v2.2.3, indicó que tres loci (DELIG-6, DELIG-12 y DELIG-25) mostraron evidencia de alelo nulo (Tabla 1)

Microsatellite loci	Location	Na	Ho	He	FIS
DELIG-1	Puerto Montt	17	0.75	0.92	0.22*
	Iquique	10	0.71	0.87	0.25*
DELIG-2	Puerto Montt	16	0.66	0.91	0.31*
	Iquique	12	0.71	0.9	0.28*
DELIG-3	Puerto Montt	6	0.41	0.75	0.48*
	Iquique	5	0.16	0.73	0.80*
DELIG-6	Puerto Montt	7	0.33	0.77*	0.59*
	Iquique	4	0.87	0.70	-0.18
DELIG-7	Puerto Montt	14	0.83	0.89	0.11
	Iquique	6	0.62	0.57	-0.01
DELIG-9	Puerto Montt	8	0.58	0.81	0.32*
	Iquique	7	0.62	0.78	0.27
DELIG-12	Puerto Montt	5	0.25	0.6*	0.61*
	Iquique	5	0.37	0.64	0.46*
DELIG-13	Puerto Montt	15	0.75	0.90	0.21*
	Iquique	10	0.50	0.88	0.48*
DELIG-14	Puerto Montt	5	0.66	0.71	0.11*
	Iquique	2	0.37	0.30	-0.16
DELIG-15	Puerto Montt	6	0.58	0.77*	0.28*
	Iquique	7	0.75	0.84	0.17
DELIG-17	Puerto Montt	14	0.66	0.90	0.30*
	Iquique	8	0.50	0.84	0.46*
DELIG-18	Puerto Montt	2	0.50	0.37	-0.29
	Iquique	3	0.62	0.57*	-0.02*
DELIG-19	Puerto Montt	4	0.50	0.51	0.06
	Iquique	3	0.37	0.32	-0.10
DELIG-20	Puerto Montt	3	0.16	0.15	-0.02
	Iquique	3	0.25	0.39	0.42
DELIG-22	Puerto Montt	5	0.45	0.61	0.30
	Iquique	1	-	-	-
DELIG-23	Puerto Montt	2	0.00	0.44	1.0*
	Iquique	2	0.12	0.11	-
DELIG-24	Puerto Montt	8	0.33	0.73	0.57*
	Iquique	5	0.71	0.68	0.03
DELIG-25	Puerto Montt	12	0.50	0.88*	0.47*
	Iquique	11	0.75	0.88	0.21
DELIG-30	Puerto Montt	8	0.66	0.80	0.21
	Iquique	7	0.87	0.80	-0.02
DELIG-31	Puerto Montt	2	0.00	0.15	1.0*
	Iquique	1	-	-	-
DELIG-32	Puerto Montt	2	0.18	0.16	-0.05
	Iquique	1	-	-	-
DELIG-33	Puerto Montt	9	0.91	0.74	-0.19
	Iquique	7	0.50	0.82	0.45*

Tabla 1. Marcadores de microsatélite seleccionados para la genotipificación de los 20 individuos de bacalao de profundidad de 2 lugares de la costa del océano Pacífico, Chile. Na: número de alelos; Ho: heterocigosidad observada He: heterocigosidad esperada; FIS: coeficiente de endogamia. *: desviación significativa ($p < 0,05$) del coeficiente de endogamia y equilibrio de Hardy-Weinberg, para cada ubicación y lugar.

3.2 Obtención SNPs involucrados en la detección de sexo temprano en *D. eleginoides* para su mejor cultivo

Usando la técnica de RAD-seq se obtuvieron fragmentos RAD de 91 pb. Posteriormente al análisis bioinformático, esta técnica arrojó 39.892 RAD_kmer de 91pb, los cuales fueron filtrados en ausencia en hembras y presencia en machos. Lo que redujo a 4 RAD_kmer los cuales se filtraron por la presencia o ausencia del SNP (Figura 2).

#CHROM	POS	REF	ALT	Female 11	Female 2	Male 19	Male 17	Male 13	Female 22	Male 20	Male 18	Female 05	Male 21
RAD_kmer_0010666	35	A	T	0/0	0/0	0/1	0/1	0/1	0/0	0/1	0/1	0/0	0/1
RAD_kmer_0016418	50	A	C	0/0	0/0	0/1	0/1	0/1	0/0	0/1	0/1	0/0	1/1
RAD_kmer_0042887	89	A	T	0/0	0/0	0/1	0/1	0/1	0/0	0/1	0/1	0/0	0/1
RAD_kmer_0046899	86	C	T	0/0	0/0	0/1	0/1	0/1	0/0	0/1	1/1	0/0	0/1

Figura 2. RAD_kmers escogidos para mandar a sintetizar partidores. Se observa la ausencia de SNPs en hembras y presencia en machos

Dado la ausencia de un genoma de *D. eleginoides* se realizó un BLASTx de Iso RAD_kmers contra el genoma de un pez cercano, *Nothothenia corriceps*. El análisis identificó un fragmento de la proteína fosfatidilinositol 4 fosfato 5 kinasa (PI4P5K). El resultado obtenido fue la enzima perteneciente al género de peces de hielo de bacalao (*cod*) nativos del Océano Austral y otras aguas alrededor de la Antártida con una identidad del 100% con un query cover de 72%. Con esta secuencia se determinó la síntesis de primers que flanquearan el amplicón y mediante RFLP se determinó la presencia o ausencia del SNP involucrado en el sexo el cual daba un patrón particular debido al sitio de corte de la enzima *A**l**u**l* (5'-AG/CT-3') en donde hay un cambio del tercer nucleótido del sitio de la enzima de restricción. Donde C/C es para hembra y C/T es para macho (figura 3).

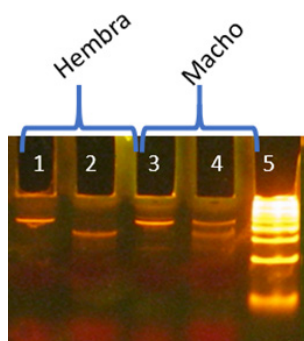


Figura 3. Gel de poli-acrilamida al 12%. Carril 1 amplicón de hembra sin digerir. Carril 2 amplicón de hembra digerido con *A**l**u**l*. Carril 3 amplicón de macho sin digerir. Carril 4 amplicón de macho digerido con *A**l**u**l*. Carril 5 estándar low range.

Para la confirmación de la secuencia donde se encontraba el SNP se realizó la secuenciación Sanger arrojando el polimorfismo para el caso de los machos (Figura 4).

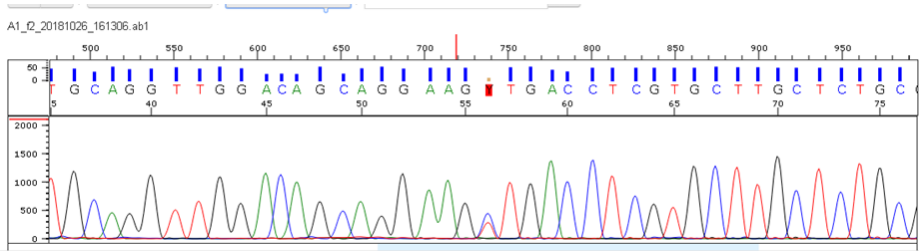


Figura. 4. Electroferograma de secuenciación de fragmento amplificado. La letra Y indica el SNP que puede ser T/C.

Para una detección y diagnóstico más rápido se implementó la técnica de SNaPshot. El Sistema Multiplex SNaPshot® de ThermoFisher USA, el cual es un método basado en la extensión de cebadores desarrollado para el análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP); el cual confirmó la presencia de heterocigocidad en el caso de los machos y homocigocidad en el caso de las hembras (Figura 5).

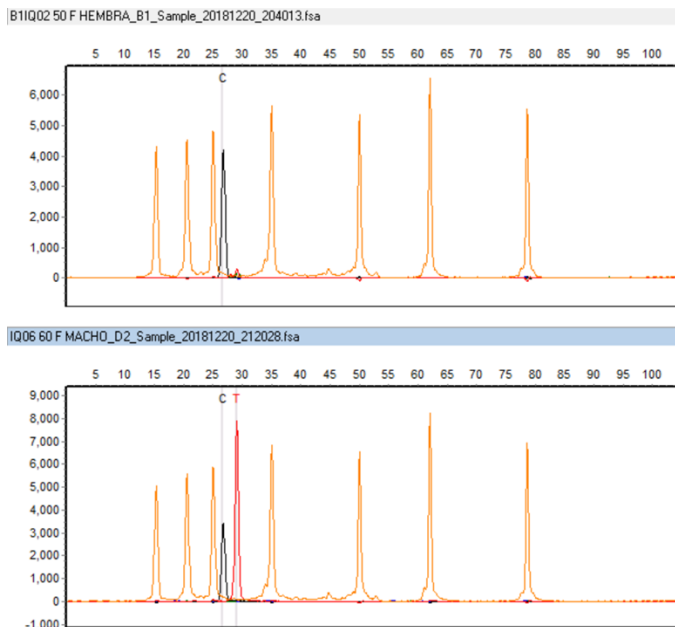


Figura 5. Análisis de SNaPshot. Figura de arriba corresponde a una hembra de *D. eleginoides* y la figura de abajo a un macho. Se puede observar que en la hembra hay un solo pico versus el macho presenta dos picos, dado al polimorfismo.

4 | DISCUSIÓN

El uso de biomarcadores para la industria acuícola para la optimización de la producción de peces ha sido fuertemente explotado (Wang et al., 2019; Araneda et al., 2017; X. Li et al., 2020; Mojekwu & Anumudu, 2013). La obtención y comprobación de 11 biomarcadores de tipo SSR no codificantes en *D. eleginoides* ha sido un logro importante para la futura industria del bacalao de profundidad. Este trabajo, es el primer estudio en el que se utiliza tecnología de secuenciación de alto rendimiento para desarrollar 22 marcadores genéticos (SSRs) en *D. eleginoides* los cuales se comprobaron con un variado set de muestras. Estos resultados permitirán realizar análisis de población y certificación de crianzas de estos peces, evitando la endogamia en su cultivo de forma rápida y fiable, obtener información suficiente de un individuo o grupo de individuos para llevar a cabo análisis de poblaciones, o establecer relaciones de parentesco con gran precisión. Además, este método es útil en la caracterización genética de poblaciones naturales o cultivadas, así como en la reconstrucción del pedigrí a partir de muestras. Esta información permite controlar e incluso mejorar las características de los stocks reproductores de *D. eleginoides*.

La obtención de un biomarcador (SNP) para la detección de sexo es uno de los procesos más utilizados en el comienzo de la explotación de un recurso acuícola (LIU et al., 2018) which have a long juvenility period that can lasts for 4-5 years. In this study, we found one sex-specific marker by next-generation sequencing together with bioinformatics analysis in bighead carp. The male-specific markers were used to perform molecular sexing in the progenies of artificial gynogenetic diploids and found all progenies (n=160. En la actualidad, la poca información genómica de *D. eleginoides* solo ha permitido usar rasgos morfométricos para la identificación y desarrollo de esta especie (REYES et al., 2012). La generación de este marcador de sexo temprano de *D. eleginoides* es un paso crucial para el mejor manejo de los peces en acuicultura. Hasta el momento solamente se ha podido diagnosticar mediante imagenología ultrasónica (ecografías) cuando el pez ya este maduro que es alrededor de los 10 años.

Una de las etapas fundamentales para la obtención de este método de cultivo, es la estimación del estadio de madurez reproductiva, así como la determinación de la proporción de sexo en las poblaciones de *D. eleginoides*. Para ello, es crucial identificar tempranamente el sexo de los individuos, pues podría haber diferencias importantes asociadas al sexo en parámetros tales como mortalidad, crecimiento y patrones de migración de las poblaciones piscícolas. Así, estas diferencias pueden ser decisivas en la determinación del éxito reproductor de dichas poblaciones como se ha documentado en otros estudios en acuicultura (WANG; SHEN, 2018).

Además, la identificación temprana de sexo permite la opción de optimizar el desarrollo y crecimiento de cada género, permitiendo, de esta manera, optimizar las condiciones necesarias para cada sexo, controlando y mejorando stocks tanto para futuros reproductores como ejemplares para su venta.

5 | CONCLUSIONES

Primer estudio en el que se utiliza tecnología de secuenciación de alto rendimiento para desarrollar 22 marcadores genéticos (SSRs). Estos serán útiles en futuros estudios sobre conservación, pesquerías, certificación de crías, reconstrucción de pedigrí y genética de poblaciones de esta especie. Además se logró obtener un biomarcador (SNP) de detección de sexo, el cual permitirá identificar de manera temprana el sexo, paso crucial para el mejor manejo de los peces en acuicultura, por el largo tiempo de maduración sexual que presenta esta especie.

AGRADECIMIENTOS

A Alberto Reyes de la empresa Chilean Seabass Aquaculture y a la Universidad de Santiago de Chile.

FINANCIAMIENTO

Programa Técnico de Diversificación Acuícola de Chile, CORFO-PTEC (15PTEC-47685). CONICYT + PAI/ CONCURSO NACIONAL TESIS DE DOCTORADO EN EL SECTOR PRODUCTIVO, 2019 + Folio T7819120001

REFERENCIAS

- ARANEDA, Cristian; LAM, Natalia; ITURRA, Patricia; JILBERTO, Felipe; CORDOVA, Valentina; GALLARDO, Pablo. Utility of five SSR markers for genetic diversity and paternity exclusion analysis in the Patagonian toothfish. **Latin American Journal of Aquatic Research**, [S. l.], v. 45, n. 1, p. 188–192, 2017. DOI: 10.3856/vol45-issue1-fulltext-18. Disponible em: http://www.lajar.cl/pdf/imar/v45n1/Articulo_45_1_18.pdf.
- COLLINS, Martin A.; BRICKLE, Paul; BROWN, Judith; BELCHIER, Mark. **The Patagonian Toothfish. Biology, Ecology and Fishery**. 1. ed. [s.l.] : Elsevier Ltd., 2010. v. 58 DOI: 10.1016/B978-0-12-381015-1.00004-6. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-381015-1.00004-6>.
- CONNOR, Richard E.; JEFFRIES, Ken M.; KOMOROSKE, Lisa M.; TODGHAM, Anne E.; FANGUE, Nann A. The utility of transcriptomics in fish conservation. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 221, n. 2, 2018. DOI: 10.1242/jeb.148833. Disponible em: <https://jeb.biologists.org/content/221/2/jeb148833>.
- EDGAR, Robert C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, [S. l.], v. 26, n. 19, p. 2460–2461, 2010. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq461. Disponible em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>.
- EVSEENKO, S. A.; KOCK, K. H.; NEVINSKY, M. M. Early Life History of the Patagonian Toothfish, *Dissostichus Eleginoides* Smitt, 1898 in the Atlantic Sector of the Southern Ocean. **Antarctic Science**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 221–226, 1995. DOI: 10.1017/S0954102095000319.

FISHERIES, F. A. O.; AQUACULTURE, Global. FAO Fisheries and Aquaculture Department Global Aquaculture Production Statistics 2011. [*S. l.*], v. 2011, n. March, p. 1–3, 2013.

FUENTES OLMOS, Jessica. Evolución del régimen ambiental de la acuicultura en Chile. **Revista de derecho (Valparaíso)**, [*S. l.*], n. 42, p. 441–477, 2014. DOI: 10.4067/S0718-68512014000100013. Disponible em: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-68512014000100013&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

GRILLY, Emily; REID, Keith; LENEL, Sarah; JABOUR, Julia. The price of fish: A global trade analysis of Patagonian (*Dissostichus eleginoides*) and Antarctic toothfish (*Dissostichus mawsoni*). **Marine Policy**, [*S. l.*], v. 60, p. 186–196, 2015. DOI: 10.1016/j.marpol.2015.06.006. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpol.2015.06.006>.

HEDRICK, Philip W. PERSPECTIVE: HIGHLY VARIABLE LOCI AND THEIR INTERPRETATION IN EVOLUTION AND CONSERVATION. **Evolution; international journal of organic evolution**, United States, v. 53, n. 2, p. 313–318, 1999. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1999.tb03767.x.

HERAS, Joseph. Fish Transcriptomics : Applied to our Understanding of Aquaculture. [*S. l.*], n. January, 2020. DOI: 10.20944/preprints202001.0332.v1.

IFOP. **Exportaciones Bacalao de Profundidad 1987-2017. Sección economía. Chile.** [s.l.: s.n.].

KOSKINEN, MIKKO T.; HIRVONEN, HEIKKI; LANDRY, PIERRE-ALEXANDRE; PRIMMER, CRAIG R. The benefits of increasing the number of microsatellites utilized in genetic population studies: an empirical perspective. **Hereditas**, [*S. l.*], v. 141, n. 1, p. 61–67, 2004. DOI: 10.1111/j.1601-5223.2004.01804.x. Disponible em: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2004.01804.x>.

LANGMEAD, Ben; TRAPNELL, Cole; POP, Mihai; SALZBERG, Steven L. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. **Genome Biology**, [*S. l.*], v. 10, n. 3, p. R25, 2009. DOI: 10.1186/gb-2009-10-3-r25. Disponible em: <https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-3-r25>.

LI, Heng. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. **Bioinformatics (Oxford, England)**, England, v. 27, n. 21, p. 2987–2993, 2011. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr509.

LI, Xiaohui; TANG, Yongtao; ZHANG, Renyi; TIAN, Fei; ZHAO, Kai. Characterization and development of SSR markers of schizothoracine fish (Cypriniformes: Cyprinidae) based on SLAF-seq Technique. **Journal of Applied Ichthyology**, [*S. l.*], v. 36, n. 4, p. 519–527, 2020. DOI: 10.1111/jai.14032. Disponible em: <https://doi.org/10.1111/jai.14032>.

LI, You-Chun; KOROL, Abraham B.; FAHIMA, Tzion; BEILES, Avigdor; NEVO, Eviatar. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. **Molecular Ecology**, [*S. l.*], v. 11, n. 12, p. 2453–2465, 2002. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2002.01643.x. Disponible em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01643.x>.

LIU, Haiyang; PANG, Meixia; YU, Xiaomu; ZHOU, Ying; TONG, Jingou; FU, Beide. Sex-specific markers developed by next-generation sequencing confirmed an XX/XY sex determination system in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). **DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes**, [*S. l.*], v. 25, n. 3, p. 257–264, 2018. DOI: 10.1093/dnares/dsx054. Disponible em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29315393>.

MARKO, Peter B.; NANCE, Holly A.; GUYNN, Kimberly D. Genetic detection of mislabeled fish from a certified sustainable fishery. **Current Biology**, [S. l.], v. 21, n. 16, p. R621–R622, 2011. DOI: 10.1016/j.cub.2011.07.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2011.07.006>.

MEGLÉCZ, Emese; COSTEDOAT, Caroline; DUBUT, Vincent; GILLES, André; MALAUSA, Thibaut; PECH, Nicolas; MARTIN, Jean-François. QDD: a user-friendly program to select microsatellite markers and design primers from large sequencing projects. **Bioinformatics**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 403–404, 2010. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp670. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp670>.

Microsatellite markers in Aquaculture : Application in Fish population genetics. [S. l.], v. 5, n. 4, p. 43–48, 2013.

MUJICA, Armando; PEÑAILILLO, Daniela; REYES, Alberto; NAVA, María Luisa. Desarrollo embrionario y larval de *Dissostichus eleginoides* (Pisces: Nototheniidae). **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 675–680, 2016. DOI: 10.4067/S0718-19572016000300018.

REUTER, Jason A.; SPACEK, Damek V; SNYDER, Michael P. Review High-Throughput Sequencing Technologies. **Molecular Cell**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 586–597, 2015. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.05.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>.

REYES, Alberto; KIDO, Roberto; MORENO, Carlos A.; EDUCACIÓN, Corporación De; ARAUCANA, La; MONTT, Puerto. Captura y mantención de *Dissostichus eleginoides* para conformar un plantel de reproductores Capture and maintenance of *Dissostichus eleginoides* to establish a broodstock group. **Latin american journal of aquatic research**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 1066–1071, 2012. DOI: 103856/vol40-issue4-fulltext-21.

STÖLTING, Kai N.; NIPPER, Rick; LINDTKE, Dorothea; CASEYS, Celine; WAEBER, Stephan; CASTIGLIONE, Stefano; LEXER, Christian. Genomic scan for single nucleotide polymorphisms reveals patterns of divergence and gene flow between ecologically divergent species. **Molecular ecology**, England, v. 22, n. 3, p. 842–855, 2013. DOI: 10.1111/mec.12011.

WANG, Han-Ping; SHEN, Zhi-Gang. **Sex Control in Aquaculture** **Sex Control in Aquaculture**: Wiley Online Books., 2018. DOI: doi:10.1002/9781119127291.ch1. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119127291.ch1>.

WANG, Ziman; LI, Junhui; HAO, Ruijuan; ADZIGBLI, Linda; DENG, Yuewen. Characterization and development of SSR markers of *Pinctada maxima* by RNA-Seq approach. **Aquaculture Reports**, [S. l.], v. 15, p. 100230, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100230>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352513419301115>.

WEBER, J. L. Informativeness of human (dC-dA)_n(dG-dT)_n polymorphisms. **Genomics**, United States, v. 7, n. 4, p. 524–530, 1990. DOI: 10.1016/0888-7543(90)90195-z.

YOU, Xinyong; LI, Qiong; ZHOU, Yali. Application of Transcriptomic Biomarkers in Livestock Product Safety. [S. l.], p. 15246–15249, 2019. DOI: 10.26717/BJSTR.2019.20.003486.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Água Doce 18
Amazon 34, 50, 51, 79, 80, 84, 86, 87, 88, 89, 90, 95

B

Bacia Hidrográfica 20, 23, 53
Biodiversidade 2, 9, 10, 12, 16, 18, 53, 78, 97
Biomarcador 66, 70, 74, 75
Biomonitoramento 52, 53, 54, 61
Bivalves Invasores 18

C

Chironomidae 52, 53, 57, 58, 59, 60, 62, 63
Coleção Entomológica 10, 12, 13, 15
Colombia 24, 25, 26, 34, 35, 40, 49, 50, 51, 80
Conservação 2, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 78, 93, 96, 97
Controle Populacional 1, 2, 3, 4, 7, 8

D

Dieta 22, 24, 26, 28, 29, 32, 33, 36, 67
Dinâmica Hídrica 39
Dinâmica Poblacional 39, 40
Dissostichus eleginoides 65, 66, 67, 75, 76, 77

E

Elasmobranchs 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 88, 89, 92, 93
Espécie Invasora 2, 19, 59
Estado de Bienestar 31, 33, 39, 46, 47, 49

F

Factor de Condición 27, 28, 31, 33, 38, 39, 41, 44, 45, 46, 47, 48
Fauna 1, 4, 8, 16, 17, 36, 56, 61, 63, 67, 81, 82, 91, 93

G

Genetic Diversity 9, 66, 75, 79, 88, 89, 90
Gestão 1, 2, 4, 6, 7, 54, 61, 62

H

Hidroelétrica Urrá 38, 39, 40, 41, 47, 49, 51

Hidroperíodo 52, 57, 58, 59, 60

I

Índices Bióticos 52, 53, 54, 56, 58, 60, 61

Insetos 10, 11, 13, 52, 56, 62, 63, 97

J

Javali 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

L

Libélulas 10, 11, 13, 15

Limnoperna fortunei 18, 23

M

Macroinvertebrados 53, 54, 55, 56, 57, 58, 60, 61, 62, 63, 64

Manejo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 48, 65, 68, 74, 75

Mata Atlântica 10, 12, 17

Mexilhão Dourado 18, 19, 20, 22

Molecular Identification 79, 83, 84, 85, 88, 90, 95

Mollusca 18

O

Odonata 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 58, 97

P

Preferencias Alimenticias 24

Q

Qualidade da Água 52, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63

R

Rays 79, 80, 81, 82, 83, 86, 87, 88, 90, 91, 92, 94, 95

Relación Longitud-Peso 38, 39, 41, 44, 47, 50

Reserva Natural Vale 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17

Rio Ibicuí 18, 23

Rio Pitimbu 52, 53, 62

S

Sharks 79, 80, 81, 82, 83, 84, 86, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96

SNPs 66, 70, 72

Sorubim cuspicaudus 38, 39, 40, 42, 47, 49, 50, 51

SSR 65, 66, 68, 69, 70, 74, 75, 76, 77

Sus scrofa 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9

Tópicos Integrados de Zoologia 2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Tópicos Integrados de Zoologia 2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 