

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO - CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**Tendências da literatura científica sobre uso de marcadores  
moleculares em estudos de diversidade genética de peixes**

Autor: Wallaf Silva Lopes  
Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Maria Andréia Corrêa Mendonça  
Coorientador: Dr. Fábio Henrique Dyszy

RIO VERDE – GO

Maio - 2018

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO - CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**Tendências da literatura científica sobre uso de marcadores  
moleculares em estudos de diversidade genética de peixes**

Autor: Wallaf Silva Lopes  
Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Maria Andréia Corrêa Mendonça  
Coorientador: Dr. Fábio Henrique Dyszy

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de Concentração Bioprospecção Aplicada a Biodiversidade.

RIO VERDE – GO

Maio - 2018

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

L864t      Lopes, Wallaf Silva  
Tendências da literatura científica sobre uso de  
marcadores moleculares em estudos de diversidade  
genética de peixes / Wallaf Silva Lopes; orientadora  
Dr. Maria Andreia Correia Mendonça. -- Rio Verde,  
2018.  
52 p.

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e  
Conservação) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio  
Verde, 2018.

1. Marcadores genéticos. 2. Cienciometria . 3.  
Divergência genética. I. Mendonça, Dr. Maria Andreia  
Correia, orient. II. Título.


INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO


**TENDÊNCIAS DA LITERATURA CIENTÍFICA  
SOBRE O USO DE MARCADORES MOLECULARES  
EM ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA DE  
PEIXES**

Autor: Wallaf Silva Lopes  
Coorientador: Fábio Henrique Dyszy

*TITULAÇÃO:* Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de  
concentração Conservação dos Recursos Naturais.

APROVADA em 30 de maio de 2018.

  
Prof. Dr. Francisco Ribeiro de  
Araújo Neto  
*Avaliador externo*  
IF Goiano/Rio Verde

  
Prof. Dr. Alessandro Ribeiro  
de Moraes  
*Avaliador interno*  
IF Goiano/Rio Verde

  
Prof. Dr. Fábio Henrique Dyszy  
*Presidente da banca*  
IF Goiano/Rio Verde

**DEDICO ESTE TRABALHO:**

“Dedico este trabalho aos meus familiares pelo suporte emocional e psicológico, principalmente a minha mãe Rosa Maria da Silva Portilho e meus irmãos Watyllas Silva Lopes e Matheus Portilho.”

“Dedico em especial aos meus colegas de pesquisa, como amigos, e vizinhos de laboratório, e aos meus Professores Alessandro Morais, Fabio Carvalho e Fábio Dyszy, pelos momentos de alegrias compartilhados em solo Federal, ressalto a importância do cafezinho que tomamos no Instituto Federal durante os momentos de pausas e intervalos que proporcionaram muitos momentos de felicidades e preocupação compartilhada.”

## **AGRADECIMENTOS**

“A Professora Maria Andréia Corrêa Mendonça, pela excelente orientação científica, ajuda e compreensão dos momentos de dificuldades passados por mim, a esta pessoa eu devo muito e carrego uma dívida eterna, pois o conhecimento passado e a experiência vivida ao seu lado, não a preço que pague. Meu muito obrigado, professora! “

“Ao Professor Fábio Henrique Dyszy, faço uma promessa neste documento, se eu ganhar na mega sena lhe entrego 10% do prêmio. Pois, sinto que tenho um amigo e um grande orientador e com enorme bagagem científica, ao qual tenho muita admiração e referencial como pessoa, profissional e cientista. Meu muito obrigado professor! “

“Agradeço aos demais professores, alunos e coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação pela compreensão e ajuda! “

“Estendo meus agradecimentos aos professores do curso de Ciências Biológicas do Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde, pela competência e ensinamentos fornecidos em minha época de graduação. “

“Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (Fapeg) pela Bolsa de estudo e viabilização do trabalho”

**MUITO OBRIGADO!**

## **BIOGRAFIA**

Nasci em 1993 em Palmeirópolis, no Tocantins, uma cidade com apenas 5 mil habitantes, acabei pela persistência de meus pais em busca de uma vida melhor, vindo residir na cidade de Rio Verde, em Goiás. Cresci e estudei em escolas públicas desde o ensino fundamental ao mestrado. A dificuldade encontrada pela minha família para sobreviver e ter o alimento de cada dia, fornece uma vontade e força de vencer na vida. Esta vontade e força eu a transformo em inspiração. Comecei a trabalhar aos 16 anos como auxiliar geral em uma rede de supermercados. Neste período, chego à conclusão que as oportunidades só poderiam vir de um lugar, do conhecimento e estudo! Decido então, dedicar-me a este, ingresso na faculdade de Ciências Biológicas do Instituto Federal Goiano em 2012 e consigo meu primeiro emprego como professor dois anos depois, este no qual me dedico hoje e me orgulho. Ingresso no Mestrado em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal Goiano em 2016 e agradeço muito as experiências vividas neste ambiente acadêmico, as amizades criadas e a oportunidade fornecida.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1. Diversidade genética e a Ictiofauna</b> .....	1
<b>2. A Cienciometria</b> .....	2
<b>3. Surgimento e evolução das técnicas moleculares</b> .....	3
<b>4. Marcadores moleculares de DNA</b> .....	5
<b>OBJETIVOS</b> .....	11
<b>Objetivo geral</b> .....	11
<b>Objetivos específicos</b> .....	11
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	11
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	12
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	27
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	28



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Número de publicações que atendem os critérios de busca mencionados nos matérias e métodos na base de dados Web of Science no período de 1992 a 2016. ....	13
<b>Figura 2.</b> Número de publicações que atendem os critérios de busca mencionados nos matérias e métodos na base de dados Web of Science no período de 1992 a 2017. ....	15
<b>Figura 3.</b> Relação do número de publicações agrupadas por tipo de marcador, busca realizada entre o período de 1992 a 2018 na base de dados Web of Science. ....	16
<b>Figura 4.</b> Número de trabalhos que estão indexados na base de dados Web of Science publicados desde 1992 a 2018, para cada de tipo de marcador molecular. ....	18
<b>Figura 5.</b> Número de publicações de cada marcador para as cinco revistas que mais obtiveram publicações para cada marcador molecular no período de 1992 a 2018. ....	20
<b>Figura 6.</b> Relação do número de trabalhos publicados por diferentes países para cada tipo de marcador, no período de 1992 a 2018. ....	22
<b>Figura 6.</b> Relação da média de citação com o número de autores. ....	23
<b>Figura 7.</b> Relação da média de citação pelo tempo de disponibilidade do estudo no intervalo de 1992 a 2018. ....	24
<b>Figura 8.</b> Relação da quantidade de páginas das publicações pela média de citação por trabalho. ....	25

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela I.</b> Comparação de características importantes para os marcadores discutidos nesse estudo (NADEEM et al. 2017).....	9
<b>Tabela II.</b> Número de publicações encontradas com os parâmetros de busca descritos em Materiais e métodos em um de 4 em 4 anos (1992 a 2018) para os marcadores Microssatélites, RAPD, ISSRs, SNPs e Aloenzimas. ....	18
<b>Tabela III.</b> Artigos com o maior número de citações sobre diversidade genética em peixes com os marcadores Microssatélites, RAPD, ISSRs, SNPs e Aloenzimas entre 1992 – 2018.	25

## **Tendências da literatura científica sobre uso de marcadores moleculares em estudos de diversidade genética de peixes**

### **RESUMO**

A diversidade genética é definida como sendo qualquer mensuração que quantifica a magnitude da variabilidade genética dentro de uma população, sendo considerada importante instrumento para a avaliação da conservação de uma espécie e o manejo. No entanto, para avaliar a diversidade genética, é necessário acessá-la e, para isso, são utilizados os marcadores genéticos, que têm sido amplamente empregados em estudos da ictiofauna, dada a importância econômica e ecológica desses animais. Nesse sentido, este estudo foi conduzido com o objetivo de analisar os padrões e tendências das publicações científicas sobre a temática diversidade genética em populações de peixes, utilizando cinco classes de marcadores moleculares (Aloenzimas, RAPDs, SSR, ISSR, SNPs e seus derivados), de forma a verificar o número de artigos publicados na área (no período de primeiro registro de publicação até o ano de 2018), bem como acompanhar a variação temporal sobre o número de artigos, tipo de periódicos em que estão sendo publicados, nacionalidade dos pesquisadores e os impactos dessas publicações em termos de citações. Para tanto, foi realizado um levantamento bibliográfico no sítio *Thomson ISI* base dados *Web of Science*, utilizando as palavras chaves “*Microsatellite\* AND fish AND genetic diversity; Alloenzyme\* AND fish AND genetic diversity; RAPD\* AND fish AND genetic diversity; ISSRs\* AND fish AND genetic diversity; SNPs\* AND fish AND genetic diversity*”, nos referidos anos acima. Em seguida, foram feitas diferentes abordagens de avaliação sobre os artigos, como: análise da tendencial temporal, revista, perfil de citação, nacionalidade do estudo e colaboração. Como resultado, foi detectado aumento significativo de estudos com a temática aqui abordada, no período de 1992 a 2018. Foram registradas 1230 publicações sobre diversidade genética em peixes, das quais, 999 publicações compreendiam o uso de marcadores SSR, 123 publicações com o RAPD, e, na sequência, Aloenzimas, com 61 publicações, SNPs com 40 publicações e ISSR com 7 publicações. Encontrou-se um total de 215 diferentes periódicos que publicaram artigos usando os marcadores Microsatélites, seguidos de 86 revistas diferentes para o marcador RAPD, 38 revistas para o marcador com Aloenzima, 27 diferentes revistas para o marcador SNPs e 7 revistas com os marcadores ISSRs. Observou-se uma certa preferência da escolha da revista para as publicações com os Microsatélites, RAPD e Aloenzimas. Abordando a nacionalidade das publicações, analisando a instituição sede do autor correspondente, foi percebida predominância de estudos norte-americanos seguido de países europeus. Os resultados das análises de citações demonstraram fraca relação entre citação e quantidade de autores do estudo. Mas, foi encontrada uma relação forte entre a média de citação e o tempo de publicação, de forma que, quanto mais tempo disponível está o artigo, mais citações o estudo possui. A respeito do tamanho do trabalho em número de páginas e a média de citação, encontra-se relação moderada, indicando que trabalhos mais densos sejam mais aceitos pela comunidade científica. Em conclusão, estes

resultados demonstram a relevância da temática aqui abordada, quando analisamos a tendência temporal, esperamos que a quantidade de trabalhos aumente com os marcadores Microssatélites e SNPs pelas vantagens e características que estes marcadores possuem. Esperamos que os países em desenvolvimento gradativamente destinem recursos para o aumento de trabalhos nessa área, em decorrência da relevância econômica e ecológica que ela possui.

**Palavras-chave:** Marcadores genéticos, Cienciometria, Divergência genética.

## **Tendências da literatura científica sobre uso de marcadores moleculares em estudos de diversidade genética de peixes**

### **Trends in scientific literature about molecular markers use in fish genetic diversity studies**

#### **ABSTRACT**

Genetic diversity can be defined as any measurement that quantifies the magnitude of genetic variability within a population. It is considered an important tool for the evaluation, conservation and management of species. However, to evaluate genetic diversity, it is necessary to access this diversity. Genetic markers are tools widely used for this purpose in studies related to the ichthyofauna, given the economic and ecological importance of these animals. Then, the aim of study was to analyze the patterns and trends of scientific publications on genetic diversity in fish populations using five classes of molecular markers (Alloenzymes, RAPDs, SSRs, ISSRs, SNPs and their derivatives), in order to verify the number of articles published in the area (since the first publication up to the year 2018), as well as to monitor the temporal variation on the number of articles, type of journals, researchers' nationality and impacts of these publications in terms of citations. To this end, a bibliographic survey was performed on the Web site of Thomson ISI Web of Science, using the key words "Microsatellite \* AND fish AND genetic diversity; Alloenzyme \* AND fish AND genetic diversity; RAPD \* AND fish AND genetic diversity; ISSRs \* AND fish AND genetic diversity; SNPs \* AND fish AND genetic diversity ", in the abovementioned years. Then, different evaluation approaches were done on the articles, such as: analysis of the time trend, journal, citation profile, study nationality and collaboration. As a result, there was detected a significant increase in the number of studies related to fishes genetic diversity in the period from 1992 to 2018. Of these, 999 publications included the use of SSR markers, 123 publications with RAPD and, subsequently, Alloenzymes, with 61 publications, SNPs with 40 publications and ISSR with 7 publications. It was found a total of 215 different journals that published articles using the Microsatellite markers, followed by 86 different journals for the RAPD marker, 38 journals for the marker with Alloenzymes, 27 different journals for the marker SNPs and 7 journals with the ISSRs markers. It was observed a certain preference of the magazine's choice for the publications with the Microsatellites, RAPD and Alloenzymes. Concerning to the nationality of the publications, in terms of the nationality of the host institution of the corresponding author, a predominance of North American studies followed by Europe was observed. The results of the citations analysis showed a poor relation between citation and the number of authors of the paper. However, it was found a strong relationship between the citation average and the publication time: the longer the paper is available, more citations it has. Regarding the relationship between pages number and the citations average it was found a moderate relation, indicating that dense works are more accepted by the scientific community. In conclusion, these results demonstrate

the relevance of this topic and it is awaited that the number of papers using molecular markers approaches, such as Microsatellites and SNPs which present considerable advantages. Moreover, it is hoped that the developing countries will be able to allocate more funds in researches on genetic diversity of fishes, as they have economic and ecological relevance.

**Key words:** Molecular markers, Scientometric, Genetic diversity

## INTRODUÇÃO

### 1. Diversidade genética e a Ictiofauna

A diversidade genética é definida por Hughes et al. (2008) como sendo qualquer mensuração que quantifica a magnitude da variabilidade genética dentro de uma população. Estas informações podem ser acessadas através da mensuração de alelos, genótipo, diversidade nucleotídica, porcentagem de loci polimórficos entre outros. Ellengren e Galtier (2016) entendem a diversidade genética como sendo polimorfismo genético, que pode ser definido como uma variação na sequência de DNA que apresenta diferenças entre indivíduos de uma espécie ou entre populações. Estes autores mostram que o polimorfismo genético entre espécies e dentro do genoma é importante maneira de avaliar e entender a evolução, propiciar a conservação da espécie e elucidar a história de vida da população. Galetti (2008) diz que a manutenção da diversidade genética é importante para conservação, já que é ela que fornece o potencial adaptativo/evolutivo de uma espécie. O mesmo autor ainda complementa que o conhecimento da composição genética de uma espécie, e de como ela está estruturada em suas populações, é fundamental para as ações de manejo e conservação.

Para avaliar a diversidade genética, é necessário acessá-la e, para isso, os marcadores moleculares têm sido ferramentas amplamente utilizadas. Estes marcadores permitem estudar as diferenças moleculares entre os indivíduos, através de três diferentes informações: variações estruturais em proteínas, variações na sequência de bases nitrogenadas do DNA, identificando polimorfismos e também em sequências repetidas que surgem no DNA (SCHLÖTTERER, 2004). Nesse contexto, os marcadores genéticos estão sendo amplamente utilizados em estudos com populações de peixes, a fim de identificar híbridos, promover um manejo sustentável dos recursos genéticos (HASHIMOTO et al., 2012) e com o intuito de preservar a variabilidade genética (RYMAN, 1991; VRIJENHOEK, 1998).

É importante destacar que os peixes possuem importância econômica e ecológica, pois são utilizados para fins alimentícios (TIDWELL; ALLAN, 2001). O último relatório da FAO (2016) estimou que em 2014 a comercialização mundial de peixe atingiu o valor de cerca de 278 bilhões de dólares (entre exportações e importações), e o peixe é um dos alimentos mais comercializados a nível mundial. Nesse sentido, existe preocupação em estudos como os de (REISENBICHLER; RUBIN, 1999; HASHIMOTO et al., 2012; COSTA et al., 2014 e SANTOS et al., 2016), estes direcionados para a avaliação genética de populações em cativeiro voltados para o melhoramento genético e viabilidade populacional. Essa preocupação relaciona-se principalmente com o aumento nas taxas de crescimento dos animais, e também na seleção de animais resistentes as doenças (NGUYEN, 2015; GJEDREM, 2012). Este melhoramento, segundo os autores, refletir-se-á no aumento da produção de pescados, com maior disponibilidade desta proteína para a população mundial.

Em relação aos aspectos ecológicos, os organismos aquáticos vêm sofrendo com diferentes tipos de atividades antrópicas que ameaçam a sua biodiversidade. Vários autores apontam que as principais ameaças são efluentes industriais, escoamento de

defensivos agrícolas e resíduos de água urbanos que contêm diversas substâncias nocivas à qualidade da água, que causam grandes impactos ambientais (ANDRADE et al., 2004; PANTALEÃO et al., 2006; BOGONI et al., 2014; SILVA et al., 2015; SALLES et al., 2015).

## 2. A Cienciometria

A cienciometria é o estudo dos aspectos quantitativos da ciência enquanto uma disciplina ou atividade econômica, sendo aplicada no desenvolvimento de políticas científicas (MACIAS-CHAPULA, 1998). Os métodos cienciométricos vêm sendo amplamente utilizados para se avaliar o desenvolvimento da pesquisa a respeito de diferentes áreas do conhecimento (KONUR, 2011).

Proposto inicialmente por Nalimov e Mulchenko em 1969, o termo cienciometria, teve como significado a comparação deste com a moeda russa (*naukometriya*) (HOOD; WILSON, 2001). Estes autores ainda explicam que o termo ganhou reconhecimento após a fundação do jornal *Scientometrics* em 1978, por Tibor Braum na Hungria, onde Nalimov publica então uma série de trabalhos que contribuem para o surgimento da área de conhecimento denominada cienciometria. Segundo Vanti (2002), os acadêmicos começaram a ter mais interesse pela Cienciometria na década de 1980, devido ao surgimento de um banco de dados fornecidos para as universidades pelo antigo *Institute for Scientific Information* (ISI, hoje Thomson ISI).

Com essa popularização, surgem também alguns problemas, como relatado por Hood e Wilson (2001), que expõem a existência de uma confusão na comunidade científica com os termos bibliometria, informetria e cienciometria e seus sinônimos. Essa confusão aparece pelo fato de existirem registros na literatura de interpretações erradas ou mesmo a atribuição do mesmo nome para estas diferentes técnicas. No presente trabalho, serão utilizadas as definições que se seguem abaixo.

A bibliometria pode ser definida como o estudo quantitativo das literaturas e como elas se refletem nas bibliografias. Sua tarefa é fornecer modelos evolucionários de ciência, tecnologia e erudição (WHITE; MCCAIN, 1989). A informetria, por sua vez, é definida como uma extensão da tradicional análise realizada pela bibliometria, mas agora utilizada também para cobrir comunidades não acadêmicas nas quais informações são produzidas, comunicadas e usadas (INGWERSEN; CHRISTENSEN, 1997). Estas comunidades não acadêmicas estão geralmente direcionadas ao entendimento científico de informar processos no nível social (WILSON, 2001).

A cienciometria, já definida logo acima, é, por fim, o foco deste estudo como método. Apesar de existirem semelhanças nessas três áreas, é importante diferenciá-las pelo fato de requererem objetos de estudo, objetivos, variáveis e métodos diferentes como abordado por Macias-Chapula (1998). Desta forma, os objetos de estudo da bibliometria são livros, documentos, revistas, artigos, autores e usuários. A informetria utiliza, via de regra, disciplinas, assunto, áreas e campos do conhecimento. Por fim, a cienciometria faz uso de palavras-chave, documentos e bases de dados.

Assim, a análise cienciométrica é realizada em bases de dados, como Web of Science, Scopus, PubMed e Google Scholar (FALAGAS et al., 2008). Cabe ressaltar que as duas primeiras são bases de dados com ampla cobertura de periódicos científicos



multidisciplinares e de qualidade (SANTOS, 2003; MOYA-ANEGÓN et al., 2007; FALAGAS et al., 2008). Além disso, os estudos cienciométricos podem contribuir para a otimização da alocação dos recursos de conservação, além de direcionar futuros projetos de pesquisa. Visto que seriam capazes de fornecer indicadores da frequência e da intensidade dos esforços de pesquisa realizados pela comunidade científica em prol da conservação de um grupo taxonômico específico (CAMPOS et al., 2014).

### 3. Surgimento e evolução das técnicas moleculares

As técnicas moleculares são métodos utilizados para aferir respostas utilizando como foco principal os padrões proteicos e de nucleotídeos. Estas técnicas moleculares, como reportado por Schlötterer (2004), vêm sendo empregadas desde a década de 1960, com o objetivo de compreender em diferentes níveis a complexidade dos sistemas biológicos e responder perguntas com diferentes focos e interesse.

A possibilidade de compreensão destas técnicas só foi possível após o entendimento de alguns fenômenos, como a descoberta do fenômeno eletrocinético e a aplicação do mesmo em coloides sobre um fluido ainda no século XIX. Uma das aplicações do fenômeno eletrocinético foi realizado, segundo Wall (2009), em proteínas e DNA por Svedberg em 1923. Iniciou-se assim o desenvolvimento das técnicas moleculares baseadas em eletroforese. A descrição e a interpretação da aplicação da técnica em proteínas foram realizadas por Stern (1938) em seu trabalho intitulado “*The Moving Boundary Method For Studying Electrophoresis*”, permitindo a reprodução, aplicação e subsequentemente, a evolução das técnicas em Biotecnologia, primeiramente para proteínas e posteriormente para os ácidos nucleicos.

Os registros e o conhecimento dos polimorfismos a nível molecular também foram importantes para o desenvolvimento das técnicas moleculares. Uma das primeiras descrições sobre polimorfismo foi feita por Market e Moller (1959), em que os autores definiram que polimorfismo é a variação da mesma enzima em seus diferentes níveis estruturais, sendo proposto o uso do termo “Isozima” ou “Isoenzima” para descrição de diferentes formas moleculares de uma enzima. Harris (1966) descreve os polimorfismos enzimáticos em humanos a partir do princípio da técnica de eletroforese em gel para compreensão das variações existentes na população humana. Com a popularização da técnica, os estudos foram expandidos para aplicações em outras áreas e organismos, como realizado por Lewontin e Hubby (1966) na detecção de polimorfismos em *Drosophila pseudoobscura*, e subseqüente ampliado a outros organismos.

Apesar da utilização de Isoenzimas ser relativamente simples e apresentar baixo custo, além de detectar codominância e o controle genético conhecido (KARASAWA et al., 2012), a técnica possui limitações pelo baixo número de lócus e alelos detectados. Além disso, as proteínas sofrem modificações pós tradicionais, que podem ser inclusive diferentes de acordo com as condições ambientais e a fase de desenvolvimento do indivíduo (MURPHY et al., 1990). Destaca-se ainda que o método com isoenzimas é uma maneira de identificar indiretamente e insensivelmente variações no DNA (SCHLÖTTERER, 2004). Durante um período, que teve início na década de 1960 e se estendeu até meados da década de 1980, a utilização de Isoenzimas para fins de

detecção de polimorfismos foi bastante popular, mas foi substituída paulatinamente por técnicas de detecção de polimorfismos mais diretos durante e após a década de 1980.

Essa mudança deveu-se graças ao desenvolvimento do método da Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR), por Kary Mullis e colaboradores nos anos 1980, como mostrado por Bartlett e Stirling (2003). Mullis e Falona (1987) descreveram diferentes protocolos para amplificação de DNA utilizando PCR. Simultaneamente, Saiki et al. (1987) demonstram que o método que utiliza a DNA polimerase termoestável (Taq polimerase) isolada a partir da bactéria *Thermus aquaticus* é eficiente para a amplificação do DNA *in vitro*. Essa enzima é termoestável pelo fato deste organismo tolerar elevadas temperaturas devido ao seu habitat, que são fontes termais (BROCK; FREEZE, 1969). Com o advento do PCR, as amostras de DNA são replicadas em muitos ciclos, aumentando assim a quantidade da amostra exponencialmente e facilitando a identificação e a análise por eletroforese. Estas técnicas foram utilizadas pela primeira vez, com a finalidade de avaliar polimorfismos, pelo trabalho pioneiro de Saiki et al. (1985), a fim de avaliar essas características polimórficas no gene da  $\beta$ -globina que contém uma única mutação e acaba por codificar a Hemoglobina S, que caracteriza a Anemia Falciforme. Assim, a mutação que dá origem à anemia falciforme aparece novamente em um momento pioneiro da Ciência, uma vez que, em sua descrição, realizada por Linus Pauling em 1949 (PAULING et al., 1949), foi utilizada pela primeira vez a expressão “doença molecular”, mostrando que alterações moleculares poderiam levar à consequências importantes para o sistema vivo.

Durante as décadas de 1980 e 1990, várias técnicas foram desenvolvidas a fim de se verificar polimorfismos em DNA. O conjunto dessas técnicas aplicadas com este fim denomina-se, de forma geral, como “Marcadores Moleculares”, que serão descritos na seção seguinte. Um método mais aperfeiçoado que é capaz de detectar a variação no DNA foi proposto por Sanger e Coulson (1975) conhecido como método de sequenciamento Sanger.

O método de sequenciamento tradicional de Sanger consiste na amplificação pela PCR de um fragmento de DNA utilizando um par de primers, e uma posterior reação, que inclui DNA polimerase, nucleotídeos (dinucleotídeos ou dTPs, formados por dATP, dCTP e dTTP) e nucleotídeos modificados e radiotivamente marcados (dideoxynucleotídeos ou ddTPs, formados por ddATP, ddCTP, ddGTP e ddTTP). Para que os dTPs se unam para formar uma fita de DNA, cada nucleotídeo tem em sua extremidade 3' um grupamento hidroxila (OH). No caso dos ddTPs, não existe este grupamento livre, logo nenhum outro nucleotídeo poderá ser incorporado à fita. A reação de sequenciamento de Sanger é separada em quatro tubos, sendo que em cada tubo se coloca os quatro dTPs, DNA polimerase, os primers e um ds quatro ddTPs (num tubo coloca-se o ddATP, em outro o ddCTP, e assim sucessivamente). Desta forma, ao fim da reação, existirão sequências desde o tamanho mínimo até o tamanho máximo do fragmento de DNA amplificado, sempre com um ddTP no fim da fita. Estes produtos são submetidos à eletroforese em gel de

poliacrilamida e analisados em autorradiografias. Os fragmentos com menor tamanho passam mais rapidamente pela malha do gel e, portanto, migram para porção inferior. Por conseguinte, os fragmentos maiores migram mais lentamente, e ficam na região superior do gel. A análise da sequência é feita manualmente e despende muito tempo (PAVAN; MONTEIRO, 2014, p. 255).

A partir de meados da década de 1980, os sequenciamentos de DNA abandonaram a utilização de ddNTPs radioativos em prol de ddNTPs fluorescentes (SMITH et al., 1985; SMITH et al., 1986), que oferecem menor risco e permitiram a automatização do processo (PAVAN; MONTEIRO, 2014), muito embora a lógica do processo de sequenciamento de Sanger permaneça intacta. Novas técnicas, como o pirosequenciamento (RONAGHI et al., 1998), permitem análises de grandes genomas com economia de tempo de máquina e elevada acurácia, como pode ser mostrado em revisão realizada por Carvalho e Silva (2010).

Em 2005, foi lançado o sequenciador 454 (*Life Sciences*), resultado do esforço de diferentes profissionais para produzir máquinas de sequenciamento ainda mais eficientes (MARGULIES et al., 2005). O sequenciador 454 trabalha com a técnica de sequenciamento em síntese, uma vez que a adição de cada base nitrogenada era feita à medida que era adicionada a fita recém-sintetizada de DNA (SCHUSTER, 2008). Este é um aspecto completamente diferente do método de Sanger, em que a base nitrogenada adicionada é detectada através de fluoróforos específicos e também pela análise, através de eletroforese em gel de agarose, do peso molecular da molécula que contém a sequência parcial de DNA.

Em termos de eficiência, o sequenciador 454 é capaz de produzir 25 milhões de pares de bases com precisão de 99% ou mais, com um tempo de máquina de apenas 4 horas. Esses números representam um desempenho 100 vezes melhor quando comparado ao sequenciador tradicional mais moderno à época (MARGULIES et al., 2005). Por outro lado, estas técnicas de sequenciamento de nova geração apresentam algumas desvantagens, como mostrado por Wommack et al. (2008), como por exemplo a produção de sequências pequenas e de difícil análise. Enquanto a técnica de Sanger produzia sequências de aproximadamente 750 pares de bases, a nova técnica gerava sequências contendo apenas cerca de 100 ou 200 pares bases de DNA (MARGULIES et al., 2005). No entanto, a tecnologia vem sendo aprimorada, e esta dificuldade inicial vem sendo superada, sendo que atualmente o tamanho médio dos fragmentos obtidos pelas técnicas de nova geração aproximam-se do tamanho obtido pela técnica de Sanger, ou seja, 750 pares de bases.

#### **4. Marcadores moleculares de DNA**

Com o desenvolvimento das ferramentas genéticas como enzimas de restrições e o método da Reação em Cadeia da Polimerase, e com a crescente abundância de dados de sequência de DNA, juntamente com ensaios automatizados de alto rendimento, estes revelaram várias classes de marcadores moleculares (MADESIS et al., 2013). Esses marcadores podem ser definidos como qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene

expresso ou de um segmento específico de DNA (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998), ou características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos relacionados, além de serem herdados geneticamente (MILACH, 1998).

Historicamente, diferentes tipos de marcadores têm sido utilizados em estudos populacionais que necessitam do conhecimento de diversidade genética. Esses marcadores surgiram a partir da necessidade de detecção de polimorfismos genéticos presentes no DNA, que levou ao desenvolvimento de novas técnicas que caracterizassem tais sequências. Nos parágrafos seguintes, fizemos uma breve revisão acerca dos marcadores moleculares escolhidos com base na revisão de Vignal et al. (2002) e Schlötterer (2004), para análise nesse estudo, incluindo suas principais características bem como vantagens e desvantagens relacionadas à sua utilização.

O Polimorfismo de Tamanho dos Fragmentos de Restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP) consiste na amplificação pela PCR de uma região do DNA conhecida e subsequentemente expostas à digestão com enzimas de restrição (PAVAN; MONTEIRO, 2014). Esta técnica permite que diferenças em sequências homólogas no DNA possam ser detectadas através do padrão de digestão por endonucleases que clivam o DNA em regiões específicas, produzindo diferentes fragmentos com comprimentos variados que podem ser identificados em gel de eletroforese (BOTSTEIN et al., 1980). A análise de PCR-RFLP é muito utilizada em estudos taxonômicos por ser relativamente simples e abranger diversas regiões do genoma, incluindo as não transcritas (FERREIRA; SOUZA-CHIES, 2005). Os autores Pavan e Monteiro (2014) aconselham que esta técnica não seja utilizada em estudos populacionais e filogenéticos, pois apresentam limitações como (a) dificuldades em diferenciar e detectar o perfil de bandas de indivíduos da mesma espécie, e (b) limitação de se usar padrões fenotípicos de bandas em um gel para inferir o grau de parentesco entre espécies, no caso de estudos filogenéticos. Pavan e Monteiro (2014) também ressaltam que, com o barateamento dos custos do sequenciamento de DNA, a tendência é de que o RFLP caia em desuso em muito pouco tempo.

As Repetições em Tandem de Regiões Variáveis (*Variable Number of Tandem Repeats*, VNTR) são regiões dentro de um gene constituídas de pequenas sequências de DNA repetidas em tandem, isto é, um ou mais nucleotídeos que aparecem repetidamente e de forma adjacente na sequência, que varia em número e quantidade nos indivíduos, também chamados de Satélites e Minissatélites (ABDUL-MUNNER, 2014). Já Madesis et al. (2013) agrupam essas sequências simples repetidas no DNA em três grupos: Satélites, Minissatélites e Microssatélites. Os Satélites consistem em unidades maiores que milhares de pares de bases, repetidas milhões de vezes. Os Minissatélites, por sua vez, consistem em sequências maiores que 9-100 pb em comprimento e que podem estar repetidas de 2 a mais de 100 vezes em um loco (ABDUL-MUNNER, 2014). Finalmente, os microssatélites, não têm um tamanho de repetição determinado de forma consensual na literatura. Para Tautz e Renz (1984); Litt e Luty (1989) e Tóth et al. (2016), microssatélites são repetições em tandem de 1bp a 6bp, estes são distribuídos em diferentes loci. Em outros trabalhos os microssatélites estão distribuídos com 2bp a 8 bp repetidos em tandem (GOLDSTEIN; POLLOCK, 1997), ou mesmo com 1 bp a 5 bp de comprimento (SCHLÖTTER; PEMBERTON,

1998). Os Microssatélites podem ter comprimento de até cerca de 100 vezes dessas repetições citadas logo acima (LITT; LUTY, 1989). Li et al. (2004) e Tóth et al. (2016) apresentam dados em que os microssatélites, que exibem similaridades em suas propriedades físicas e químicas, possuem variação de tamanho dentro de diferentes grupos de organismos.

Os microssatélites são marcadores moleculares adequados para análise de pedigree, estrutura populacional, variação genômica e processos evolutivos (ABDUL-MUNNER, 2014). São utilizados em várias áreas da biologia molecular, por possuírem as vantagens de serem codominantes, e bastante polimórficos. Estes marcadores requerem pouca quantidade de DNA, podem ser facilmente trocados entre laboratórios, e são altamente transferíveis entre populações (GUPTA, 1999; ABDUL-MONNER, 2014). Os microssatélites possibilitam ainda o acesso a alto conteúdo de informação e fornecem um padrão considerável, com relativa abundância e distribuição uniforme no genoma, com fácil preparação das amostras (ABDUL-MONNER, 2014). Possuem também maior taxa de mutação do que o padrão, sendo que nos eucariotos essa taxa de mutação de uma única sequência é de aproximadamente  $10^{-9}$  por nucleotídeo e por geração (GROW, 1993).

Embora os microssatélites sejam extremamente utilizados para análises genéticas, Madesis et al (2013) relataram algumas desvantagens quanto ao seu uso como sendo: (a) são caros para serem desenvolvidos; (b) o primer às vezes não é amplificado quando este é reproduzido; (c) os primers podem produzir um padrão difícil de interpretar, ou um padrão não específico; (d) o produto amplificado talvez não seja polimórfico e (e) podem produzir alelos nulos que propiciam um erro na interpretação dos dados. Outros possíveis problemas são a dificuldade da determinação de bandas que diferem em um ou dois pares bases e a identificação do tamanho das bandas, tornando as comparações de resultados um trabalho difícil (MADESIS et al., 2013).

Os RAPDs consistem na utilização de iniciadores denominados primers que permitem amplificação de vários loci no DNA pela enzima DNA polimerase, sendo que estes loci estão dispersos por todo o genoma (WILLIAMS et al., 1990). Estes primers possuem sequência arbitrária com 10 pb (LACERDA et al., 2002). A técnica fundamenta-se na ligação do primer as sequencias complementares em fitas opostas do DNA alvo e a subsequente amplificação *in vitro* do segmento de DNA entre dois primers adjacentes com o auxílio da Taq DNA polimerase (LACERDA et al., 2002). Este marcador é de fácil utilização e não requer nenhum conhecimento prévio do genoma, com baixo custo de aplicação (IDREES; IRSHAD, 2014). Quando comparado ao marcador baseado em Isoenzimas, os RAPDs podem produzir até 80 loci para análise, enquanto as Isoenzimas dificilmente conseguem obter mais do que 30 loci para análise (LACERDA et al., 2002). Apesar destas vantagens citadas, este marcador possui desvantagens, como mostrado por Schötter (2004): (a) baixa reprodutibilidade; (b) é um marcador dominante, não conseguindo diferenciar o heterozigoto do homozigoto dominante; (c) difícil de analisar comparado a outros marcadores; (d) comparação entre os estudos com este marcador são difíceis; e (e) é difícil a automação da técnica. No entanto, quando comparado aos marcadores RFLP, a técnica de RAPD é muito mais

simples, requer uma quantidade menor de DNA para as análises e dispensa a utilização de compostos radioativos (FRISCH; RIESEBERG, 1996).

Os marcadores de Repetição de Sequência Internas-Simples (*Inter-Simple Sequence Repeat*, ISSR) envolvem amplificação de um segmento de segmento de DNA presente a uma distância amplificável entre duas regiões de repetição de microssatélites idênticas orientados em sentido oposto (REDDY et al., 2002; VIJAYAN, 2005; IDREES; IRSHAD, 2014). São regiões genômicas de 100 a 3000 pb, amplificadas via PCR, necessitando de primers de 16 a 20 pb (FALEIRO, 2007). Ao contrário dos microssatélites, os marcadores ISSR não necessitam de conhecimento prévio do genoma para ser analisado (VIAJAYAN, 2005). Isso permite que os primers desenvolvidos para uma espécie sejam facilmente transferidos e aplicados em outras espécies (REDDY et al., 2002). Os ISSR são considerados altamente polimórficos e com melhor reprodutibilidade quando comparados com os marcadores de Amplificação Aleatória de DNA Polimórfico (*Random Amplified Polymorphic DNA*, RAPD). No entanto, os ISSR são marcadores dominantes, não permitindo distinguir o heterozigoto do homozigoto dominante (IDREES; IRSHAD, 2014). Estes mesmos autores também afirmam que os ISSR são menos polimórficos quando comparados aos microssatélites. Mesmo possuindo essas desvantagens os ISSR são bastante utilizados em estudos com filogenia, em estudos com evolução e mapeamento do genoma, em função de sua característica de transferibilidade entre diferentes espécies (REDDY et al., 2002).

O Polimorfismo de Nucleotídeo Único (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNPs) são uma posição nucleotídica ortóloga que são variáveis através do genoma. Os SNPs são resultado de mutações que produzem um único par de base diferente dentro da sequência de DNA cromossômico (BRUMFIELD et al., 2003). Os SNPs podem ser resultado de mutações de transição (C/T ou G/A) ou de transversão (C/G, A/T, C/A ou T/G) (NADEEM et al., 2017). Alguns autores consideram os “indels” (inserção ou deleção) como SNPs (VIGNAL et al., 2002). A utilização desse marcador pode ser aplicada a todo o genoma, pela alta abundância deste tipo de mutação e grande grau de dispersão pelo genoma, fazendo desta técnica uma valiosa fonte de informações sobre variação genética para estudos de demografia, adaptação e evolução genômica (MORIN et al., 2004), podendo também ser aplicado com muito sucesso em estudo com filogenia (LEACHÉ; OAKS, 2017), em estudos biomédicos para o entendimento da fisiologia humana e a elucidação molecular das doenças genéticas (KIM; MISRA, 2007), já que este marcador pode estar presente em regiões codificantes e não codificantes do genoma. Os SNPs também são úteis em estudos voltados para o melhoramento genético de animais (VIGNAL et al., 2002). Nadeem et al (2017) atribuem esse grande leque de aplicabilidade a características como (a) codominância; (b) reprodutibilidade e comparação em diferentes estudos; (c) é um marcador bastante polimórfico, e (d) requer pouca quantidade de DNA. Suas desvantagens são: (a) requer uma extração de DNA de boa qualidade; (b) é uma técnica de alto custo.

Segundo as revisões Vignal et al. (2002), Schlötterer (2004) e Nadeem et al. (2017) todos os marcadores listados anteriormente têm sido amplamente utilizados para estudos populacionais, mapeamento e análises de similaridade, bem como para determinar distâncias genéticas. No entanto, a escolha do marcador ou técnica a ser

empregada deve ser feita em função da hipótese do estudo, seja por facilitarem o entendimento da variação existente nos organismos ou por serem específicos para a pergunta a qual se deseja resposta, uma vez que os marcadores apresentam diferenças entre si em grande número de fatores, tais como a região do genoma em que permitem acessar a informação, a quantidade de polimorfismo que pode ser detectado, a abundância relativa no genoma, a reprodutibilidade e as metodologias de detecção, que envolvem custos variáveis. Algumas dessas características estão organizadas na tabela I.

**Tabela I.** Comparação de características importantes para os marcadores discutidos nesse estudo (NADEEM et al. 2017).

Característica analisada	Tipo de marcador molecular				
	Microssatélites	RFLP	RAPD	ISSRs	SNPs
<b>Análise de Dominância ou Codominância</b>	Codominância	Codominância	Dominância	Dominância	Codominância
<b>Reprodutibilidade</b>	Alta	Alta	Alta	Média	Alta
<b>Deteção de nível de polimorfismo</b>	Alta	Média	Muito alta	Alta	Alta
<b>Pureza do DNA a ser analisado</b>	Baixa	Alta	Alta	Baixa	Alta
<b>Concentração de amostra (DNA) a ser analisada</b>	Baixa	Alta	Média	Baixa	Baixa
<b>Abundância do polimorfismo analisado no genoma</b>	Média	Alta	Muito alta	Média	Muito alta
<b>Custo da técnica</b>	Alto	Alto	Baixo	Alto	Alto
<b>Necessidade de sequenciamento</b>	Não	Sim	Não	Não	Sim
<b>Necessidade de amplificação por PCR</b>	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
<b>Técnica de visualização de resultados</b>	Gel de agarose	Radioativo	Gel de agarose	Gel de agarose	Gel de agarose
<b>Técnica atual ou ultrapassada?</b>	Atual	Ultrapassada	Ultrapassada	Atual	Atual

As variáveis apresentadas na tabela I, são importantes para que o grupo de pesquisa ou o pesquisador delimite previamente as características de interesse do marcador que corresponde a viabilidade de custo, técnica, grau de polimorfismo e associe estes com o tipo de informação genética que deseje acessar para responder as perguntas elaboradas dentro da pesquisa realizada.

O uso mais comum dos marcadores genéticos é para determinar se os indivíduos apresentam diferenças geneticamente uns dos outros. Nesse sentido, as técnicas moleculares têm sido utilizadas rotineiramente para caracterizar os níveis de variabilidade genética (porcentagem de locus polimórficos, número de alelos por locus e heterozigidade), bem como avaliar a estrutura genética nas populações de peixes tanto na natureza quanto em estoques comerciais (ABDUL-MUNEER, 2014).

Com a utilização de marcadores moleculares, tem sido possível inferir a frequência de um determinado alelo, bem como o número de alelos por locus. Com isso, pode-se estimar a frequência de indivíduos heterozigotos (heterozigotidade esperada, que é calculada a partir das frequências alélicas  $p$  e  $q$ ), demonstrando a variação genética na população. De posse desses dados, torna-se possível estimar a estruturação populacional por meio da estatística  $F$  de Wright, também chamado de índice de fixação, que equivale a redução na heterozigotidade esperada sob acasalamentos ao acaso em qualquer nível da hierarquia populacional, em relação ao outro nível mais inclusivo, este sendo reportado primeiramente por Wright (1951). Esse tipo de análise é bastante utilizado nos trabalhos que envolve diversidade genética, sendo até hoje uma das principais métricas para avaliar a diversidade genética, conforme discutido nos trabalhos de Balloux et al, (2002); Weir (2012); Peter (2016) e Meeûs (2017). Essas medidas estão diretamente relacionadas às variações na frequência alélica entre as populações, medindo a proporção da variação genética entre indivíduos amostrados, possibilitando avaliar se a variação encontrada dentro da população é maior que a variação encontrada entre as populações (TEMPLETON, 2006; HOLSINGER; WEIR, 2009).

Por fim, a presença de marcadores de DNA polimórficos pode fornecer novas informações sobre o comportamento, ecologia e estrutura genética de populações, níveis de endogamia, sucesso de estratégias reprodutivas e sobre a intensidade dos efeitos de seleção natural e sexual (FERGUSSON; DANZMANN, 1998). Nesse sentido, a diferenciação de uma espécie em populações geneticamente distintas é uma parte fundamental do processo de evolução e depende de forças evolutivas, tais como migração, seleção, deriva genética e isolamento geográfico, como demonstrado no trabalho de Escobar et al. (2015). Espécies ameaçadas de extinção, que apresentam populações pequenas (ou em declínio), inevitavelmente apresentarão endogamia e perda de diversidade genética. Uma vez que a endogamia promove a redução nas taxas de reprodução e sobrevivência e a perda da diversidade genética reduz a capacidade das populações de se adaptarem em resposta às mudanças ambientais, espera-se que esses fatores genéticos contribuam para o risco de extinção, especialmente em pequenas populações de espécies ameaçadas. De modo análogo, com a perda de uma população, toda a espécie perde membros adaptados para sobreviver em um determinado habitat (FRANKHAM, 2003).

Em genética de populações, baixa variabilidade genética (baixa heterozigosidade e desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg) associada à endogamia, promovem o chamado “efeito gargalo”. Como esses fatores, em conjunto, levam a redução do *fitness*, esforços para aumentar a diversidade genética devem receber alta prioridade para a conservação das espécies (FRANKHAM, 2003; ABDUL-MUNEER, 2014).

Sob todos os aspectos apresentados acima, o presente trabalho pretendeu analisar qual o impacto da evolução dos marcadores moleculares com a finalidade de avaliar a diversidade genética da ictiofauna. A abordagem foi realizada utilizando técnicas de cienciometria com o objetivo de analisar os padrões e tendências das publicações científicas sobre a temática diversidade genética em populações de peixes, abordando os diferentes marcadores genéticos utilizados sob diferentes aspectos, como preferência



por tipo de marcador, a evolução ao longo do tempo em relação ao tipo de marcador mais utilizado e principais países que trabalham com os diferentes marcadores. Ainda, tentou-se encontrar correlação entre número de citações e tempo de publicação e também em relação ao número de autores.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Analisar os padrões e tendências das publicações científicas sobre a temática diversidade genética em populações de peixes, utilizando cinco classes de marcadores moleculares (Aloenzimas, RAPDs, SSR, ISSR, SNPs e seus derivados), de forma a verificar o número de artigos publicados na área, no período de primeiro registro de publicação até o ano de 2018, bem como acompanhar a variação temporal sobre o número de artigos, tipo de periódicos em que estão sendo publicados, nacionalidade dos pesquisadores e os impactos dessas publicações em termos de citações.

### **Objetivos específicos**

Quantificar os trabalhos desta área, em seguida, verificar a nacionalidade das publicações. Bem como, se existe uma preferência por um marcador para avaliar a diversidade genética em populações de peixes. Analisar se existe uma preferência nas publicações por periódicos nesta área e depois correlacionar o número de citações com a colaboração, tamanho do trabalho e tempo de disponibilidade do estudo para traçar um perfil das publicações com o tema abordado.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para este estudo, foram coletados dados na base internacional Web of Science. Foram pesquisadas as publicações sobre a diversidade genética em peixes entre 1992 e abril de 2018, delimitando os marcadores moleculares deste estudo utilizando a abordagem de Schlötterer (2004), em que o autor agrupa os marcadores moleculares em 4 classes: SNPs, Microsatélites, Aloenzimas e RAPDs. Adicionalmente, foi inserido na análise o marcador ISSRs, pelo fato deste fornecer características de interesse, como descrito e referenciado no tópico 4 da Introdução “Marcadores Moleculares de DNA”, para estudos com estrutura populacional e diversidade genética. Não foi utilizado o marcador molecular RFLP em nossa busca, pelo fato deste ser utilizados em estudos taxonômicos e não possuir características de interesse em estudos filogenéticos, de estrutura populacional e diversidade genética, também como descrito e referenciado no tópico 4 da Introdução (pag. 19 e 21).

As combinações de palavras-chave utilizadas foram “Microsatellite\* AND fish AND genetic diversity; Alloenzyme\* AND fish AND genetic diversity; RAPD\* AND fish AND genetic diversity; ISSRs\* AND fish AND genetic diversity; SNPs\* AND fish AND genetic diversity” para registrar o máximo de estudos com diversidade genética em peixes com estes marcadores. Os artigos selecionados para o estudo deveriam conter

essas combinações de palavras no título, resumo ou palavras-chave. Foram considerados para as análises somente trabalhos que utilizaram técnicas moleculares e que continham medidas de diversidade e divergência genética em populações de espécies de peixes.

Nos trabalhos que apresentassem os critérios acima, foram retiradas as seguintes informações: (I) periódico em que o artigo foi publicado; (II) ano da publicação; (III) identificação da nacionalidade da instituição de pesquisa do autor correspondente; (IV) número de citações; (V) quantidade de páginas do estudo; (VI) quantidade autores por estudo (VII) tipo de marcador utilizado.

O número de citações para cada publicação foi obtido utilizando o recurso de relatório de citações da base de dados Thomson 'ISI Web of Knowledge'.

As análises dos dados relativos a (a) número de publicações por tipo de marcador molecular, (b) número de publicações de cada marcador para as cinco revistas em que mais foram encontradas publicações e (c) número de trabalhos publicados por diferentes países para cada tipo de marcador, foram realizadas utilizando análises de frequência simples, considerando todos os trabalhos obtidos para o período compreendido entre 1992 e 2018.

Adicionalmente, identificaram o padrão das publicações pela nacionalidade dos autores e revistas. Calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson para avaliar a tendência temporal no número de trabalhos publicados em cada ano. Decidiu-se utilizar o número de citações para as análises abaixo pelo fato deste refletir o impacto de um trabalho na comunidade científica (Verbeek et al., 2002). Para isso, analisou-se o número de citação por quantidade de autores, seguindo a abordagem de Ma e Guan (2005) e Nabout et al. (2014), e para o tempo de publicação utilizou-se a abordagem de Lima-Ribeiro (2007). Verificaram o tamanho dos trabalhos em relação a citação utilizando a abordagem de Hayashi (1999). Para essas últimas análises, utilizou-se a regressão, (verificação do padrão temporal das citações em relação a ano, autores e trabalho) retirando o efeito e magnitude dos trabalhos que possuem o número elevado ou escasso de citação através da somatória das citações por ano sobre a quantidade de trabalho por ano.

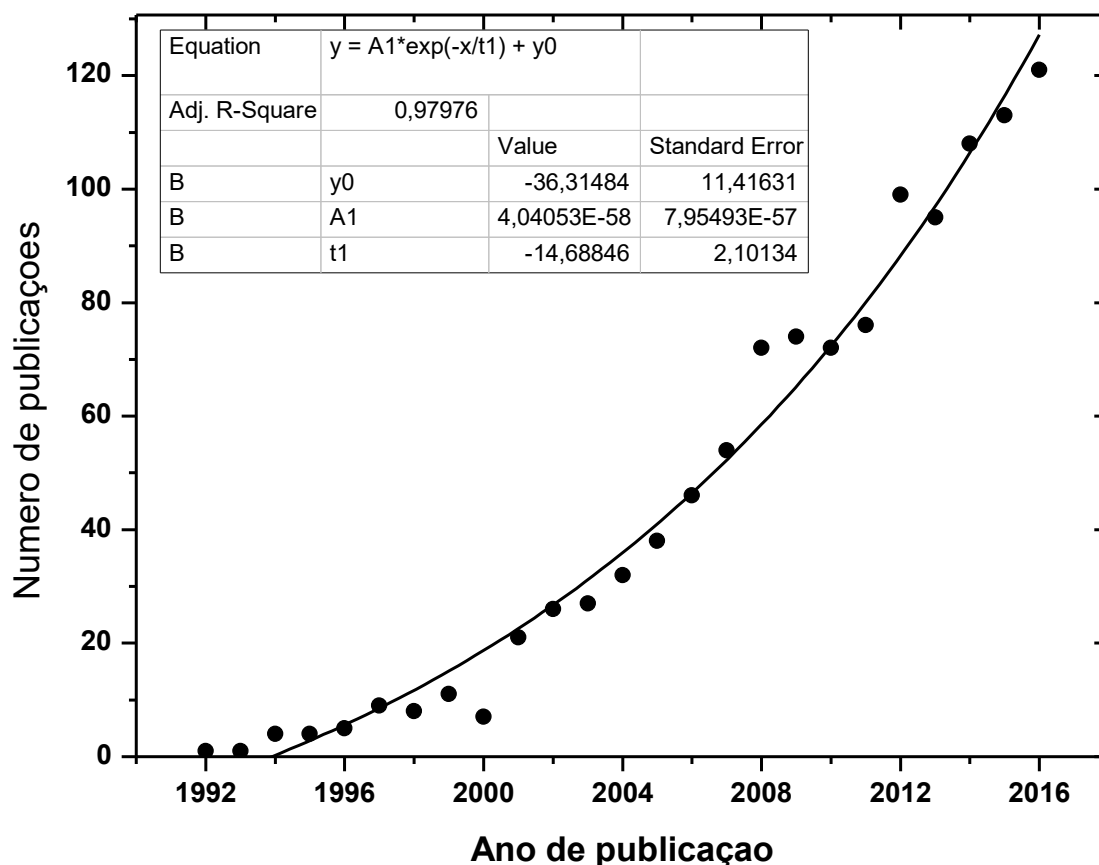
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Neste estudo foram avaliadas as tendências temporais das publicações com os principais marcadores moleculares para estudos de diversidade genética em peixes, analisando padrões e tendências das publicações científicas sobre a temática diversidade genética em populações de peixes, abordando os diferentes marcadores genéticos utilizados sob diferentes aspectos, como preferência por tipo de marcador, a evolução ao longo do tempo em relação ao tipo de marcador mais utilizado e principais países que trabalham com os diferentes marcadores. Ainda, tentou-se encontrar correlação entre número de citações e tempo de publicação e também em relação ao número de autores.

No período pesquisado, que foi de 1992 a 2018, foram encontradas 1230 publicações sobre diversidade genética em peixes com os marcadores moleculares considerados neste levantamento: Microssatélites, Aloenzimas, repetição simples de

sequência interna (*Inter Simple Sequence Repeat*, ISSR), amplificação aleatória de DNA polimórfico (*Random Amplification of Polymorphic DNA*, RAPD) e polimorfismo de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNPs).

Na figura 1, pode ser observado aumento exponencial de publicações entre os anos de 1992 e 2016. O ajuste ao modelo utilizado pode ser considerado bom para esta série de dados ( $R^2 = 0,97976$ ;  $R=0,86$ ;  $P<0,01$ ).



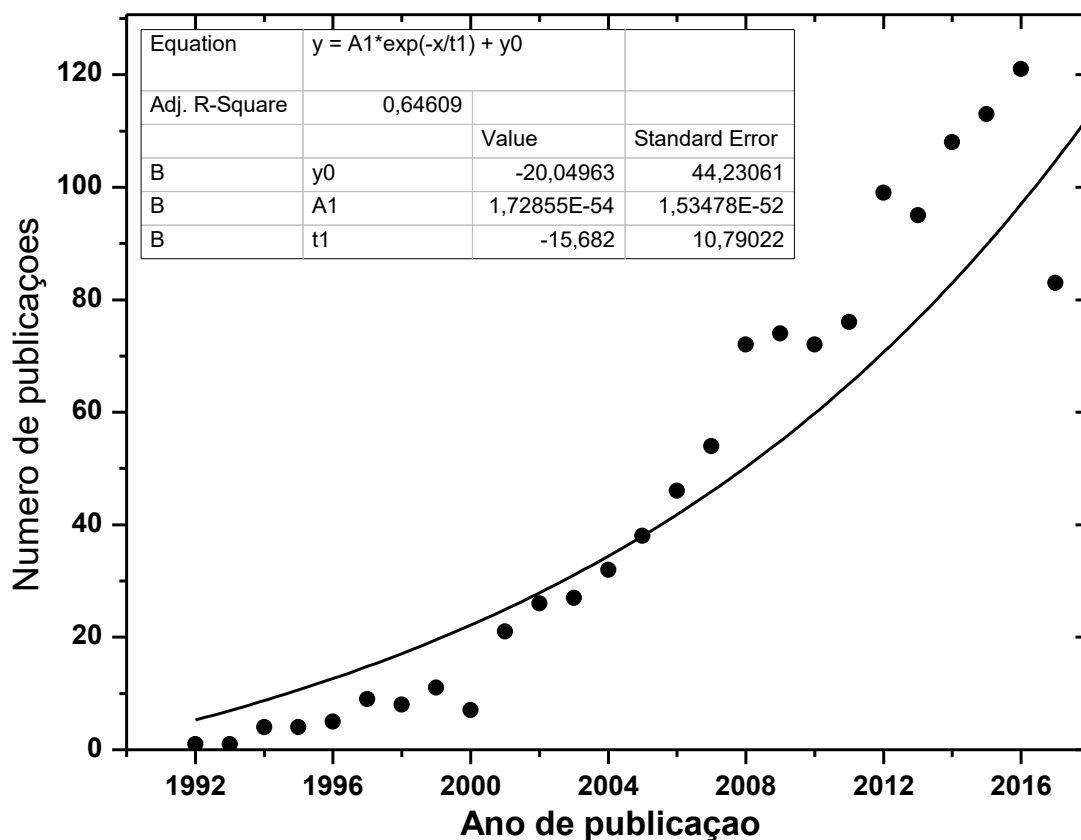
**Figura 1.** Número de publicações que atendem os critérios de busca mencionados nos matérias e métodos na base de dados Web of Science no período de 1992 a 2016.

Esse aumento no número de publicações reflete, ao mesmo tempo, o aumento observado nas publicações científicas como um todo, como discutido mais abaixo, e também uma preocupação da comunidade científica em conhecer ou em entender a diversidade genética em peixes. Essa preocupação pode ser por causa da crise global das populações de peixes, que é reflexo da exploração e depreciação dos recursos pesqueiros. Conforme demonstrado por Pinsky e Palumbi (2013), a riqueza alélica (um dos índices que compõem a diversidade genética) é menor em peixes que sofrem sobre-exploração em 9 de 12 gêneros e famílias, com uma média 12% menor em relação as demais espécies. Estes dados evidenciam a importância de estudos com os marcadores moleculares para verificar os status da diversidade genética para avaliar a conservação genética de um grupo taxonômico. Em uma simulação, os mesmos autores sugerem que populações com 3000 ou menos indivíduos sofrem grande risco de erosão de sua variação. Allendorf et al. (2014) discute que a conservação das populações de peixes com o foco em genética da conservação tem efeitos diretos sobre a disponibilidade de

proteína na dieta humana. A FAO (2016) estima que em 2014 o consumo mundial de pescado foi de aproximadamente 73,8 milhões de toneladas, representando 16,8% de toda a proteína animal consumida, mostrando a importância desse recurso para a manutenção alimentícia da população global. Essa preocupação vem sendo alvo de estudos desde meados da década de 1960 do século passado, em que Ryman e colaboradores (1995) mostram que as publicações relacionadas com organismos aquáticos vêm crescendo. No entanto, os mesmos autores mostram que este interesse é bem menor quando comparado as publicações com organismos terrestres, evidenciando negligência sobre a conservação dos organismos aquáticos no século passado (RYMAN et al., 1995).

Por outro lado, este padrão do aumento das publicações também é detectado em outras áreas do conhecimento, como por exemplo: ecologia de populações (Lima-Ribeiro et al., 2007), mudanças climáticas (Nabout et al., 2012), estudos sobre fitoplâncton (Nabout et al., 2015) e em estudos mais restritos, como o Bioma Cerrado (Borges et al., 2015). Este incremento pode ser atribuído aos diferentes fatores tais como: (i) formalização das instituições e áreas de conhecimentos, (ii) períodos de crescimento econômico e (iii) e a própria revolução industrial (BORNMANN; MUTZ, 2010). Estes autores mostram que a ciência passou por 3 grandes fases de crescimento, em que se observou notável aumento de publicações: no período do século XVI a XVII, no período XVII a XIX e, por fim, no período pós II Guerra Mundial. A crítica a essa metodologia é feita pelos próprios autores, que dizem que o aumento no número de publicações pode não representar aumento no conhecimento científico. Esta preocupação é compartilhada por diversos pesquisadores em diferentes áreas do conhecimento, criando-se inclusive a expressão ciência-salame (*salami science*) para ilustrar a prática de publicar grande número de pequenos artigos a partir de um único trabalho experimental (REINACH, 2013).

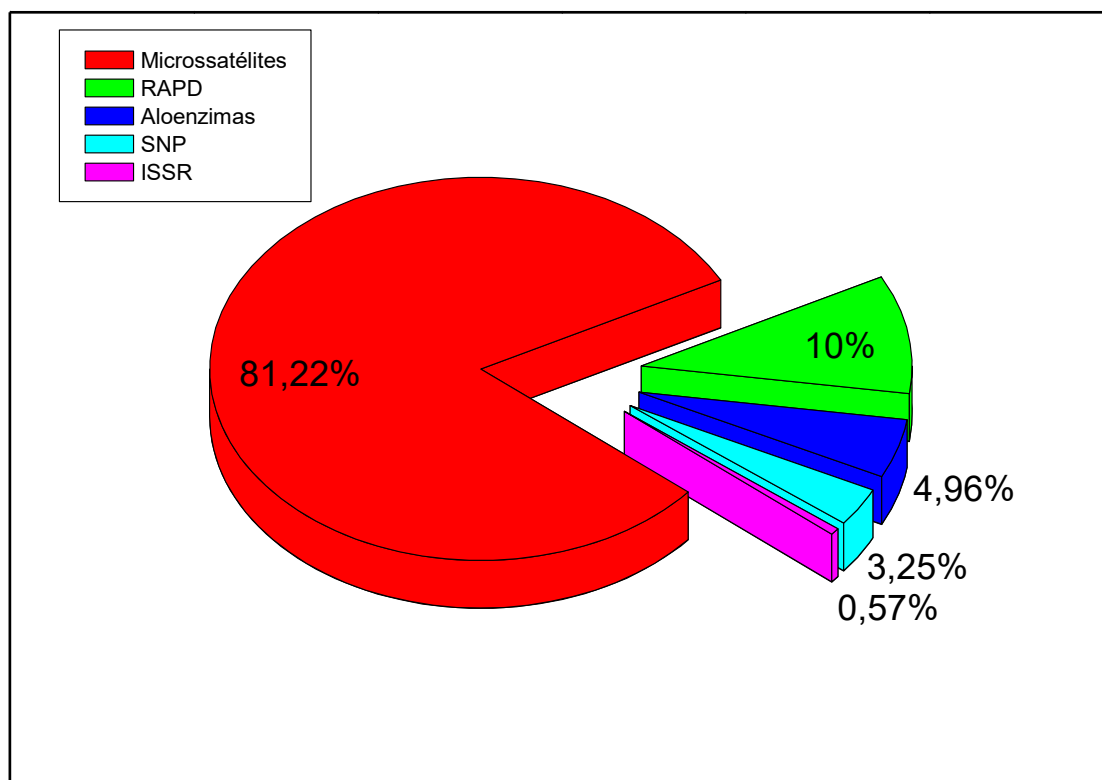
No entanto, ao acrescentar o ano de 2017, percebe-se (figura 2) a diminuição no número de publicações, quando comparado a série histórica. De fato, contrariando a tendência, o número de publicações em 2017 retornou aos níveis encontrados no fim da década de 2000. O ajuste ao modelo exponencial anteriormente utilizado é ruim ( $R^2 = 0,64609$ ). O ano de 2018 foi excluído da análise, pois apenas artigos publicados nos três primeiros meses foram considerados.



**Figura 2.** Número de publicações que atendem os critérios de busca mencionados nos matérias e métodos na base de dados Web of Science no período de 1992 a 2017.

Este comportamento de decréscimo do número de publicações foi detectado em um trabalho de Larsen e von Lins (2010), que analisou o aumento de publicações científicas e a cobertura de diferentes bases de dados. Os resultados mostram que, como discutido acima, o número de publicações científicas realmente vêm aumentando ano a ano, mas que as bases de dados tradicionais podem estar perdendo cobertura com o surgimento de novas formas de publicação, como por exemplo *conferece proceedings*, publicações de acesso aberto e servidores que oferecem acesso antes da publicação (como o BioRxiv, mantido pelo Cold Spring Harbor Laboratory - <https://www.biorxiv.org/> e o arXiv, mantido pela Cornell University - <https://arxiv.org/>) estes verificados por Larsen e von Lins (2010). No entanto, parece-nos que essa explicação não pode ser aplicada ao observado no presente trabalho, uma vez que apenas no fim do século passado (1999-2000) houve queda comparável com a observada no biênio 2016-2017, quando apenas uma dezena de artigos era publicada anualmente nas áreas pesquisadas. Caso os grupos de pesquisa estivessem aderindo às novas modalidades de registro de dados acima citados, poderia esperar a diminuição dos trabalhos publicados em artigos e periódicos tradicionais, o que não se observa até 2016. Ao contrário, no século XXI, a tendência sempre foi de crescimento, e até o momento não se tem a explicação para este fato, sendo necessário o acompanhamento ao longo dos anos vindouros para que se possa analisar esta queda ocorrida em 2017 com maior precisão de análise.

Quando se analisa o número de publicações por tipo de marcador molecular no período compreendido entre 1992 e 2018 (figura 3), encontram-se 999 publicações para os Microssatélites, representando 81,22%. O segundo marcador mais utilizado foi RAPD, com 123 publicações (10,00%) e, na sequência, Aloenzimas, com 61 publicações (4,96%), SNPs, 40 publicações (3,25%) e ISSR, com 7 publicações (0,57%).



**Figura 3.** Relação do número de publicações agrupadas por tipo de marcador, busca realizada entre o período de 1992 a 2018 na base de dados Web of Science.

O mesmo fenômeno foi observado por Schlötterer (2004), em que o autor argumenta que tais números são reflexo da capacidade de marcadores como os microssatélites e SNPs de detectarem com maior precisão a variabilidade genética. Isso é explicado pelo fato dos microssatélites apresentarem grande quantidade de informação por locus (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998), e os SNPs serem capazes de detectar mudanças de um único nucleotídeo na sequência de DNA (LEACHÉ; OAKS, 2017). Já o surgimento de RAPDs em segundo lugar dentre as técnicas mais utilizadas pode estar relacionada ao seu baixo custo (IDREES; IRSHAD, 2014) e rapidez de análise (FRISCH; RIESEBERG, 1996), a despeito das desvantagens, como baixa reprodutibilidade e das dificuldades de análise de dados (SCHÖTTER, 2004).

Quando analisados os dados referentes as publicações entre 2001 e 2018, pode-se observar que os microssatélites são os marcadores moleculares mais utilizados, com 964 publicações, evidenciando que este marcador foi amplamente aceito por pesquisadores e vastamente utilizado em estudos de diversidade genética para populações da ictiofauna. Por outro lado, não era esperada a representatividade de

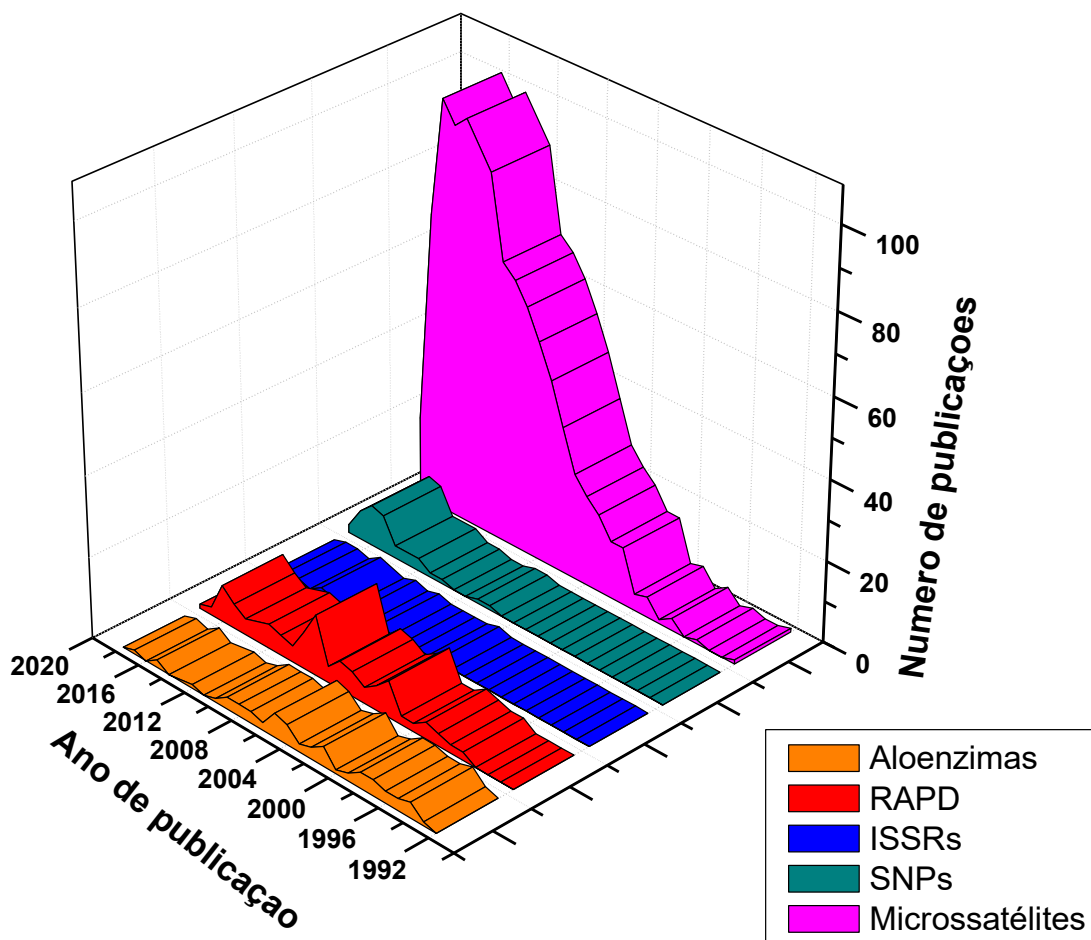
estudos com Isoenzimas e SNPs registrados, com 37 e 36 trabalhos, respectivamente, nesse mesmo período (2001-2018). Isoenzimas são considerados marcadores ineficientes para inferência da variabilidade genética, pelo fato de analisar indiretamente e insensivelmente a variações no DNA (SCHÖTTERE, 2004), pois considera apenas a variação proteica e não a variação genética e, por essa razão, esperava-se menor ocorrência de trabalhos.

Analogamente, esperava-se maior número de publicações com os marcadores SNPs. Conforme abordado por Leaché e Oaks (2017) os marcadores SNPs podem detectar polimorfismos em todo o genoma, sendo bastante eficientes para avaliar o histórico evolutivo da população, por possuir vantagens como (i) ser bastante polimórfico, (ii) possuir grande número de estudos com este marcador, (iii) os dados produzidos são armazenados em bancos de dados e podem ser comparados e utilizados em outras análises. No entanto, os microssatélites ainda produzem mais informações a respeito de estudos com animais do que os SNPs (VIGNAL et al., 2002), sendo os SNPs bastante populares e eficiente em estudos de genotipagem humana e aplicação em tecnologias biomédicas (KIM; MISRA, 2007). Thomas et al. (2010) registram 24079 artigos com o termo “polimorfismo de nucleotídeo único”. Gu et al. (1998), ao discutir o custo desta técnica e sua eficiência, apresenta dados de aproximadamente 900.000 sequências de DNA genômico humano depositados em 1998, abordando sua aplicabilidade em estudos que requerem apenas o acesso aos bancos de dados para análise das sequências já depositadas, baixando os custos em estudos com SNPs.

Os SNPs podem ser rastreados utilizando bancos de dados (PICOULT-NEWBERG et al., 1999; COX et al., 2001). No entanto, este método não está disponível para muitas espécies de peixes de aquicultura (HE et al., 2003). Este último fato poderia explicar a pequena ocorrência de publicações envolvendo SNPs no presente trabalho: a falta de sequências de material genético de peixes depositadas em bancos de dados, significando que poucos grupos de pesquisa mapearam extensivamente genomas de peixes. Corroborando com essa observação, Xu et al. (2014) mostraram que apenas em 2014 o genoma da espécie *Cyprinus carpio*, um peixe que possui grande importância econômica e ecológica, foi publicado. Com isso, o registro de SNPs no genoma para essa espécie que era de 3.470 passou para 18.949.596 candidatos a SNPs.

Por fim, comparando-se os marcadores SNPs com os SSR, chega-se à conclusão de que, embora os marcadores microssatélites apresentem características desejáveis, como sua natureza codominante e multialélica, bem como o fato de serem altamente polimórficos e, por isso permitem discriminações precisas entre indivíduos altamente relacionados, a abundância dos SNPs nos genomas permite abrangência maior dos dados, além de ser uma técnica automatizada. Com isso, há possibilidade de geração de grande volume de informações a partir dos SNPs, o que pode tornar as análises mais eficientes, sem perder a robusticidade, uma vez que a informação por locus e a reprodutibilidade têm sido consideradas satisfatórias.

Quando as publicações por tipo de marcador ao longo dos anos são analisadas, observa-se a variação na popularidade de cada técnica de acordo com o passar do tempo, como mostrado na figura 4.



**Figura 4.** Número de trabalhos que estão indexados na base de dados Web of Science publicados desde 1992 a 2018, para cada de tipo de marcador molecular.

Isso pode ser explicado pelo desenvolvimento de novas técnicas, mais precisas e confiáveis. A subsistência de técnicas consideradas ultrapassadas pode ser explicada pela relação custo/benefício dessas metodologias. Na tabela II, pode-se observar como variou o número de trabalhos publicados a cada 4 anos.

**Tabela II.** Número de publicações encontradas com os parâmetros de busca descritos em Materiais e métodos em um de 4 em 4 anos (1992 a 2018) para os marcadores Microssatélites, RAPD, ISSRs, SNPs e Aloenzimas.

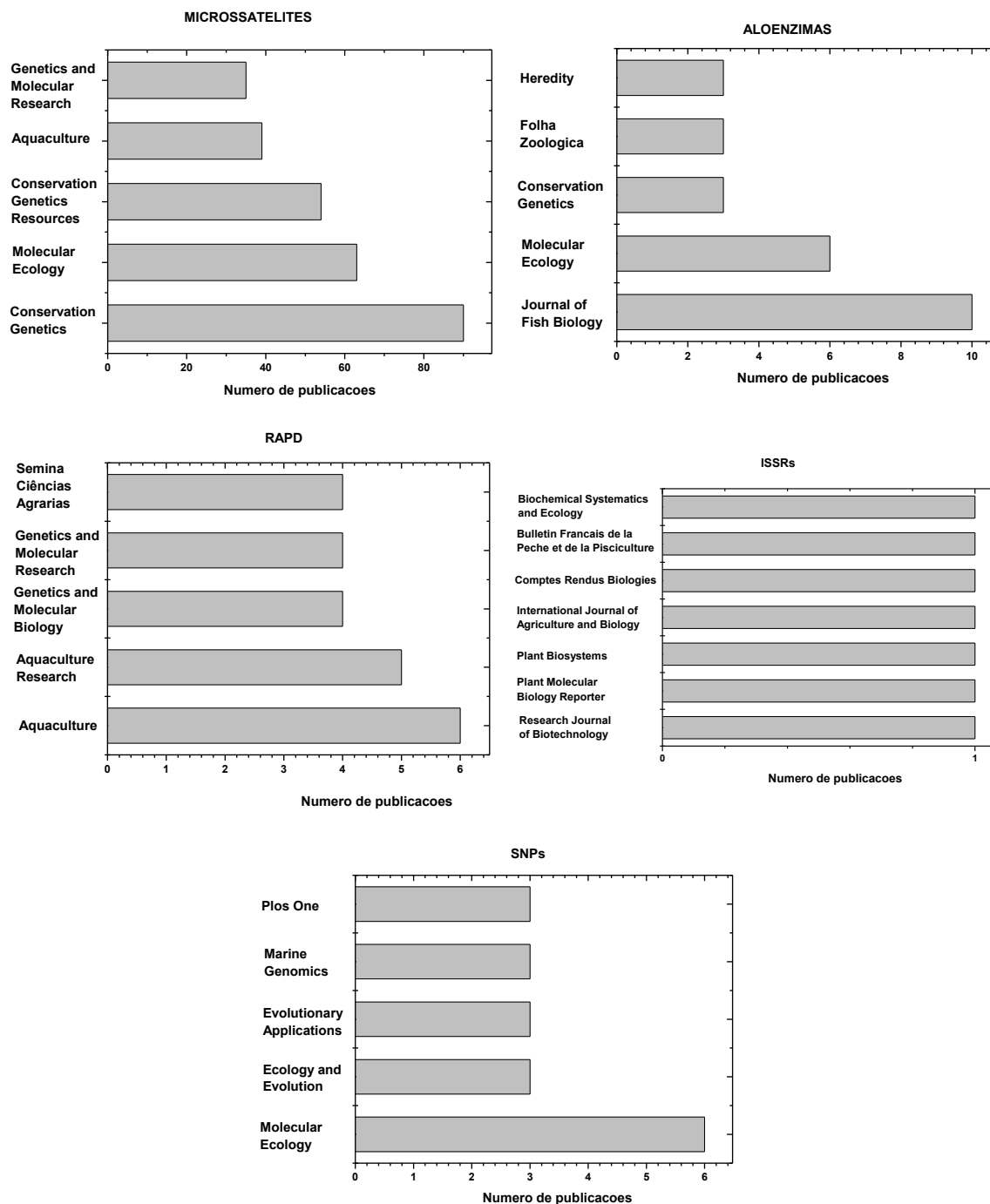
Período	Tipo de marcador molecular				
	Microssatélites	Aloenzimas	RAPD	ISSRs	SNPs
1992 - 1996	2	8	0	0	0
1996 - 2000	9	13	11	0	0
2000 - 2004	51	11	19	0	0
2004 - 2008	130	16	36	1	2
2008 - 2012	250	7	33	2	2
2012 - 2016	364	3	25	3	15
2016 - 2018	193	1	12	1	17



Verifica-se que ocorreu diminuição de publicações a partir de 2004 de trabalhos com os marcadores RAPD e Aloenzimas, e o inverso aconteceu com os Microsatélites e SNPs nesse período. Este decréscimo com estes marcadores nos últimos anos e a baixa popularidade dos RAPD e ISSR demonstrada na figura 4 pode ser explicado pela não aceitação de publicação em algumas revistas de grande circulação com estudos envolvendo apenas estes marcadores. O periódico *Molecular Ecology*, por exemplo, traz nas instruções para a submissão de trabalhos a política sobre o uso de marcadores RAPD/ISSR, sendo que as publicações sobre inferência genética de populações com estes marcadores raramente são aprovados pelos revisores da revista. Os editores justificam tal política apontando as desvantagens proporcionadas por estes marcadores, como a baixa reprodutibilidade, dominância e homologia e pela existência de outros marcadores mais eficientes (MOLECULAR ECOLOGY, 2013).

Os dados aqui discutidos corroboram os resultados encontrados por outros autores, como os dados analisados por Silva e Russo (2000) que realizaram um levantamento na bibliografia da utilização desses marcadores no período de 1979 a 1997, observando que 44% dos estudos optaram pelos marcadores do tipo Polimorfismos de Comprimento de Fragmentos de Restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP), enquanto em apenas 8% dos trabalhos foi adotada a técnica de microsatélites (SILVA; RUSSO, 2000). Os autores ainda destacam que a determinação da escolha da técnica é devido a (1) Os recursos econômicos disponíveis no laboratório, (2) A tradição do grupo de pesquisa, e (3) O avanço e aperfeiçoamento da técnica em específico na comunidade científica. Os marcadores do tipo ISSRs mostram, a partir de 2004, algumas publicações, mas de contribuição marginal na produção científica da área. Saroglia e Liu (2012) afirmam que os marcadores moleculares mais importantes para aquicultura atualmente são os microsatélites e os SNPs. Estes autores dão ênfase a este último marcador, demonstrando, através de um levantamento na plataforma ScienceDirect, que aparentemente todos os marcadores, com exceção dos SNPs, tiveram um pico de aplicação na aquicultura. Neste levantamento, foi detectado que a utilização de aloenzima e RAPD apresentam a redução nos últimos anos, tal qual encontrado no presente trabalho.

Analisando as revistas em que os trabalhos foram publicados, foram encontrados um total de 215 diferentes periódicos com os marcadores Microsatélites, seguidos de 86 revistas diferentes para o marcador RAPD, 38 revistas para o marcador com Aloenzima, 27 diferentes revistas para o marcador SNPs e 7 revistas com os marcadores ISSRs. Portanto, pode-se dizer que existe certa preferência da escolha da revista (figura 5) para as publicações com os marcadores Microsatélites, RAPD e Aloenzimas, sendo que as revistas mais notórias para a publicação destes marcadores são a *Conservation Genetics*, *Molecular Ecology*, *Aquaculture* e *Journal of Fish Biology*. Porém, não observa uma preferência para os ISSRs contabilizando 7 revistas com uma publicação cada, podendo ser resultado de um número muito baixo de publicações para este marcador.



**Figura 5.** Número de publicações de cada marcador para as cinco revistas que mais obtiveram publicações por cada marcador molecular no período de 1992 a 2018.

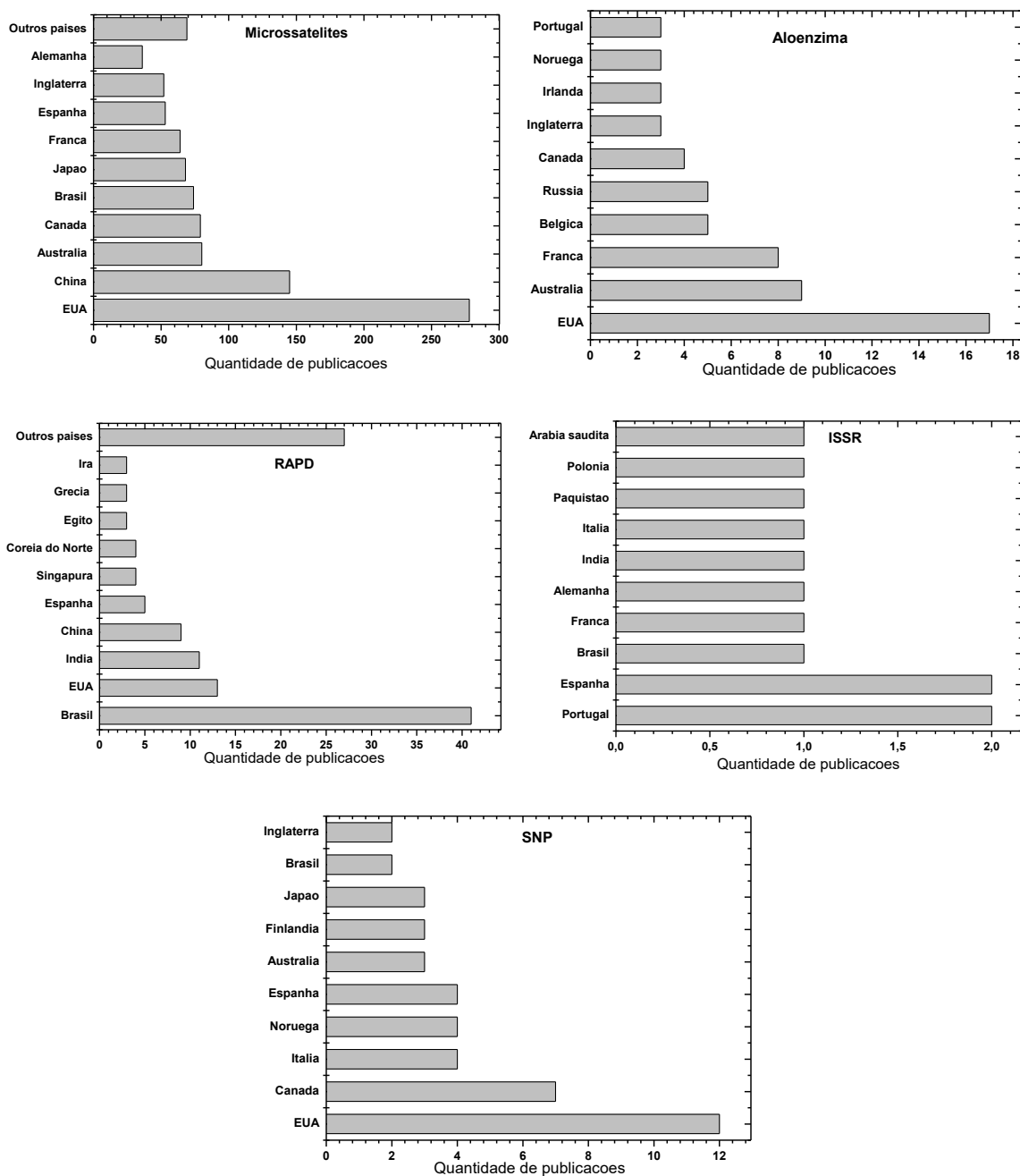
Segundo Seglen (1998), a escolha da revista científica na qual o trabalho será publicado é importante, pois é utilizado como critério para avaliar a qualidade do estudo e o impacto que o mesmo possui dentro de sua área. Nota-se uma frequência considerável de estudos publicados em revistas com um fator de impacto alto (6,086), como por exemplo a *Molecular Ecology*. O fator de impacto de uma revista é avaliado somando a quantidade de citações que a revista obteve no ano em que se quer avaliar,

apenas para os artigos publicados nos últimos dois anos, este dividido pela quantidade de publicações dos últimos dois anos (PLOS MEDICINE, 2006), e é utilizado para avaliar a qualidade do jornal e mesmo a qualidade individual de cada artigo (CALLAWAY, 2016). No entanto, alguns autores Bohannon (2016); Jalalian (2015); Plos Medicine (2006); Seglen (1998), criticam o fator de impacto como índice de avaliação de qualidade, pelo fato que este é dependente das citações e não considera a qualidade do trabalho.

O fator de impacto é condicionado pela área. Assim, revistas que possuem um escopo abrangente de aceitação de artigos de diferentes áreas terão muitas publicações e muitas referências tendendo a aumentar o fator de impacto (SEGLEN, 1998). Apesar das críticas e discussões, o Fator de Impacto ainda é a ferramenta útil e, isoladamente, uma das mais importantes para avaliar os periódicos científicos e a produtividade intelectual (RUIZ et al., 2009).

Lima-Ribeiro (2007), ao abordar a temática da escolha do periódico, também constatou que a escolha da revista deve ser condizente com a área de conhecimento do estudo, principalmente em revistas que abordam assuntos específicos. Foi constatado que a somatória das 5 revistas que mais possuem artigos indexados para cada marcador representa 31% de todas as publicações, sendo essa preferência resultado do escopo do trabalho. Uma minoria das publicações foi indexada em revistas específicas voltadas para a conservação, totalizando 154 publicações (12%). Essas revistas são a *Conservation Genetics*, *Conservation Genetics Resources*, *Biological Conservation*, *Conservation Biology*, *Animal Conservation*, *Aquatic Conservation Marine and Freshwater*, *Biodiversity and Conservation*, *Global Ecology and Conservation*, *Black Bass Diversity Multidisciplinary Science for Conservation*.

Abordando a nacionalidade das publicações, foi percebida a predominância de estudos norte-americanos (320 estudos, que representam 26% do total). Os marcadores mais explorados nestes trabalhos foram os microsatélites somando 278 trabalhos, SNPs (12 trabalhos) e Aloenzimas (17 trabalhos). Para os marcadores ISSRs os países que mais publicaram foram Portugal e Espanha e com o marcador RAPD registrando o país que mais publicou com este marcador foi o Brasil, com 41 trabalhos (figura 6).

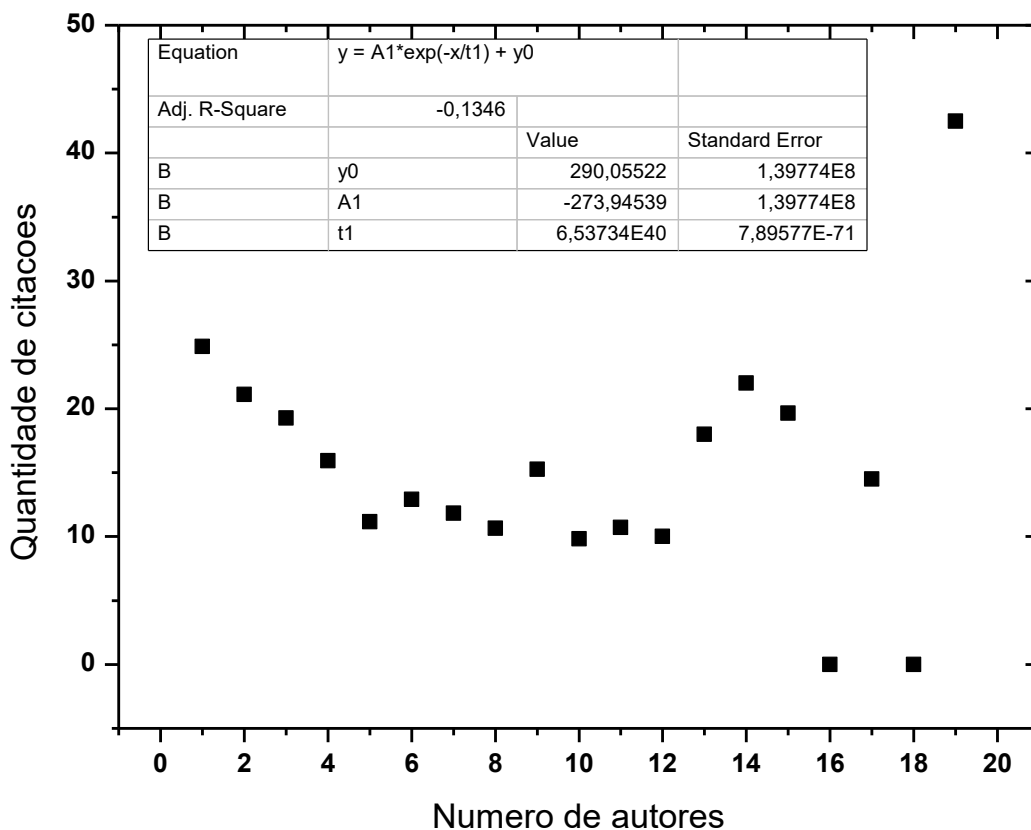


**Figura 6.** Relação do número de trabalhos publicados por diferentes países por cada tipo de marcador, no período de 1992 a 2018

Uma das razões dos países desenvolvidos aparecerem liderando as publicações científicas é o alto investimento em infraestrutura e em Ciência e Tecnologia (JAPPE, 2007). Nos Estados Unidos da América, a maior parte dos investimentos em pesquisa científica é proveniente de investimentos do setor privado seguido das organizações sem fins lucrativos e, por fim, as universidades. Por outro lado, o panorama brasileiro é exatamente o oposto: a produção científica é praticamente 100% originária das universidades (ORTEGA; AGUILIO 2010), que são dependentes de verbas governamentais, corroborando com o contexto de Silva e Russo (2000) sobre os

principais aspectos da escolha da técnica discutida logo acima, principalmente do ponto de vista do custo dos experimentos.

A análise das citações é discutida como importante instrumento para avaliar a difusão e a utilização do conhecimento científico gerado (VERBEEK, 2002). Observa-se fraca relação entre a média de citação dos trabalhos em relação a quantidade de autores ( $R^2 = -0,1346$ ;  $R = -0,27$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 6).

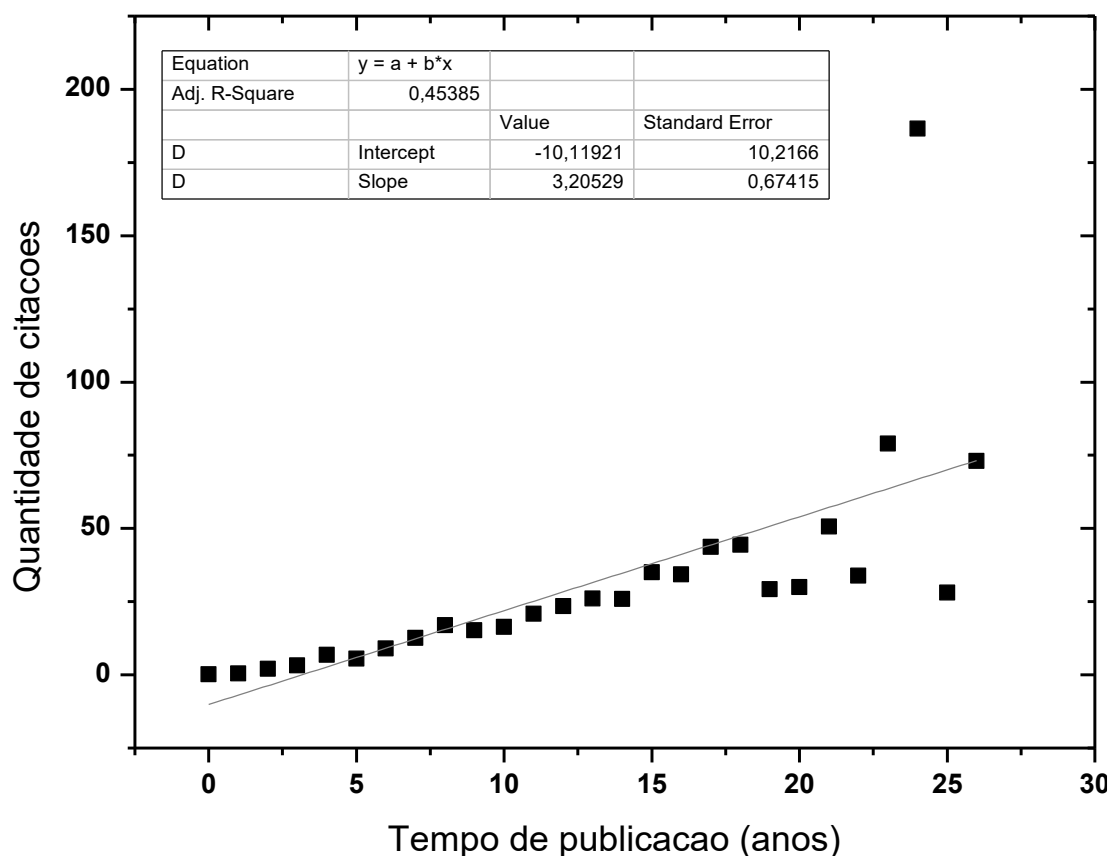


**Figura 6.** Relação da média de citação com o número de autores.

Estes dados demonstram que não existe uma relação muito clara entre quantidade de autores e número de citações para trabalhos com diversidade genética em peixes. Nabout (2014) discute que o surgimento de trabalhos multiautorais é mais evidente no campo da genética e da ecologia pelo fato da necessidade de conhecimentos interdisciplinares para o desenvolvimento do conhecimento científico. No entanto, os resultados aqui reunidos vão de encontro com os dados deste mesmo trabalho, (NABOUT, 2014) que argumenta que o aumento dos trabalhos multiautorais é devido ao aumento no número de citações. É importante lembrar, em relação às análises dos números de citações, que existe a preocupação crescente na comunidade científica com a prática de autocitação, que põe em cheque a adoção da frequência de citação como avaliação e mensuração da qualidade e fator de impacto do estudo (PASTERKAMP et al., 2007). Neste mesmo trabalho, Pasterkamp e colaboradores observam que a autocitação está associada ao grupo de pesquisa e seus trabalhos publicados. Segundo Carley (2012), a autocitação tem sido mais comum e prevalente em trabalhos que possui maior número de autores. Essa relação entre autores e número de autocitação sugere que

a colaboração é mais apta a possuir autocitação. No entanto, não se pode generalizar a relação de colaboração com autocitação.

Encontra-se uma relação considerada forte entre o número de citações em relação ao tempo de publicação, isto é, quantos anos se decorreram do ano de publicação até 2018 ( $R^2 = 0,45385$ ;  $R = -0,68$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 7).

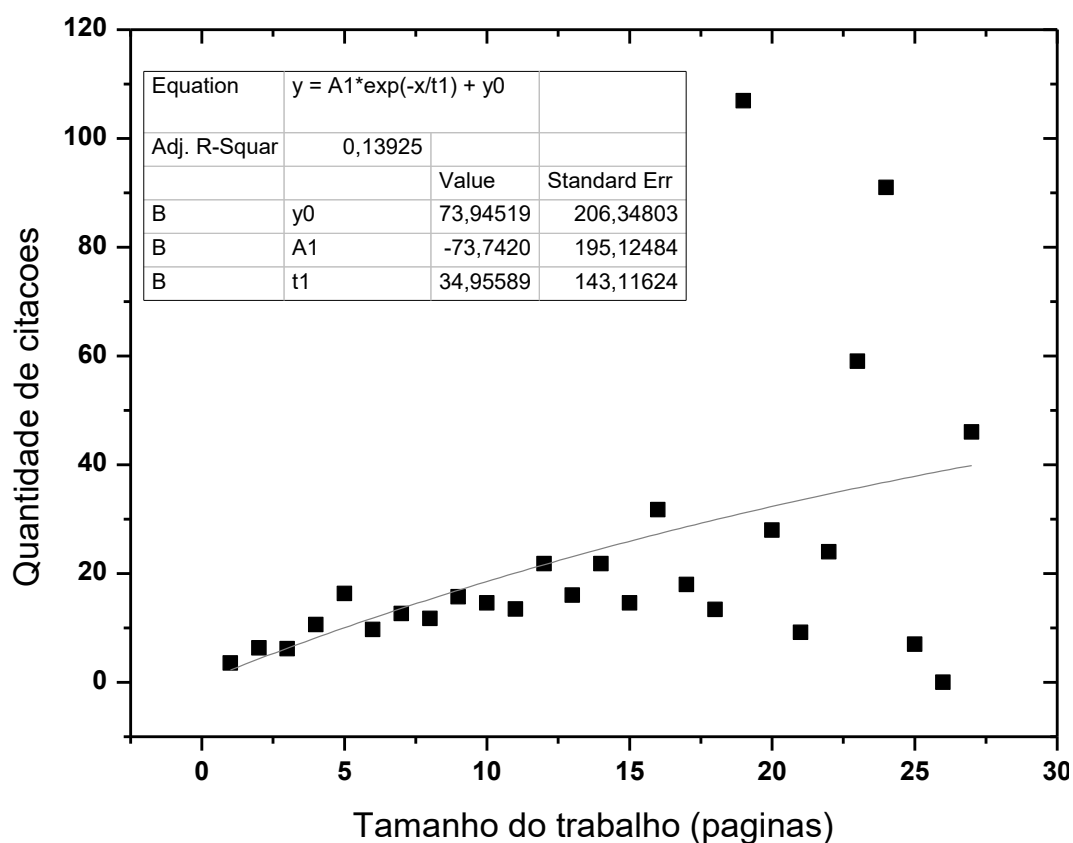


**Figura 7.** Relação da média de citação pelo tempo de disponibilidade do estudo no intervalo de 1992 a 2018.

Estes resultados corroboram os achados de Bouabid (2011), que discute modelos que preveem um comportamento dos artigos com muitas citações após os primeiros anos e o decaimento dessas citações ao longo dos anos, significando que quanto mais tempo ou quanto mais antigo o estudo, mais pessoas terão acesso e consequente mais citações, contrastando assim com Verbeek (2002) que alega que não existe relação entre citação e tempo de disponibilidade do trabalho.

Segundo Hayashi et al. (1999) publicações na área de ciências da natureza seguem um padrão, em que, artigos pequenos em quantidade de páginas são mais observados em jornais com alto fator de impacto. Indicando que estes artigos são bem aceito na comunidade científica e possuem mais citações. Em nossos dados, a respeito do tamanho do trabalho em número de páginas e a média de citação, encontrou-se uma relação moderada ( $R^2 = 0,13925$ ;  $R = 0,51$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 8), sugerindo que trabalhos mais longos, em número de páginas, alcançam número maior de citações. Contrapondo os dados de Hayashi (1999) para as publicações de ciências da natureza (dados

registrados pelo autor são correspondentes aos trabalhos no campo da Física, Bioquímica e Biotecnologia). No entanto, nossos dados seguem o mesmo padrão verificado para áreas do conhecimento julgadas como de ciências humanas (Economia e Sociologia) por Hayashi (1999). Estes podem ser explicados pelo próprio intervalo temporal, indagando que a preferência de escrita objetiva ou mais detalhada, pode ter sofrido alterações ao longo do tempo já que a maioria dos trabalhos registrados em nosso trabalho corresponde a janela de intervalo de 2000 a 2018, enquanto para Hayashi sua compilação compreende o período de 1994.



**Figura 8.** Relação da quantidade de páginas das publicações pela média de citação por trabalho.

Dentre os trabalhos encontrados, os que tiveram o maior número de citações estão organizados na Tabela III.

**Tabela III.** Artigos com o maior número de citações sobre diversidade genética em peixes com os marcadores Microsatélites, RAPD, ISSRs, SNPs e Aloenzimas entre 1992 – 2018.

Marcador	Periódico	Título	Autores	Ano	Citação
Aloenzimas	Journal of Fish Biology	A comparison of genetic diversity levels in marine, fresh-water, and anadromous fishes	Ward et al.	1994	691

Microssatélite	PNAS	Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper ( <i>Pagrus auratus</i> )	Hauser et al.	2002	291
RAPD	Human and Ecological Risk Assessment	Genetic variation in toxicant-stressed populations: An evaluation of the genetic erosion hypothesis	Van et al.	2002	122
SNPs	Molecular Ecology	Outlier SNP markers reveal fine-scale genetic structuring across European hake populations ( <i>Merluccius merluccius</i> )	Milano et al.	2014	64
ISSRs	Biochemical Systematics and Ecology	When physical oceanography meets population genetics: the case study of the genetic/evolutionary discontinuity in the endangered goliath grouper ( <i>Epinephelus itajara</i> ; Perciformes: Epinephelidae) with comments on the conservation of the species	Benevides et al.	2014	6

Nota-se que estes trabalhos possuem maior magnitude em esforço metodológico e discussão, como no trabalho de Ward et al (1994), que expõem dados genéticos de 113 espécies de organismos dentro de várias subpopulações, enquanto Hauser et al (2002) apresenta dados genéticos de organismos que foram coletados entre 1950 a 1986 e Van Straalen e Timmermans (2002) que trazem ampla discussão sobre biodiversidade, genética e poluição. Estes trabalhos com ampla abordagem metodológica e discussões abrangentes têm grande importância dentro da área de estudo e isso justifica o grande número de citações. Ressalta-se que uma possível relação do número de citação ao tamanho do trabalho está no fatiamento dos resultados em estudos menores, perdendo importância e relevância de impacto.

Como discutido acima, o crescimento das publicações pode ser por vezes atribuído ao fatiamento das publicações (*Salami science*), prática que pode ameaçar a ética e desenvolvimento científico (SMOLCIC, 2013). A maior evidência da preocupação científica com este exercício foi abordada pelo corpo editorial da revista “*Nature*” que publicou um documento intitulado “*The cost of Salami slicing*” no qual afirma que o aumento do número de artigos científicos e o número de periódicos existentes, é um sinal positivo do estado saudável geral da pesquisa. Entretanto, o custo crescente desse crescimento tanto financeiro quanto em termos de carga fica oneroso para quem fiscaliza e regulamenta, levando a uma crise que ameaça a sustentabilidade



da publicação científica, sendo que essa situação se agrava com a prática de fragmentar as publicações (NMAT, 2005). Smolcic (2013) sugere que para evitar a prática de *Salami science* recomenda-se que ocorra apenas uma única publicação do conhecimento produzido ao longo de uma pesquisa, desde que essa publicação englobe o processo de pesquisa como o levantamento de hipóteses, coletas de dados, estes logo não podem ser reproduzidos em outras publicações, desde que não ocorra o surgimento de novas hipóteses, assim podendo enfatizar o conhecimento aderido em uma nova publicação e não repetir os dados. No entanto, não se pode universalizar a relação de trabalhos pequenos com *Salami science*, já que existem excelentes trabalhos que são apresentados de maneira sintética como os trabalhos de Chapman et al., (2007) que confirma um registro de partenogênese inédito em uma espécie de tubarão *Sphyrna tiburo* com dados genéticos, Hoelzel et al., (2006) que descreve o status de conservação genética da espécie *Cetorhinus maximus*, mostrando que notas e comunicações rápidas são tão importantes quanto trabalhos completos em periódicos.

Desse modo, ao utilizar a cienciometria para a verificação da alocação de recursos e mão de obra, observa-se que o cenário das publicações com o tema diversidade genética em peixes é de relevância, e que tende a gerar muitas discussões e melhorias para a aplicabilidade deste em meio social. Nota-se que este tema é de extrema importância para países desenvolvidos como discutido acima, mas, em termos de ciência nacional, também é de extrema relevância, seja abordando o aspecto científico, contribuindo com artigos e conhecimento de base, seja pelo aspecto econômico, uma vez que o Brasil tem alto potencial para a produção de peixes.

Diante do panorama levantado no presente trabalho, o esperado é que os marcadores Microsatélites continuem sendo muito utilizados ao longo do tempo, pelo fato deste marcador possuir vantagens como a alta capacidade de detectar polimorfismos, fácil reprodução de dados e de conseguir responder perguntas importantes nas populações naturais, como a organização da estrutura gênica de uma população e sua variabilidade. Estas perguntas básicas e pertinentes são aplicáveis tanto para populações naturais quanto em cativeiro, propiciando o manejo adequado para a viabilidade populacional e seleção de indivíduos que possam contribuir para o aumento da variação em demais populações.

Apesar de serem encontrados números reduzidos de publicações com os marcadores SNPs, é recomendável, diante dos dados aqui mostrados, que este marcador se torne mais popular. Ressalta-se que este marcador tem um potencial para que seja associado características fenotípicas complexas e loci candidatos a seleção como discutido por Vignal (2002) que diz que o marcador SNPs pode superar os Microsatélites nesta abordagem. Assim, espera-se propiciar importantes informações para o melhoramento genético da ictiofauna.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

No presente trabalho foi possível observar crescimento das publicações ao longo do tempo. Este crescimento era esperado por diferentes motivos, dentre os quais destacam-se o crescimento do conhecimento científico *per se*, observado em diversas

áreas do conhecimento, e também pelo crescente interesse no melhoramento genético de peixes, pelo fato deste conhecimento propiciar soluções de conservação e produção alimentícia.

Analisando os tipos de marcadores moleculares, a predominância de estudos com os Microsatélites foi observada neste estudo, correspondendo assim com as expectativas esperadas na literatura. Nota-se que a escolha da técnica, ou seja, o marcador molecular utilizado nos estudos depende de fatores de viabilidade de custo e benefício como a especificidade do problema em estudo. Para este recorte temporal os microsatélites demonstram ser viáveis para estudos em diversidade genética em peixes, uma vez que apresentam características desejáveis para esse tipo de estudo, como sua natureza codominante e multialélica, bem como o fato de serem altamente polimórficos e, por isso permitem discriminações precisas entre indivíduos altamente relacionados.

É notória a participação de países desenvolvidos como os Estados Unidos, Portugal e Espanha nas publicações com o tema diversidade genética em peixes, isso evidencia a preocupação deste tema pela comunidade científica global. Neste contexto, os marcadores moleculares possuem uma preferência que pode ser explicada pela origem dos recursos financeiros a pesquisa de cada país.

A respeito do perfil das publicações em relação ao número de citações, não se encontrou uma preferência ou tendência de citação, em relação a quantidade de autores por trabalho, não correspondendo com as expectativas da literatura sobre o tema. Por outro lado, o número de citação é condizente com o tempo de disponibilidade do estudo a comunidade científica, e trabalhos que trazem mais informações e discussões mais amplas são mais citados. Esse perfil das citações é importante para entender como um trabalho pode impactar e ser aceito pela comunidade científica.

Em conclusão, a frequência de citações se mostrou um importante instrumento para avaliar o perfil dos trabalhos com este tema sobre a comunidade científica. Na qual, salienta-se que existe um padrão importante para subsidiar novos trabalhos, este sendo a qualidade e a exposição da informação, em que a magnitude em esforço metodológico e discussão são características comuns a trabalhos mais extensos, estes sendo de preferência da comunidade científica.

## REFERÊNCIAS

ABDUL-MUNNER, P. M. Application of Microsatellite Markers in conservation Genetics and Fisheries Management: Recent Advances in Population Structure Analysis and Conservation Strategies. **Hindawi Publishing Corporation Genetics Research International**, v. 2014, p. 1-11. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/691759>

AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservation of the Biodiversity of Brazil's Inland Waters. **Conservation Biology**, Boston, v. 19, n. 3, p.646-652. 2005.

ALLENDORF, F. W.; BERRY, O.; RYMAN, N. So long to genetic diversity, and thanks for all fish. **Molecular Ecology**, v.23, p.23-25. 2014.

ANDRADE, V. M; SILVA, J; SILVA, F. R; HEUSER, V. D; DIAS, J. F; YONEAMA, M. L; FREITAS, T. R. O. Fish as Bioindicators to Assess the Effects of Pollution in Two Southern Brazilian Rivers Using the Comet Assay and Micronucleus Test. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 44, n. 5, p.459-68. 2004. DOI:10.1002/em.20070

BALLOUX, F. & MOULIN-LUGON, N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 2, p. 155-165. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01436.x>

BARRERO, N. M. L.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, L.; POVH, J. AP.; GOMES, P. C.; MANGOLIN, C. A.; BOSO, K. M. O.; GUALDA, T. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE ESTOQUES DE *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes: Prochilodontidae), UTILIZADOS EM PROGRAMAS DE REPOVOAMENTO: IMPORTÂNCIA PARA A CONSERVAÇÃO DA ICTIOFAUNA E DO ECOSSITEMA. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 4, p. 46-93. 2008.

BARTLETT, J. M. S.; STIRLING D. A Short History of the Polymerase Chain Reaction. In: Bartlett J.M.S.; Stirling D. (eds) PCR protocols. **Methods in Molecular Biology**, v. 226, Humana Press. 2003. DOI: 10.1385/1-59259-384-4:3

BOGONI, J. A.; ARMILIATO, N.; ARALDI-FAVASSA, C. T.; TECHIO, V. H. Genotoxicity in *Astyanax bimaculatus* (Twospot *Astyanax*) Exposed to the Waters of Engano River (Brazil) as Determined by Micronucleus Test in Erythrocytes. **Archive of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 66, p. 441-449. 2014. DOI: 10.1007/s00244-013-9990-5

BOHANNON, J. Hate Journal impact factors? New study gives you one more reason. Scientific Community Technology, **Science**, 2016. DOI:10.1126/science.aag0643, link acessado em 06/05/2016 <<http://www.sciencemag.org/news/2016/07/hate-journal-impact-factors-new-study-gives-you-one-more-reason>>

BORGES, P. P.; OLIVEIRA, K. A. F. A.; MACHADO, K. B.; VAS, U. L.; CUNHA, H. F.; NABOUT, J. C., Trends and gaps of the scientific literature on the Cerrado biome: A scientometric analysis. **Neotropical Biology and Conservation**. V. 10, n. 1, p. 2-8. 2015. <http://dx.doi: 10.4013/nbc.2015.101.01>

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p. 314-331. 1980. DOI: 0002-9297/80/3203-0013\$01.58

BOUABID, H. Revisiting citation aging: a model for citation distribution and life-cycle prediction, **Scientometrics**, v.88, p.199-211. 2011.

BROCK, T. D.; FREEZE, H. *Thermus aquaticus* gen. n. and sp., a Non-sporulating Extreme Thermophile, **Journal of Bacteriology**, v.98, n.1, p. 289-297. 1969

BRUMFIELD, R. T.; BEERLI, P.; NICKERSON, D. A.; EDWARDS, S. V. The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. **TRENDS in**

**Ecology and Evolution**, v. 18, n. 5, p. 249-256. 2003. DOI: 10.1016/S0169-5347(03)00018-1

CALLAWAY, E. Publishing elite turns against impact factor. **Nature**, v. 535, p. 210-211. 2016

CAMPOS, F. S. Diversity patterns, research trends and mismatches of the investigative efforts to amphibian conservation in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.86, n.4, p.1873-1886. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420140170>

CARLEY, S.; PORTER, A. L.; YOUTIE, J. Toward a more precise definition of self-citation. **Scientometrics**, v. 94, p.777-780. 2013. DOI 10.1007/s11192-012-0745-2

CARVALHO, M. C. C. G.; SILVA, D. C. G. Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica de plantas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 735-744. 2010.

CHAPMAN, D. D.; SHIVJI, M. S.; LOUIS, E. SOMMER, J.; FLETCHER, H. PRODÖHL, P. A. Virgin birth in a hammerhead shark. **Biology Letters**, v. 3, p. 425-427. 2007. DOI: 10.1098/rsbl.2007.0189

COSTA, P. C. S.; RODRIGUES, D. P.; APARECIDO-MATOSO, D. Monitoring of genetic variability in *Colossoma macropomum* by using microsatellite markers. **Academia Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 269-275, 2016.

COX, D.; BOILLOT, C.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Analytical Biochemistry**, v. 162, p. 156-159. 1987

DUFRESNE, F.; STIFT, M.; VERGILINO, R.; MABLE, B. Recent progress and challenges in population genetics of polyploid organisms: an overview of current state-of-the-art molecular and statistical tools. **Molecular Ecology**, v. 23, p. 40-69, 2014.

ELLEGREN, H.; GALTIER, N. Determinants of genetic diversity. **Nature Review: Genetics**, p. 1-12. 2016. doi:10.1038/nrg.2016.58

ESCOBAR, M. D.; ANDRADE-LÓPEZ, J; FARIAS, I. P.; HRBEK, T. Delimiting evolutionarily significant units of the fish, *Piaractus brachypomus* (Characiformes: Serrasalminidae), from the Orinoco and Amazon River Basins with Insight on Routes of Historical Connectivity. **Journal of Heredity**, v. 106, p. 428-438, 2015.

FALAGAS, M. E.; PITSOUNI, E. I.; MALIETZIS, G. A.; PAPPAS, G. Comparison of PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar: strengths and weaknesses. **The FASEB Journal. Life Sciences Forum**, v. 22. 2008. DOI: 10.1096/fj.07-9492LSF

FALEIRO, F. G. Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos. **Planaltina: Embrapa Cerrados**, 2007.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all. **Rome**, p. 200. 2016.

- FERGUSON, M. M.; DANZMANN, R. G. "Role of genetic markers in fisheries and aquaculture: useful tools or stamp collecting?" **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, vol. 55, n. 7, p. 1553–1563, 1998.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília DF: **EmbrapaCenargen**, p. 220, 1998.
- FERREIRA, T. F.; SOUZA-CHIES, T. T. Genetic diversity among *Paspalum* L species (Poaceae) belonging to Notata and Linearia groups based on restriction fragment length polymorphism analyses. **Genetica**, v. 125, p. 133-140. 2005.
- FRANKHAM, R. Genetics and conservation biology. **Comptes Rendus: Biologies**, v. 326, n. 1, pp. S22–S29, 2003.
- FRITSCH, P.; RIESEBERG, L. H. High outcrossing rates maintain male and hermaphrodite individuals in populations of the flowering plant *Datisca glomerata*. **Nature**, v. 359, p. 633-636. 1992.
- GALETTI Jr, P. M. et al., Genética da conservação brasileira. p. 244-274. In: Fundamentos de Genética da Conservação. FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. Ribeirão Preto, SP, **Editora SBG**, p. 290. 2008.
- GJEDREM, T. Genetic improvement for the development of eficiente global aquaculture: A personal opinion review. **Aquaculture**, p. 344-349. 2012. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.03.003
- GOLDSTEIN, D. B.; POLLOCK, D. D. Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. **J Hered**, v. 88, p. 335-342. 1997.
- GROW, J. How much do we know about spontaneous human mutations rates? **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 21, p. 122-129. 1993.
- GU, Z.; HILLIER, L.; KWOK, P. Single nucleotide polymorphism hunting in cyberspace. **Human Mutation**, v. 12, p. 221-225. 1998.
- GUPTA, P. K. Molecular markers and their applications in wheat breeding. **Plant Breeding**, v. 118, p. 369-390. 1999.
- HARRIS, B. H. Genetics of man enzyme polymorphisms in man. **The Royal Society**, v.164, n.995, p.298-310. 1966.
- HASHIMOTO, D. T.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F.; FORESTI-PORTO, F. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v. 4, p. 108-118. 2012. DOI: 10.1111/j.1753-5131.2012.01067.x
- HAUSER, L.; ADCOCK, G. J.; SMITH, P. J.; BERNAL RAMIRES, J. H.; CARVALHO, G. R. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). **Proceedings of**

**the National Academic of Sciences**, v. 99, n. 18, p. 11742-11747. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.172242899>

HAYASHI, T.; FUJIGAKI, Y. Differences in knowledge production between disciplines based on analysis of paper styles and citation patterns. **Scientometrics**, v. 46, n. 1, p. 73-86, 1999.

HE, C.; CHEN, L.; SIMMONS, M.; LI, P.; KIM, S.; LIU, Z. J. Putative SNP Discovery in interspecific hybrids of catfish by comparative EST analysis. **Animal Genetics**, v. 34, p. 445-448. 2003.

HOELZEL, A. R.; SHIVJI, M.; MAGNUSSEN, J.; FRANCIS, M. P. Low worldwide genetic diversity in the basking shark (*Cetorhinus maximus*). **Biology Letters**, v. 2, p. 639-642. 2006. DOI: 10.1098/rsbl.2006.0513

HOLSINGER, K. E.; WEIR, B. S. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, p. 639-650, 2009.

HOOD, W. W.; WILSON, C. S. The literature of bibliometrics, scientometrics, and informetrics. **Scientometrics**, v. 52, n. 2, p. 291-314. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1017919924342>

HUBBY, J. L.; LEWONTIN, R. C. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, v.54, p.577-594. 1966.

HUGHES, A. R.; INOUE, B. D.; JOHNSON, M. T.; UNDERWOOD, N. VELLEND, M. Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v. 11, n. 6, p. 609-623. 2008. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x

IDREES, M.; IRSHAD, M. Molecular Markers in Plants for Analysis of Genetic Diversity: A Review. **European Academic Research**, v. 11, n. 1, p. 1513-1540. 2014.

INGWERSEN, P.; CHRISTENSEN, F. H. Data set isolation for bibliometric online analyses of research publications: fundamental methodological issues, *Journal of the American Society for Informations*. **Science**, v. 48, p. 205-217. 1997.

JALALIAN, M. The story of fake impact factor companies and how we detected them. **Electronic Physician**, v. 7, n. 2, p. 1069-1072. 2015. DOI: 10.14661/2015.1069-1072

JAPPE, A. Explaining international collaboration in global environmental change research. **Scientometrics**. v.71, n.3, p.367-390. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11192-007-1676-1>

KARASAWA, M. M. G.; VENCOSKY, R.; SILVA, C. M.; CARDIM, D. C.; BRESSAN, E. A.; OLIVEIRA, G. C. X.; VEASEY, E. A. Comparison of microsatellites and isozymes in genetic diversity studies of *Oryza glumaepatula* (Poaceae) populations. **Revista de Biologia Tropical**, v. 60, n. 4, p. 1463-1478. 2012.

KIM, S.; MISRA, A. SNP Genotyping Technologies and Biomedical Applications. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 9, p.289-320. 2007. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.9.060906.152037

KIM, S.; MISRA, A. SNP Genotyping Technologies and Biomedical Applications. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 9, p. 289-320. 2007. Doi: 10.1146/annurev.bioeng.9.060906.152037

ONUR, O. The scientometric evaluation of the research on the algae and bioenergy. **Applied Energy**, v.88, p.3532-3540. 2011. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.12.059

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; LEMOS-FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. A técnica de RAPD: Uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. **Lundiana**, v. 3, n. 2, p. 87-92. 2002.

LARSEN, P. O.; von INS, M. The rate of growth in scientific publication and the decline in coverage provided by Science Citation Index. **Scientometrics**, v. 84, p. 575-603. 2010. DOI: 10.1007/s11192-010-0202-z.

LEACHÉ, A. D.; OAKS, J. R. The utility of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Data in Phylogenetics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 48, p.69-84. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022645>

LEACHÉ, A. D.; OAKS, J. R. The utility of single nucleotide polymorphism (SNP) data in phylogenetics. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**, v. 48, p.69-84. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022645>

LEWONTIN, R. C.; HUBBY, J. L. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, v. 54, p. 595-609. 1966.

LI, Y.; KOROL, A. B.; FAHIMA, T.; NEVO, E. Microsatellites Within Genes: Structure, Function, and Evolution. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 6, p. 991-1007. 2004. DOI: 10.1093/molbev/msh073

LIMA-RIBEIRO, M. S.; NABOUT, J. C.; PINTO, M. P.; MOURA, L. O.; MELO, T. L.; COSTA, S. S.; RANGEL, T. F. L. V. B., Análise cienciométrica em ecologia de populações importância e tendências dos últimos 60 anos. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 39-47. 2007. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v29i1.125

LITT, M; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **The American journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p.397-401. 1989.

MACARTHER, R.; WILSON, E. O. The theory of island. Biogeography. Princeton, N. J: **Princeton University Press**. 1967.

- MACIAS-CHAPULA, C. A. O papel da informetria e da cienciométrica e sua perspectiva nacional e internacional. **Ciência da Informação**, v. 27, n. 2, p. 134-140. 1998.
- MADESIS, P. GANOPOULOS, L. TSAFTARIS, A. Microsatellites: Evolution and Contribution. In: KANTARTZI, S. K. (ed.), **Microsatellites: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology**, vol. 1006. 2013. DOI: 10.1007/978-1-62703-389-3\_1
- MARCIONILIO, S. M. L. et al. The estate of global scientific literature on chlorophyll-a. **Bioscience Journal**, v.31, p.941-950. 2015.
- MARGULIES, M., et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactor. **Nature**, v. 437, n.7057, p. 376-380. 2005.
- MARKET, C. L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: Tissue ontogenetic, and species specific patterns. **BIOCHEMISTRY**, v.45, p.753-764. 1959.
- MEEÛS, T. Revisiting  $F_{is}$ ,  $F_{st}$ , Wahlund effects and null alleles. **Journal of heredity**, v.109, n. 4, p. 446-456. 2017. Doi: 10.1093/jhered/esx106
- MILACH, S. C. K. Mapeamento molecular de características de importância agrônômica. In: S. C. K. Milach (ed) Marcadores Moleculares em Plantas. Porto Alegre, UFRGS, p. 67-73, 1998.
- MILANO I. et al., Outlier SNP markers reveal fine-scale genetic structuring across Europe hake populations (*Merluccius merluccius*). **Molecular Ecology**, v. 23, p. 118-135. 2014. Doi: 10.1111/mec.12568
- MOLECULARECOLOGY. MOLECULAR ECOLOGY, v. 22, n. 19, outubro de 2013. Disponível em <  
[https://onlinelibrary.wiley.com/pbassets/assets/1365294x/MolecularEcology\\_22i19.pdf](https://onlinelibrary.wiley.com/pbassets/assets/1365294x/MolecularEcology_22i19.pdf)  
 > acessado em 23 de maio de 2018.
- MORIN, P. A.; LUIKART, G.; WAYNE, R. K. SNP Workshop Group. SNPs in ecology, evolution and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 19, 208-16. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.01.009>
- MOYA-ANEGÓN, F. M.; CHINCHILLA-RODRIGUEZ, Z.; VARGAS-QUESADA, B. et al. Coverage analysis of Scopus: A journal metric approach. **Scientometrics**, v. 73, n. 1, p. 53-78. 2007. DOI: 10.1007/s11192-007-1681-4
- MULLIS K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a Polymerase-Catalyzed chain reaction, **Methods in Enzymology**, v.155, p.335-350. 1987
- MURPHY, R. W.; SITES, J. W.; BUTH, D.G.; HAUFLE, C. H. H. Proteins I: isozyme electrophoresis. In: Hillis, D. M.; Moritz, C. **Molecular Systematics**. (eds). Sinauer Associates, Sunderland MA, p. 45-126. 1990.
- NABOUT, J. C. et al. Publish (in a group) or perish (alone): the trend from single to multi-authorship in biological papers. **Scientometrics**, v. 102, p. 357-364. 2014.



NABOUT, J. C., CARVALHO, P., UEHARA-PRADO, M., BORGES, P. P., MACHADO, K. B., HADDAD, K. B., et al., Trends and Biases in global climate change literature. **Natureza & Conservação**, v. 10, n. 1, p. 45-51. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4322/natcon.2012.008>

NABOUT, J. C.; CARNEIRO, F. M.; BORGES, P. P.; MACHADO, K. B.; HUSZAR, V. L. M., Brazilian scientific production on phytoplankton studies: national determinants and international comparisons. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 1, p. 216-223. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.11713>

NADEEM, M. A. et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, p. 1-25. 2017. Doi: 10.1080/13102818.2017.1400401

NADEEM, M. A., et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 32, n. 2, p. 261-285. 2017. DOI: 10.1080/13102818.2017.1400401

NAN MA,; GHUAN, J. Na exploratory study on collaboration profiles of Chinese publication in Molecular Biology. **Scientometrics**, v. 65, n.3, p. 343-335, 2005.

NALIMOV, V. V.; MULCHENKO, Z. M. Eshche raz k voprosu o kontseptsii eksponentsial'nogo rosta. **Nauchno-Tekhnicheskaya Infomatsiya**, v. 2, n. 8, p. 12-14. 1969.

NEI, M. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 70, n. 12, 1973.

NGUYEN, N. H. Genetic improvement for importante farmed aquaculture species with a refence to carp, tilapia and prawns in Asia: achievements, lessons and challenges. **Fish and Fisheries**, v. 17, p. 483-506. 2016. DOI: 10.1111/faf.12122

NMAT. The cost of salami slicing. **Nature materials**, v. 4, n.1, p. 1. 2005 Disponivel em<<http://www.publications.parliament.uk/pa/cm200304/cmselect/cmsctech/399/399pd> f> acessado em 19 de maio de 2018.

ORTEGA, J. L.; AGUILLO, I. F. Describing national science and technology systems through a multivariate approach: country participation in the 6th Framework Programmes. **Scientometrics**. v.84, p.321-330. 2010.

PANTALEÃO, S. M; ALCÂNTARA, J. P. H; SPANÓ, M. A. c. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, Wiley-Liss, v. 47, p. 219-224. 2006.

PASTERKAMP, G.; ROMANS, J. I.; KLEIN, V. P.; BORST, C. Citation frequency: A biased measure of research impact significantly influenced by the geographical origin of research articles. **Scientometrics**, v. 70, n. 1, p. 153-165. 2007

PAULING, L.; HARVEY, A. I.; SINGER, S. J.; WELLS, I. C. "Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease". **Science**, v. 110, n.2865, p. 543-548. 1949.

PAVAN, M. G.; MONTEIRO, F. A. Técnicas moleculares aplicadas à sistemática e ao controle vetorial. In: GALVÃO, C., org. Vetores da doença de chagas no Brasil [online], **Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia**, p. 241-260. 2014.

PETER, B. M. Admixture, Population Structure and F-statistics. **Genetics**, v. 202, n. 4, p. 1485-1501, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1534/genetics.115.183913>

PICOULT-NEWBERG, L.; IDEKER, T. E.; POHL, M. G. TAYLOR, S. L. DONALDSON, M. A.; NICKERSON, D. A.; BOYCE-JACINO. Mining SNPs from EST databases. **Genome Research**, v. 9, p. 167-174. 1999.

PINSKY, M. L.; PALUMBI, S. R. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations. **Molecular Ecology**, v. 23, p. 29-39. 2014.

PLOS MEDICINE. The impact factor game. **Plos Medicine**, v. 3, n. 6, p. 707-708. 2006.

REDDY, N. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, 0. 9-17. 2002.

REINACH, R. Darwin e a prática da “Salami Science”. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.12, p. 402-403. 2013. Acessado em 15/05/2018 <<https://portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/9318/6777>>

REISENBICHLER, R. R.; RUBIN, S. P. Genetic changes from artificial propagation of Pacific salmon affect the productivity and viability of supplemented populations. **Journal of Marine Science**, v. 56, p. 459-466. 1999. Doi: 1054-3139/99/040459+08 \$30.00/0

RONAGHI, M. et al. A sequencing method based on real-time pyrophosphate. **Science**, v. 281, p. 363-365. 1998. doi: 10.1126/science.281.5375.363.

RUIZ, M. A.; GRECO, O. R.; BRAILE, D. N. Fator de impacto: importância e influencia no meio editorial, acadêmico e científico. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc**, v. 24, n. 3, p. 273-278, 2009.

RYMAN, N. Conservation genetics considerations in fishery management. **Journal of Fish Biology** v. 39, p.211-224. 1991. Doi: 0022 1112~91~39A211+ 14%03.00/0

RYMAN, N.; UTTER, F.; LAIKRE, L. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.5, p.417-446, 1995.

SAIKI, R. K. et al., Enzymatic Amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis fo diagnosis of sickle cell anemia, **Science**, v.230, p.1350-1354. 1985.

SAIKI, R. K. et al., Primer-Directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v.239, p.487-491, 1987.

SALLES, J. B; LOPES, M. L; SALLES, C. M. C; CASSANO, V. P. F; OLIVEIRA, M. M; BASTOS, V. L. F; BASTOS J. C. Bioconcentration and Acute Intoxication of

Brazilian Freshwater Fishes by the Methyl Parathion Organophosphate Pesticide. **BioMed Research International**. v. 2015, p.1-9, 2015. doi: 10.1155/2015/197196.

SANGER, F.; COULSON, A. D. A Rapid Method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. **J. Mol. Biol.** V.94, p.441-448, 1975.

SANTOS, C. H. A.; SANTANA, G. X.; SÁ LEITÃO, C. S.; PAULA-SILVA, M. N.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. Loss of genetic diversity in farmed populations of colossoma macropomum estimated by microsatellites. **Animal Genetics**, v. 47, p. 373-376, 2016.

SANTOS, R. N. M. Produção científica: Por que medir? O que medir? **Revista Digital de Biblioteconomia e Ciência da Informação**, v. 1, n. 1, p. 22-38, 2003.

SAROGLIA, M.; LIU, Z. Functional Genomics in Aquaculture. Word **Aquaculture Society**, Ed. John Wiley & Sons 2012, p. 416, 2012.

SCHLÖOTTERER, C. The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? **Nature Reviews Genetics**, v.5, jan, p.64-69, 2004.

SCHLÖTTER, C.; PEMBERTON, J. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations – a critical review. In: SCHERWATER, R. D. B.; (ed) **Molecular Approaches to Ecology and Evolution**, 1998.

SCHUSTER, S. C. Next-generation sequencing transforms today's biology. **Nature**, v. 200, n. 8, p. 16-18, 2008.

SEGLEN, P. O. Citation rates and journal impact factors are not suitable for evaluation of research. **Acta Orthop Scand**, v.69, p.224-229, 1998.

SEGLEN, P. Why the impact factor of journals should not be used for evaluating research. **BMJ**, v. 314, p. 494-502, 1997.

SILVA, V. S; DIAS, A. H. C; DUTRA, E. S; PAVANIN, A. L; MORELLI, S; PEREIRA, B. B. The impact of water pollution on fish species in southeast region of Goiás, Brazil. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 79, n. 1, p.8-16, 2015. doi: 10.1080/15287394.2015.1099484.

SILVA, E. P.; RUSSO, C. A. M. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. **Hydrobiologia** v.420, p.119-135, 2000.

SMITH LM, SANDERS JZ, KAISER RJ, et al. "Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis". **Nature**, v. 321, n. 6071, p. 674–9, 1986.

SMITH LM; FUNG S; HUNKAPILLER MW; HUNKAPILLER TJ; Hood LE. "The synthesis of oligonucleotides containing an aliphatic amino group at the 5' terminus: synthesis of fluorescent DNA primers for use in DNA sequence analysis". **Nucleic Acids Research** v. 13, n. 7, p. 2399–412, 1985.

SMOLCIC, V. S. Salami publication: definitions and examples. **Biochemia Medica**, v. 23, n. 3, p. 137-141, 2013. Doi: <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2013.030>

STERN, K. G. The moving boundary method for studying electrophoresis. **Annals of the New York academy of sciences**, v. 39, n. 1, p. 147-186, 1939. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1939.tb55374.x>

TAUTZ, D.; RENZ, M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 12, p. 4127-4138, 1984.

TEMPLETON, A. R. Population genetics and microevolutionary theory. **John Wiley & Sons**, p. 705, 2006. Doi: 10.1002/0470047356

THOMAS, P. E.; KLINGER, R.; FURLONG, L. I.; HOFMANN-APITIUS, M.; FRIEDRICH, C. M. Challenges in the association of human single nucleotide polymorphism mentions with unique database identifiers. **BMC Bioinformatics**, v.12, p. 1-18, 2011. Doi: <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/12/S4/S4>

TIDWELL, J.; ALLAN, G. L. Fish as food: aquaculture's contribution. **EMBO reports**, v. 21, n. 11, p.958-963, 2001. doi: 10.1098/rsbl.2006.0513

TÓTH, G.; GÁSPÁRI, Z.; JURKA, J. Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. **Genome Research**, v. 10, p.967-981, 2000.

VAN-STRAALEN, N. M.; TIMMERSMANS, M. J. T. N. Genetic variation in toxicant-stressed populations: An evaluation of the "Genetic Erosion" hypothesis. **Human and Ecological Risk Assessment: An international Journal**, v. 8, n. 5, p. 983-1002, 2002.

VAN STRAALEN, N. M. TIMMERMANS, M. J. T. N. Genetic variation in toxicant-stressed populations: An evaluation of the "Genetic Erosion" hypothesis. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 8, n. 5, p. 985-1002, 2002. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/1080-700291905783>

VANTI, N. A. P. Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir registro da informação e a difusão para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. **Ciência da Informação**, v. 31, n. 2, p. 152-162, 2002.

VERBEEK, A.; DEVACKERE, K.; LUWEL, M.; ZIMMERMANN, E. Measuring progress and evolution in science and technology – I: The multiple uses of bibliometric indicators. **International Journal of Management Reviews**, v.4, p.179-211, 2002.

VIAJAYAN, K. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and Its Application in Mulberry Genome Analysis. **In. J. Indust. Entomol**, v. 10, n. 2, p. 70-86, 2005.

FERNANDEZ, M. V.; MALTAGLIA, F.; PANNCIULLI, ROLDÁN, M. I. Analysis of genetic variability in *Aristaomorpha foleacea* (crustácea, aristeidae) using DNA-ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) markers. **Comptes Rendus Biologies**, v. 10, p. 705-712, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.crv.2011.07.005>

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 3, p. 275-305, 2002. <10.1051/gse:2002009>. <hal-00894413>

VIJAYAN, K. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and Its application in Mulberry Genome Analysis. **Int. J. Indust. Entomol** v. 10, n.2, p. 70-86, 2005.

VRIJENHOEK, R. C. Conservation genetics of freshwater fish. **Journal of Fish Biology**, v. 53, p. 394-412, 1998. Doi: 0022-1112/98/53A394+19 \$30.00/0

WALL, S. The history of electrokinetic, phenomena, **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.15, p.119-124, 2010.

WARD, R. D.; WOODWARK, M.; SKIBINSKI, D. O. F. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 44, n. 2, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb01200.x>

WER, B. S. Estimating F-statistics: A historical view. **Philos Sci**, v. 79, n. 5, p. 637-643. 2012. Doi: 10.1086/667904.

WHITE, H. D.; MACCAIN, K. W. Bibliometrics, In: WILLIAN, M. E. (ed) Annual Review of Information Science and Tecnology. v. 24, **Elsevier Science Publishers B. V. for the American Society for Science, Amsterdam**, The Netherlands, p. 119-186. 1989.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.

WILSON, C. S. Informetrics. In: M. E. Williams, (Ed), Annual Review of Information Science and Technology, v. 34, **Medford, NJ: Information Today, for the American Society for Information Science**, p. 3-143, 2001.

WOMMACK, K. E.; BHAVSAR, J.; RAVEL, J. Metagenomics: read length matters. **Applied and enviromental microbiology**, v. 74, p. 1453-1463, 2008.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann. Eugen**, v. 28, n. 1, p. 114-138, 1951.

XU, P. et al. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*. **Nature Genetics**, v. 46, n. 11, p. 1212, 2014. doi:10.1038/ng.3098