



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE FORMAÇÃO DE PROFESSORES
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

NATÁLIA DE SOUSA PEREIRA

**O CARIÓTIPO DE UMA POPULAÇÃO DE *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1758) COLETADA NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PIRANHAS – PB:
UMA ANÁLISE BIOGEOGRÁFICA**

CAJAZEIRAS-PB

2019

NATÁLIA DE SOUSA PEREIRA

**O CARIÓTIPO DE UMA POPULAÇÃO DE *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1758) COLETADA NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PIRANHAS – PB:
UMA ANÁLISE BIOGEOGRÁFICA**

Artigo científico apresentado à banca examinadora de TCC, como requisito parcial e obrigatório à obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

Orientador: Prof. Dr. Udson Santos

CAJAZEIRAS-PB

2019

NATÁLIA DE SOUSA PEREIRA

**O CARIÓTIPO DE UMA POPULAÇÃO DE *Astyanax bimaculatus* (LINNAEUS, 1758) COLETADA NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PIRANHAS – PB:
UMA ANÁLISE BIOGEOGRÁFICA**

Orientador: Prof. Dr. Uilson santos

TCC aprovado pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Uilson Santos – UFCG (orientador)



Prof. Dr. Paulo Roberto de Medeiros – UFCG (Membro avaliador externo)



Prof^ª. M^ª. Veruscka Pedrosa Barreto – UFCG (Membro avaliador externo)

Cajazeiras, 10 de Julho de 2019.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação - (CIP)
Josivan Coêlho dos Santos Vasconcelos - Bibliotecário CRB/15-764
Cajazeiras - Paraíba

P436c Pereira, Natália de Sousa.
O cariótipo de uma publicação de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) coletada na Bacia Hidrográfica do Rio Piranhas – PB: uma análise biogeográfica / Natália de Sousa Pereira. - Cajazeiras, 2019.
45f.
Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. Uudson Santos.
Artigo Científico (Licenciatura em Ciências Biológicas) UFCG/CFP, 2019.

1. Citogenética de peixes. 2. Filogeografia cariotípica. 3. Espécies crípticas. 4. Biogeografia. I. Santos, Uudson. II. Universidade Federal de Campina Grande. III. Centro de Formação de Professores. IV. Título.

UFCG/CFP/BS

CDU - 597.2/.5:575

À minha família e amigos, dedico!

AGRADECIMENTOS

Antes de começar a descrever os meus sentimentos aqui neste texto, gostaria de dizer apenas uma breve frase, que, acredito eu, seja necessária: deixem pra chorar depois que finalizarem de ler o texto. Enfim, não sou boa nisso, mas vamos lá.

Durante estes cinco anos de sobrevivência nessa indústria vital (vulgo UFCG), esta é a primeira vez que realmente eu enxergo a necessidade de expor o enorme carinho que sinto por àqueles que fizeram (e que ainda fazem parte) da minha formação acadêmica e da minha vida.

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da minha existência e por tudo o que ele tem me proporcionado.

Aos meus pais, Ágda Silvino de Sousa e José Wagner Pereira pelo amor, compreensão e dedicação a mim e ao meu futuro profissional.

Ao meu orientador, Professor Dr. Udson Santos pela paciência, orientação e gratidão por me confiar este trabalho e ao Lucas Caetano de Barros pelo tempo disponibilizado em registrar as fotografias necessárias para a realização do mesmo.

Ao meu meio irmão, José Stenio Gomes Batista pelo deslocamento da Universidade até o local da coleta por meio do seu transporte e ao senhor José Liomar Silva de Abreu pela disponibilidade de tempo para a pescaria dos peixes.

Ao secretário executivo da UACEN e AMIGO, Jefferson Marques pelo apoio (tanto acadêmico quanto emocional), pela confiança e acolhimento da sua parte para comigo, sempre me ajudando na tomada de decisões e fazendo da Unidade o melhor lugar do mundo para se estar.

A turma 2015.1, pelos vários momentos vividos, pelas “tretas”, pelas risadas e pelas vergonhas que passamos durante todo o curso.

A minha GALERINHA que fez destes cinco anos de sofrimento os melhores anos que um acadêmico pode ter, começando pelo meu amigo, Anderson Martins (meu Andin) pelo companheirismo, sinceridade e pelos vários “rolês” de moto que a gente já viveu (inclusive nos finais de semana, quando íamos comer pizza e passear pelo shopping). A Francicleide Duarte de Oliveira (Mocreide), umas das minhas primeiras amigas que conquistei assim que entrei por aquela porta da central de aulas e que continua até hoje, sempre me ouvindo e me dando conselhos nos momentos difíceis (p.s. virei cachaceira por tua culpa! kkkkkkk). A Anaine Batista Araruna (Pancadinha),

uma amiga que a monitoria me deu e que ganhou a responsabilidade de me suportar todos os dias, mesmo quando tenho os meus surtos semanais. Saiba que eu te considero demais, tá bom? (p.s.: você também é uma parceira sensacional pros “rolês” que envolve comida).

A Ariel Rodrigues Holanda, um ser tão dramático que até sinto saudades do tempo em que eu ficava com raiva por conta desse drama exagerado, porém foi uma das melhores pessoas que já conheci por conta da sua sinceridade e da sua preocupação para comigo (não pense que eu esqueci das vezes que você me deixou no “vácuo”, viu? Kkkkk). A Fernanda Tavares Feitosa, por me deixar construir entre a gente uma amizade verdadeira e sincera, além da sua hospitalidade em me receber tanto na sua casa quanto em sua vida (só uma observação: nunca mais me deixe te ajudar em nada quando eu estiver bêbada). A Alice Pereira Vieira, pessoa maravilhosa que tive a oportunidade de conhecer e de encontrar nas várias festas, além de ser minha companheira nas horas em que a gente se cansava e ia sentar nas calçadas (p.s.: você sabia que a ordem da espécie desse estudo é a mesma da piranha? Kkkk). Ao Flávio Sousa Souto (Lineuzin), pelas conversas e pelas dicas acadêmicas que me ajudaram bastante durante toda a jornada da graduação, e também pelos favores que têm me proporcionado quando eu sempre precisava (estou só esperando você voltar pra Cajazeiras pra gente tomar uma cerveja... kkkkkk).

Quero agradecer em especial também ao Gustavo Tavares de Abreu, que me ajudou nas coletas junto com o seu pai e que sempre cuidou do meu aquário nos momentos em que eu estava impossibilitada. E por fim, ao Pedro Antônio que também me prestava favores sempre que precisei.

Para finalizar, gostaria de dizer que amo todos vocês e que a gente continue sempre replicando nossa amizade, transcrevendo nossos sentimentos uns para os outros e traduzindo tudo isso em amor e união.

Obrigada a todos!

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 A-B: A. Localização da Bacia Hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, situada na Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Oriental. B. Mapa de alocação de água do Reservatório Engenheiro Ávidos no estado da Paraíba. Fonte: Agência Nacional de Águas (ANA), 2017.....	12
FIGURA 2: Peixe da espécie <i>Astyanax bimaculatus</i> , conhecido popularmente como lambari do rabo amarelo.....	13
FIGURA 3 A-B: A. Cariótipo obtido por coloração com Giemsa em células extraídas do rim anterior de fêmea de <i>Astyanax bimaculatus</i> coletada no Reservatório Engenheiro Ávidos, Bacia Hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, Cajazeiras - PB. B. Metáfase de espécime de <i>Astyanax bimaculatus</i> fêmea utilizada para a montagem do cariótipo apresentado na imagem A.....	16
FIGURA 4 A-B: A. Cariótipo obtido por coloração com Giemsa em células obtidas de um espécime macho de <i>Astyanax bimaculatus</i> coletado no Reservatório Engenheiro Ávidos, Bacia Hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, Cajazeiras - PB. B. Metáfase de macho de <i>Astyanax bimaculatus</i> utilizada para a montagem do cariótipo apresentado na imagem A.....	17
FIGURA 5: Mapa com as populações de <i>Astyanax bimaculatus</i> com cariótipo conhecido e locais de coleta.....	20

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Classificação dos cromossomos metafásicos de acordo com a razão entre o braço longo e o braço curto.....	15
TABELA 2: Coletas, número de indivíduos e suspensões celulares obtidas.....	15
TABELA 3: Populações de <i>Astyanax bimaculatus</i> com cariótipos conhecidos.....	18

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ANA – Agência Nacional de Águas

AESA – Agência Executiva de Gestão das Águas

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

CFP – Centro de Formação de Professores

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

UFV – Universidade Federal de Viçosa

SUMÁRIO

Introdução	10
Materiais e Métodos	11
Caracterização da área de estudo	11
Material Biológico.....	13
Procedimentos para coleta de dados citogenéticos	13
Indução do aumento da frequência mitótica nas células de defesa por meio da injeção de suspensão de levedura (Lee; Elder, 1980; Peres, 2009).	13
Preparação de cromossomos mitóticos obtidos das células do rim anterior através da técnica de preparação direta (Bertollo; Takahashi; Moreira-Filho, 1978; Peres, 2009).	13
Técnica “ <i>air drying</i> ”: preparação e coloração das lâminas (Bertollo <i>et al.</i> , 1978; Artoni; Vicari; Bertollo, 2000).	144
Montagem dos cariótipos.	15
Resultados	15
Discussão	18
Os cariótipos conhecidos para <i>Astyanax bimaculatus</i>	18
O componente Biogeográfico na diversidade cariotípica de <i>Astyanax bimaculatus</i> ..	20
A evolução cariotípica no gênero <i>Astyanax</i>	21
Considerações finais	22
Referências	22
ANEXOS	25
ANEXO A – Razões entre braços cromossômicos obtidas a partir de espécimes de <i>Astyanax bimaculatus</i> coletados no Açude Engenheiro Avidos	26
ANEXO B – Diretrizes para publicação de artigos na Revista Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza ¹	31

O Cariótipo de uma população de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) coletada na Bacia Hidrográfica do Rio Piranhas – PB: uma análise biogeográfica

Natália de Sousa Pereira¹ & Udson Santos¹

(1) Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Formação de Professores, Unidade Acadêmica de Ciências Exatas e da Natureza, Campus de Cajazeiras, Rua Sérgio Moreira de Figueiredo, s/n, Casas Populares, Cajazeiras, 58900-000, Paraíba, Brasil. E-mail: natysp020@gmail.com.

Resumo: Estudos citogenéticos realizados com a ictiofauna neotropical oportunizam informações importantes para compreender as modificações que ocorrem na evolução cariotípica das populações naturais. O objetivo desse trabalho foi caracterizar o cariótipo de uma população de peixe *Astyanax bimaculatus*, coletada na bacia hidrográfica do Rio Piranhas, em Cajazeiras – PB. Os animais foram sujeitos a análises citogenéticas após a indução do aumento da mitose nos tecidos hematopoiéticos. A preparação dos cromossomos metafásicos em lâmina foi realizada a partir da obtenção das células do rim anterior, através da técnica de preparação direta: “air drying”. Na sequência, as lâminas foram coradas por Giemsa, as metáfases encontradas fotografadas e a montagem dos cariótipos realizada de acordo com a classificação: metacêntrico, submetacêntrico, subtlocêntrico e telocêntrico. O cariótipo da população em estudo é constituído por 03 pares de cromossomos metacêntricos, 10 pares submetacêntricos, 09 pares subtlocêntricos e 03 pares telocêntricos. A fórmula cariotípica $6m+20sm+18st+6t$ foi semelhante à registrada por Cunha (2014), em populações coletadas nas bacias hidrográficas do sudeste do Brasil. Ao analisar os cariótipos descritos para outras populações desta espécie foi possível notar um componente biogeográfico na distribuição dos diferentes cariótipos. Desta forma, sugerimos que a realização de estudos nas demais bacias hidrográficas do Brasil pode fornecer maiores evidências para entendermos a história filogeográfica desta espécie.

Palavras-chave: citogenética de peixes, filogeografia cariotípica, espécies crípticas, biogeografia.

The Karyotype of *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) populations collected in the Piranhas River Basin – PB: a biogeographic analysis

Abstract: Cytogenetic studies within Neotropical ichthyofauna has been improving our knowledge about evolutionary changes occurring in the karyotype of species in natural conditions. This paper aims to characterize the karyotype of *Astyanax bimaculatus* fish population, collected in the Piranhas River basin, located in the municipality of Cajazeiras - PB. All animals were subjected to cytogenetic analysis after mitosis increase in hematopoietic tissues. The metaphasic chromosomes preparation were performed by "air drying" technique of cells from kidney. Afterwards slides were stained by Giemsa and metaphasic chromosomes were assembly according to the metacentric, submetacentric, subtlocentric and telocentric classification. The karyotype collected in the Piranhas River basin was performed by 06 metacentric, 20 submetacentric, 18 subtlocentric and 06 telocentric chromosomes ($6m+20sm+18st+6t$). This karyotype was similar to that recorded by Cunha (2014) in southeastern Brazilian watersheds. Addicting, our bibliographic review of karyotypes described for other

Astyanax bimaculatus populations indicated a biogeographic component in the karyotypes distribution. Thus, it is suggested additional studies within another Brazilian river basins may provide more evidence to ours understand about the phylogeographic history of this species.

Keywords: Cytogenetics of fish, karyotype phylogeography, cryptic species, biogeography.

Introdução

Os peixes constituem o grupo de vertebrados mais antigo e com maior número de espécies registradas, sendo que 43% destes animais habitam águas tropicais. (Nelson *et al.* 2016, *apud* Campus, 2018). Ecologicamente, os peixes proporcionam o equilíbrio dos sistemas naturais e contribuem para a manutenção dos ecossistemas, consistindo dessa forma em eficazes bioindicadores de poluição e excelentes modelos para estudos evolutivos (Accioly & Molina, 2007).

A ordem Characiformes apresenta o maior número de peixes conhecidos, constituídas por 24 famílias e 520 gêneros, abrigando cerca de 2.300 espécies válidas distribuídas na região neotropical (Nelson *et al.* 2016 *apud* Campus, 2018). Neste grupo, estão presentes os peixes com o corpo recoberto por escamas cicloides e com nadadeiras pélvicas em posição abdominal (Baumgartner *et al.*, 2012). Esta ordem exhibe uma especialização ecológica bastante diversificada, ilustrada na enorme variedade de formas, tamanhos e hábitos alimentares (Gery 1977, *apud* Mota *et al.*, 2014).

Characidae é a família de Characiformes que abriga um elevado número de representantes, com 1.188 espécies válidas (Catalog of fishes, 2019). Os caracídeos detêm ampla distribuição geográfica na região neotropical e as espécies apresentam pequeno ou grande porte, além de possuírem variadas estratégias tanto reprodutivas quanto alimentares (Baumgartner *et al.*, 2012). Se tratando dos aspectos evolutivos, o cariótipo nessa família é caracterizado por ampla variedade, decorrente de inversões (paracêntricas e pericêntricas), ocorridas durante o processo meiótico, as quais alteram a morfologia estrutural dos cariótipos (Oliveira *et al.* 1988, *apud* Fava 2008).

Dentro da família Characidae, o gênero *Astyanax* abriga cerca de 137 espécies (Cunha, 2014), vulgarmente conhecidas como lambaris, piabas ou tambiuís. Este gênero possui uma grande variabilidade genômica e uma alta diversidade, que pode ser presenciada em toda América do Sul. A espécie *Astyanax bimaculatus* apresenta duas manchas, sendo uma ovalada próxima à região umeral e a outra localizada na base da nadadeira caudal (Fava, 2008). O epíteto específico *bimaculatus* faz alusão a estas duas manchas. Dentro deste gênero, é observada a ocorrência de diferentes números diploides, que se encontram em condições alopátricas (Morelli *et al.* 1983; Paganelli & Moreira Filho 1986; Bertollo e Moreira Filho 1986, *apud* Fava 2008).

Devido à observação dessa elevada diversidade cariotípica, a citogenética de peixes vem se tornando um amplo e atrativo campo de estudo – interdisciplinar entre as áreas de Biologia Celular e Genética –, devido à mesma proporcionar dados informativos sobre os padrões evolutivos desses animais, amplamente encontrados em águas doces neotropicais (Fava, 2008). Outra importante contribuição desta ciência é a

possibilidade de reconhecer espécies crípticas, baseado no número cromossômico das populações estudadas (Ohno 1970, *apud* Maurutto 2010), ou o reconhecimento de padrões filogeográficos (Pereira *et. al.* 2013).

Estudos citogenéticos realizados em populações naturais de peixes de água doce encontrados na região neotropical já estão gerando informações importantes para compreender as modificações que ocorrem na estrutura cromossômica das populações naturais. Esse é o caso do gênero *Astyanax*. Dentro deste gênero, grande parte das modificações cromossômicas observadas provavelmente é relacionada ao isolamento geográfico, promovido por eventos geomorfológicos históricos, abundantes na história paleohidrológica da América do Sul. Nesse contexto, podemos utilizar informações citogenéticas para a identificação de unidades evolutivas independentes, estudos filogeográficos e identificação de espécies crípticas (Bertollo *et al.* 2000; Peres, 2009; Santos, 2013).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar o cariótipo da população de *Astyanax bimaculatus* nativa no Reservatório Engenheiro Ávidos, Cajazeiras-PB, situada na bacia hidrográfica dos rios Piancó-Piranhas-Açu. Para este fim, foi descrito a macroestrutura cariotípica dos animais coletados e os resultados foram comparados com informações citogenéticas desta espécie disponíveis na literatura científica e os padrões encontrados discutidos no contexto biogeográfico.

Materiais e Métodos

Caracterização da área de estudo

A bacia hidrográfica dos rios Piancó-Piranhas-Açu (Figura 1), localizada na região semiárida do nordeste brasileiro, possui uma área de 43.683 km², estando parcialmente inserida nos Estados da Paraíba (60%) e do Rio Grande do Norte (40%) e ocupa cerca de 15% do território da Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Oriental (ANA, 2016). Boa parte desta bacia está situada no município de Cajazeiras e faz parte do Parque Ecológico Engenheiro Ávidos, o qual se encontra a oeste do estado da Paraíba. (Figura 2), dentre as coordenadas geográficas 6° 57' e 7° 25', de latitude sul, e 38° 10' e 38° 40', de longitude a oeste, em relação ao meridiano de Greenwich (Feitosa *et al.*, 2002).

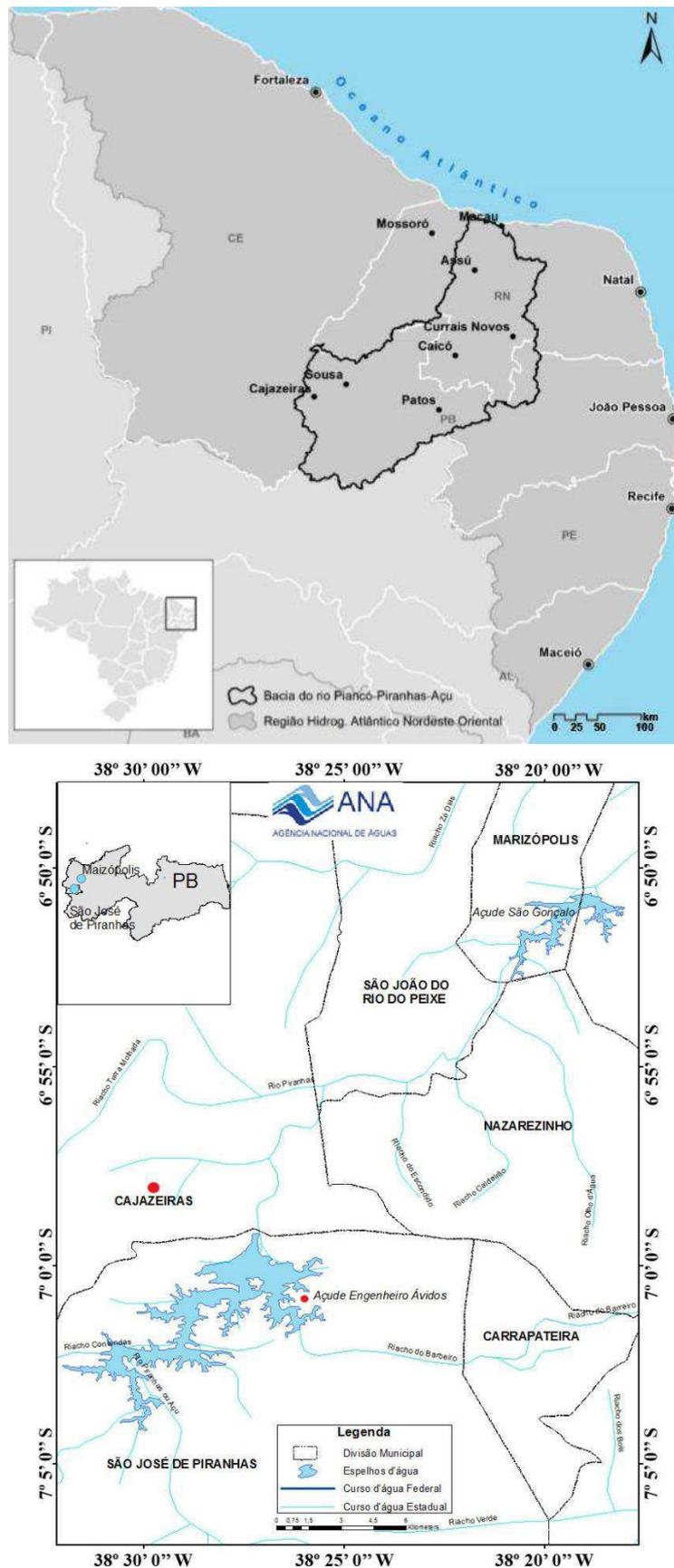


Figura 1 A-B: A. Localização da Bacia Hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, situada na Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Oriental. B. Mapa de alocação de água do Reservatório Engenheiro Ávidos no estado da Paraíba. Fonte: Agência Nacional de Águas (ANA), 2017.

O Reservatório Engenheiro Ávidos admite capacidade máxima de 255.000.000 m³ (AESAs, 2018) e é considerado um ecossistema que abriga espécies de alto valor ecológico (Feitosa *et al.*, 2002).

Material Biológico

Os peixes da espécie *Astyanax bimaculatus* (Figura 3) foram coletados no Reservatório Engenheiro Ávidos entre as 09h00min e 10h00min. Os peixes foram levados para o Laboratório de Zoologia da UFCG/CFP e acondicionados em aquário aerado. Todo o procedimento com os animais foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Formação de Professores, campus Cajazeiras. Processo 23096.003073/19-54.



Figura 2: Peixe da espécie *Astyanax bimaculatus*, conhecido popularmente como lambari do rabo amarelo.

Procedimentos para coleta de dados citogenéticos

Três dias antes do sacrifício do animal o aumento da divisão celular no rim anterior dos animais foi estimulada para posterior obtenção das suspensões celulares contendo os cromossomos metafásicos. A descrição detalhada do procedimento segue abaixo:

Indução do aumento da frequência mitótica nas células de defesa por meio da injeção de suspensão de levedura (Lee; Elder, 1980; Peres, 2009).

Esta técnica tem como objetivo a produção de novas células de defesa. Para tal, o sistema imunológico dos animais foram estimulados pela ação de leveduras introduzidas intraperitonealmente. Foi aplicado 0,2 ml de solução estimulante na região intraperitoneal de cada animal, por meio da utilização de seringa. A solução estimulante, previamente preparada, foi composta de 5 g de fermento biológico e 3 g de açúcar em 10 mL de água destilada. Antes da aplicação, esta solução foi incubada em estufa e conservada na temperatura de 37 °C por 20 minutos (Ribeiro, 2007; Artoni *et al.*, 2000; Perazzo, 2016).

Preparação de cromossomos mitóticos obtidos das células do rim anterior através da técnica de preparação direta (Bertollo; Takahashi; Moreira-Filho, 1978; Peres, 2009).

Essa é uma técnica que consiste na remoção do rim anterior dos peixes, devido a este ser um órgão hematopoiético, produtor de novas células sanguíneas. Para a realização desta técnica são necessários alguns procedimentos que estão divididos nas seguintes etapas:

Etapa 1: Introdução da solução aquosa de colchicina (0,0125%) na proporção de 1mL para cada 100g de peso do animal na região intraperitoneal (entre as nadadeiras peitorais e ventrais);

Etapa 2: Depois da aplicação, o animal permaneceu no aquário bem arejado por cerca de 30 minutos. Logo em seguida foi anestesiado com Eugenol, sacrificado e o seu rim anterior retirado;

Etapa 3: A amostra retirada foi lavada em solução hipotônica, especificamente em cloreto de potássio (KCl) a 0,075M. Após isso, esta foi transferida para cubetas de vidro bem pequenas contendo a mesma solução (5mL) no qual ela foi lavada;

Etapa 4: A amostra foi dissociada através do uso de pinças de dissecação e seringa (sem necessitar da agulha) para aspirá-la e expirá-la, facilitando assim a separação das células e a obtenção da suspensão celular homogênea nas amostras;

Etapa 5: Logo em seguida, a suspensão obtida foi colocada em estufa à temperatura de 37 °C, durante 25 a 30 minutos;

Etapa 6: Por meio de uma pipeta de Pasteur, a solução foi ressuspendida e transferida para um tubo de centrífuga. Outros componentes que estavam presentes na amostra foram descartados;

Etapa 7: Foram acrescentadas algumas gotas de fixador (solução preparada com álcool metílico e ácido acético, na proporção de 3:1, respectivamente). Logo depois a amostra foi ressuspendida e centrifugada por 10 minutos, a 900 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur;

Etapa 8: Depois que o sobrenadante foi descartado, adicionou-se 5 ou 7mL de fixador, deixando o líquido escorrer pelas paredes do tubo de centrífuga;

Etapa 9: Após a centrifugação, a amostra foi ressuspendida com uma pipeta de Pasteur;

Etapa 10: As etapas 7 e 8 foram repetidas duas vezes. Depois da última centrifugação e descarte do sobrenadante da amostra, colocou-se 1,5 mL de fixador e o material foi ressuspendido novamente. Logo após este processo, a amostra foi guardada em freezer, contidas em tubos de “Eppendorf”.

Técnica “air drying”: preparação e coloração das lâminas (Bertollo *et al.*, 1978; Artoni; Vicari; Bertollo, 2000).

Para a visualização dos cromossomos metafásicos, foi utilizada uma técnica de preparação conhecida como “air drying”, que consiste no gotejamento da suspensão celular gelada em lâminas bem limpas e aquecidas a 40 °C. Depois desta preparação, as

lâminas foram coradas com solução de Giemsa durante 6 a 7 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas cuidadosamente em água corrente e secadas ao ar.

Montagem dos cariótipos.

Após a preparação, as lâminas foram levadas ao microscópio para a identificação e registro da localização das metáfases. Em seguida, as mesmas foram encaminhadas para o Laboratório de Sistemática Molecular Beagle, no Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situada no estado de Minas Gerais. Nesse espaço, os cromossomos metafásicos foram fotografados.

Antes da montagem dos cariótipos, os cromossomos de cada metáfase foram classificados de acordo com a posição dos braços em relação ao centrômero (metacêntricos, submetacêntricos, subtlocêntricos e telocêntricos) e organizados em ordens decrescentes para cada grupo cromossômico na montagem do kariograma. A caracterização do posicionamento centromérico foi obtida a partir da razão (r) entre o comprimento do braço longo (L) e braço curto (S) do cromossomo, como mostra a Tabela 1 (Levan; Fredga; Sandberg, 1964). Para a montagem dos cariótipos foi utilizado o software Adobe Photoshop CS3. A montagem dos cariótipos teve como objetivo permitir a comparação dos cromossomos entre os indivíduos (Peres, 2009).

Tabela 1. Classificação dos cromossomos metafásicos de acordo com a razão entre o braço longo e o braço curto

Abreviação	Denominação	Localização do centrômero	Razão
M	metacêntrico	região mediana	1.00 – 1.69
SM	submetacêntrico	região submediana	1.70 – 2.99
ST	subtelocêntrico	região subterminal	3.00 – 6.99
T	telocêntrico	região terminal	7.00 - ∞

Fonte: Levan; Fredga; Sandberg, 1964, modificado.

Resultados

Nas três coletas realizadas, foram capturados 46 espécimes (Tabela 2). Foram produzidas suspensões celulares a partir de 19 animais. Dos indivíduos coletados na primeira incursão em campo, apenas dois geraram suspensões celulares, porém de baixa qualidade. Quanto à segunda coleta, das quatro amostras obtidas, apenas uma apresentou um melhor resultado, permitindo visualizar, identificar e classificar os cromossomos metafásicos. Já das 13 amostras obtidas na última coleta, apenas duas apresentaram bons resultados na obtenção dos cariomorfos.

Tabela 2. Coletas, número de indivíduos e suspensões celulares obtidas

COLETAS	DATA	Nº DE INDIVÍDUOS	SEXO	Nº DE AMOSTRAS*
1º	14/04/2018	11	5♀ / 6♂	2♀

2°	01/09/2018	15	8♀ / 7♂	2♀ / 2♂
3°	09/02/2019	20	15♀ / 5♂	12♀ / 1♂

* Número de indivíduos com suspensões celulares obtidas.

Sendo assim, de acordo com os cariomorfos obtidos (Figuras 4A-B e 5A-B) é possível observar que o cariótipo dessa população de *Astyanax bimaculatus* é constituído por 03 pares de cromossomos metacêntricos, 10 pares submetacêntricos, 09 pares subtelo-cêntricos e 03 pares telocêntricos (6m+20sm+18st+6t), sem diferenciações em cromossomos sexuais.

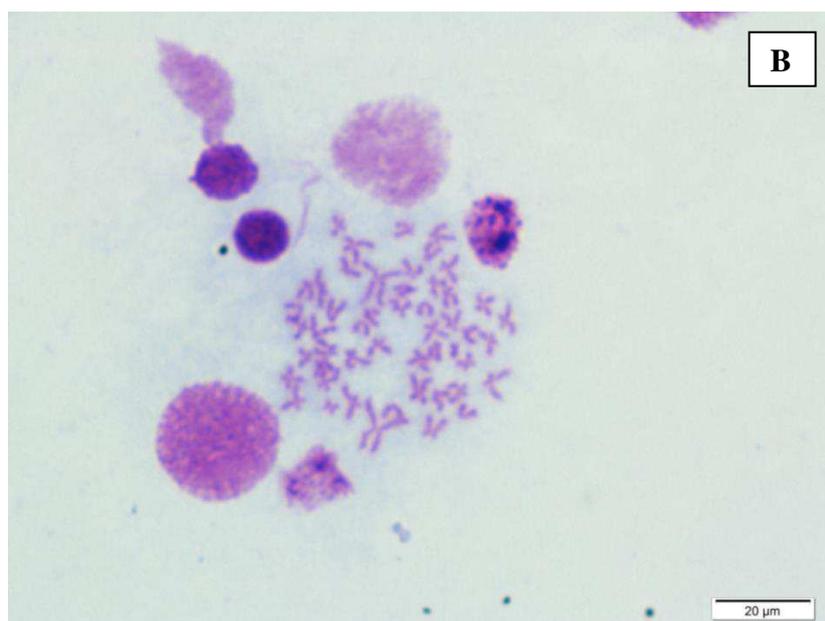
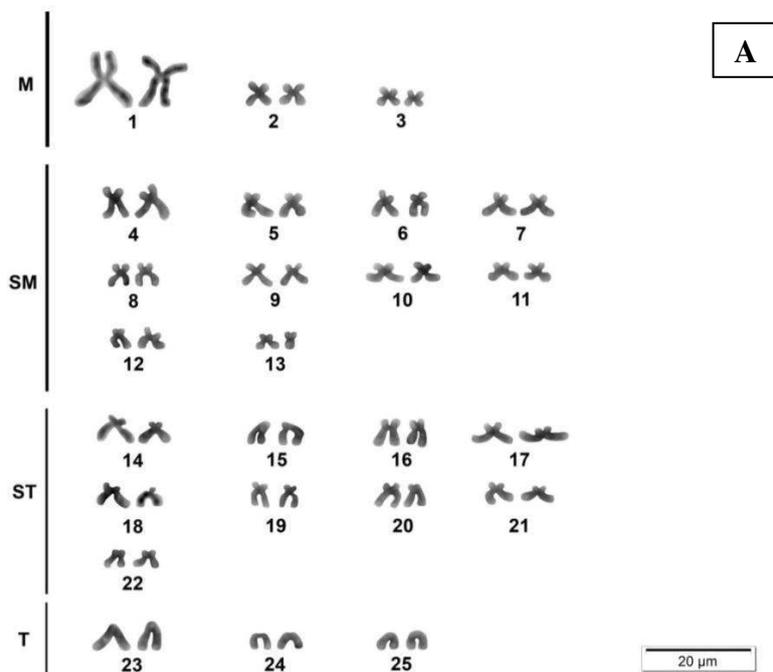


Figura 3 A-B: **A.** Cariótipo obtido por coloração com Giemsa em células extraídas do rim anterior de fêmea de *Astyanax bimaculatus* coletada no Reservatório Engenheiro Ávidos, Bacia Hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, Cajazeiras - PB. **B.** Metáfase de espécime de *Astyanax bimaculatus* fêmea utilizada para a montagem do cariótipo apresentado na imagem A.

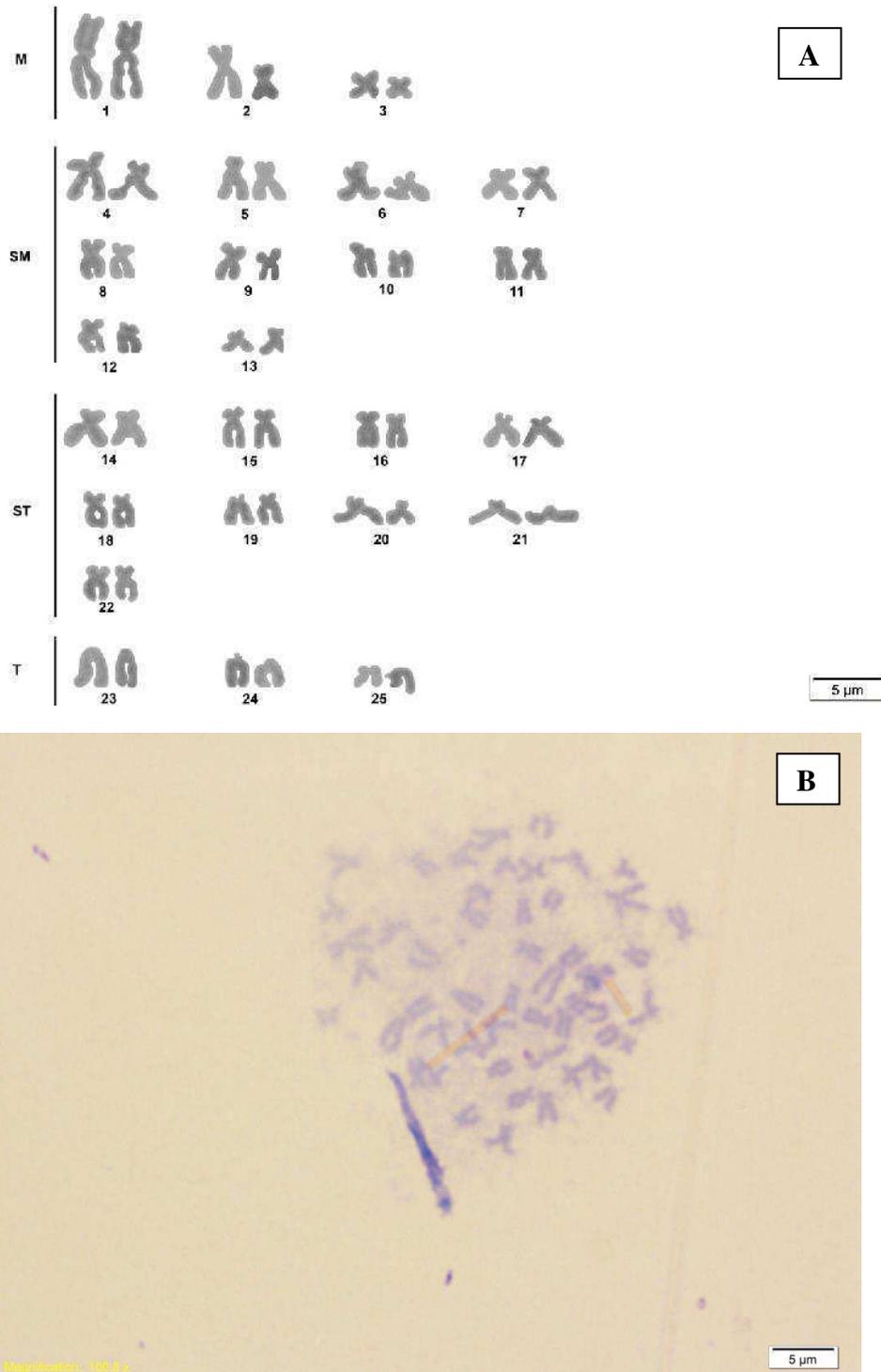


Figura 4 A-B: A. Cariótipo obtido por coloração com Giemsa em células obtidas de um espécime macho de *Astyanax bimaculatus* coletado no Reservatório Engenheiro Ávidos, Bacia Hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, Cajazeiras - PB. B. Metáfase de macho de *Astyanax bimaculatus* utilizada para a montagem do cariótipo apresentado na imagem A.

Discussão

Os cariótipos conhecidos para *Astyanax bimaculatus*

A partir da revisão bibliográfica realizada em estudos citogenéticos feitos em populações de *Astyanax bimaculatus*, fica evidente que todas as populações desta espécie estudadas até o momento compartilham o mesmo número diploide da população coletada no Reservatório Engenheiro Ávidos. Estes dados corroboram a hipótese que o número diplóide $2n=50$ cromossomos é conservado nessa espécie. Contudo, variações na fórmula cariotípica são observadas, devido a rearranjos cromossômicos, principalmente inversões pericêntricas (que envolvem o centrômero), conforme observado em outras espécies deste gênero. Estes resultados são coerentes com o observado em outras espécies do gênero *Astyanax*, onde rearranjos cromossômicos são frequentemente encontrados nas populações (Cunha, 2014). Nesse trabalho, a fórmula cariotípica $6m+20sm+18st+6t$ foi semelhante ao registrado por Cunha (2014) em seu estudo realizado nas bacias hidrográficas do sudeste do Brasil (Tabela 3) (Figura 6), que está distante, em linha reta, mais de 2.000 km da bacia hidrográfica do Rio Piranhas.

Tabela 3. Populações de *Astyanax bimaculatus* com cariótipos conhecidos

Bacia Hidrográfica	Nº diploide (2n)	Tipos cromossômicos				Referência
		M	SM	ST	T	
Sete Barras, Bacia do Rio Ribeira de Iguape, SP.	50	08	24	12	06	Kavalco <i>et al.</i> , 2011
Cachoeiras de Macacu, Rio Guapimirim, RJ.	50	08	24	12	06	Kavalco <i>et al.</i> , 2011
Rio Contas, Bacia do Rio Contas, BA.	50	06	28	12	04	Pamponet <i>et al.</i> , 2008
Córrego Mineiro, Bacia Recôncavo Sul, Ipiaú, BA.	50	06	28	12	04	Pamponet <i>et al.</i> , 2008
Córrego Espírito Santo, Rio Paraíba do Sul, Juiz de Fora, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014
Rio Paraíba do Sul, Rio Paraíba do Sul, Itaocara, RJ.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014
Rio Carangola, Rio Paraíba do Sul, Carangola, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014
Rio Piranga, Rio Doce, Ponte Nova, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014
Córrego São Bartolomeu, Rio	50	06	20	18	06	Cunha, 2014

Doce, Viçosa, MG.							
Lagoa Curi, Rio Doce, Pingo D'Água, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014	
Lagoa Juiz de Fora, Rio Doce, Pingo D'Água, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014	
Lagoa Marola, Rio Doce, Pingo D'Água, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014	
Rio Mucuri, Bacia do Rio Mucuri, Carlos Chagas, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014	
Rio São João, Bacia do Rio Pardo, Itaúna, MG.	50	06	20	18	06	Cunha, 2014	
Córrego Dois de Agosto, Tocantins-Araguaia, MT.	50	04	14	24	08	Tenório <i>et al.</i> , 2013	
Rio Piranhas (Reservatório Engenheiro Ávidos), Bacia dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, Cajazeiras, PB.	50	06	20	18	06	Presente estudo	

Fonte: Cunha, 2014, modificado.

A priori, a proposta de realizar a caracterização citogenética da população de *Astyanax bimaculatus* da bacia hidrográfica do Rio Piranhas surgiu considerando que a elevada distância geográfica desta população com as populações com cariótipo conhecido na Bahia e no sudeste do Brasil poderia indicar ausência de fluxo gênico e poderia ser um fator que favorecesse a diferenciação cariotípica. A distância geográfica somada à restrição à água doce de peixes dulcícolas é um fator que favorece a fixação de características em condição alopátrica.

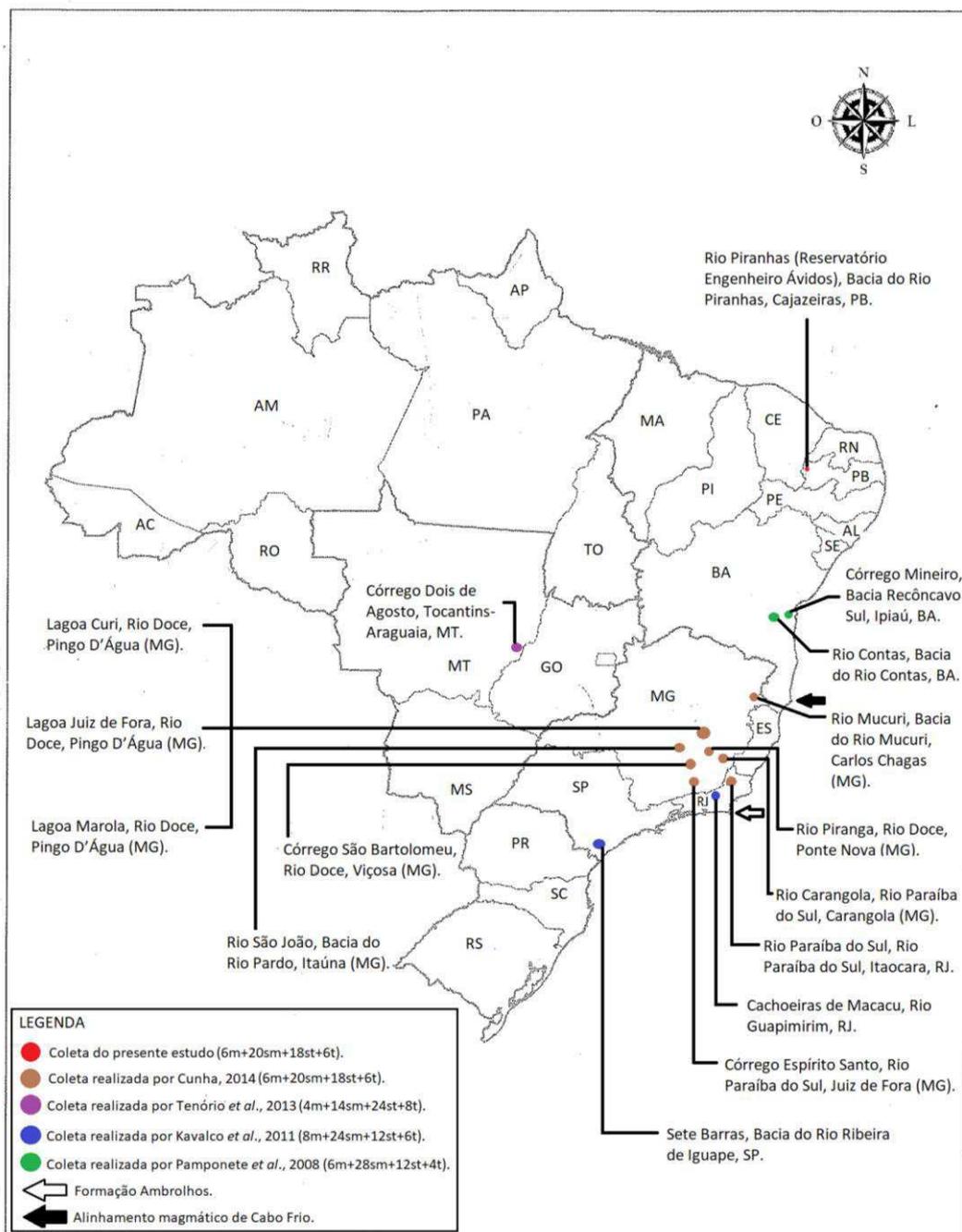


Figura 5: Mapa com as populações de *Astyanax bimaculatus* com cariótipo conhecido e locais de coleta.

O componente Biogeográfico na diversidade cariotípica de *Astyanax bimaculatus*

Quando realizada uma análise comparada entre os cariótipos conhecidos para *Astyanax bimaculatus* é evidente o forte componente biogeográfico presente. É possível notar a mesma estrutura cariotípica nas populações coletadas nas bacias hidrográficas dos rios Macacu e Ribeira do Iguape, as quais são bacias costeiras que hoje estão isoladas, mas que apresentam recente história paleohidrológica em comum, com comunicações durante o período quaternário, em condição de retração do nível do mar, também estando ambas bacias hidrográficas presentes no mesmo setor geomorfológico costeiro (Pereira, *et al.* 2013). As populações de traíra *Hoplias malabaricus* presente

naquela região e naquelas duas bacias hidrográficas, também apresentam maior proximidade genética em análise filogeográfica, quando comparado com as populações de traíras coletadas nas demais bacias hidrográficas da América do Sul (Santos, 2013).

Outro grupo biogeográfico observado nesta análise é formado pelas populações de *Astyanax bimaculatus* coletadas nas bacias hidrográficas do rio Doce e pequenas bacias costeiras próximas, acima do Alinhamento Magmático de Cabo Frio até a linha da Barreira de Abrolhos, na Bahia, as quais apresentam o mesmo cariótipo de *Astyanax bimaculatus*. Esta região é um setor geomorfológico costeiro com história paleohidrológica relacionada, com bacias hidrográficas que também tiveram comunicações nas suas foz, nos períodos glaciais do quaternário (Pereira *et al.* 2013). Esta estreita história paleohidrológica também é refletida na similaridade genética entre as populações de traíras *Hoplias malabaricus* analisadas, quando comparado com traíras das demais bacias da América do Sul (Santos, 2013).

O último grupo biogeográfico observado, formado por populações de *Astyanax bimaculatus* coletadas nas bacias hidrográficas costeiras ao norte da Barreira de Abrolhos, por Pamponete *et al.* (2008). As bacias costeiras nessa região até a foz do rio São Francisco também apresentam história paleohidrológica mais relacionada entre si e com o Rio São Francisco, quando comparado às demais bacias costeiras ao sul de Abrolhos e com as demais bacias continentais, o que é refletido na elevada similaridade da ictiofauna (Pereira *et al.* 2013). O distinto cariótipo encontrado nas populações de *Astyanax bimaculatus* coletadas nesta região, quando comparado às demais bacias hidrográficas estudadas é provavelmente decorrente de relativa independente história paleohidrológica, levando ao isolamento das populações de *Astyanax bimaculatus* presentes nestas bacias das demais populações continentais e costeiras. Corroborando com esta hipótese, as populações de *Hoplias malabaricus* encontradas nestas bacias costeiras ao norte de Abrolhos são mais relacionadas geneticamente entre si e com as populações do Rio São Francisco, quando comparado às demais bacias continentais e costeiras ao sul de Abrolhos (Santos, 2013).

Curiosamente, o cariótipo encontrado na população de *Astyanax bimaculatus* coletada no Açude Engenheiro Ávidos, na bacia hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu é semelhante às populações encontradas nas bacias costeiras próximas ao Rio Doce, no sudeste do Brasil, distante mais de 2000 km. Para o melhor reconhecimento dos fatores que levaram a conservação dessa estrutura cariotípica é necessário a realização de estudos citogenéticos em populações de *Astyanax bimaculatus* nas demais bacias hidrográficas brasileiras e, principalmente, naquelas presentes entre o Rio Doce e o Rio Piranhas, a fim de reconhecer melhor um padrão biogeográfico. Nesse sentido, a presença de um distinto cariótipo nas populações de *Astyanax bimaculatus*, coletadas na bacia hidrográfica Tocantins-Araguaia pode sugerir que as drenagens ao norte do Brasil podem compartilhar um cariótipo diferente daqueles presentes nos três grupos biogeográficos aqui apontados.

A evolução cariotípica no gênero *Astyanax*

A característica mais marcante, do ponto de vista citogenético, para gênero *Astyanax*, é a sua notável diversidade cariotípica. Este grupo representa um excelente modelo para estudos sobre mecanismos evolutivos. Como a maioria de seus representantes fazem parte da fauna neotropical, esses são considerados um dos

melhores grupos de peixes para desenvolver estudos citogenéticos, devido à grande diferenciação genética intraespecífica. Por exemplo, as espécies com maior número de estudos citogenéticos *A. scabripinnis* e *A. fasciatus* mostram uma elevada diversidade cariotípica inter e até intrapopulacional (Kavalco *et al.*, 2009).

Além da variação na fórmula cariotípica, algumas espécies do gênero *Astyanax* também podem apresentar números diploides distintos de $2n=50$, como observado em *A. schubarti* ($2n=36$) e em algumas populações de *A. scabripinnis* ($2n=46$) e *A. fasciatus* ($2n=48$). Contudo, a maioria das espécies de *Astyanax* são conhecidos por apresentarem cerca de 50 cromossomos (Kavalco *et al.*, 2009).

Estas variações citogenéticas encontradas nas populações naturais de espécies do gênero *Astyanax*, podem levar a isolamento reprodutivo pós-zigótico com consequente ausência de fluxo gênico e favorecem o surgimento de novas espécies e de “espécies crípticas”. Dessa forma, a elevada diferenciações cromossômica intrapopulacional, com a simpatria de dois cariótipos distintos e conservados, pode ser um indicativo de ausência de fluxo gênico e na consequente coexistência de duas ou mais espécies biológicas (de acordo com o conceito biológico de espécie). Um exemplo, da provável existência de espécies crípticas é observado nos táxon *A. fasciatus* e *A. scabripinnis*. Os fatores que levam a alterações citogenéticas intraespecífica ainda não são claros, mas provavelmente são decorrentes de condições ambientais específicas (barreiras geográficas que proporcionam especiação ou pressão seletiva local) e as características genômicas únicas de cada espécie (Kavalco *et al.*, 2009).

Considerações finais

A população de *Astyanax bimaculatus* coletada no Reservatório Engenheiro Ávidos, bacia hidrográfica dos Rios Piancó-Piranhas-Açu, apresentou o número diplóide de $2n=50$ cromossomo e fórmula cariotípica $6m+20sm+18st+6t$, com ausência de cromossomos sexuais, semelhante ao observado nas populações presentes nas bacias hidrográficas do Rio Doce e Paraíba do Sul, no sudeste do Brasil. Em decorrência da ampla distribuição das populações desta espécie na região neotropical, as diversas bacias hidrográficas que se situam no Brasil podem abrigar populações de *A. bimaculatus* com fórmulas cariotípicas diferentes das já descritas na literatura. A realização de estudos citogenéticos nessa espécie, em outras bacias hidrográficas do nordeste, na região norte e sudoeste do Brasil, onde são escassos estudos dessa natureza, pode fornecer maiores subsídios para o reconhecimento de padrões filogeográficos em *Astyanax bimaculatus*, bem como no reconhecimento de prováveis espécies crípticas. Reconhecer o cariótipo de populações naturais desta espécie e relacionar à história geomorfológica e paleohidrológica das bacias hidrográficas pode melhorar a nossa compreensão dos fatores que influenciaram a diversificação do gênero *Astyanax*, bem como compreender melhor a evolução dos peixes na América do Sul.

Referências

Accioly, I. V.; Molina, W. F. Contribuição à citogenética dos gêneros *Pomadasys* e *Anisotremus* (Haemulidae, Perciformes). *Publica III*. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. p. 36-44. 2007.

AESA, Agência Executiva de Gestão das Águas. Disponível em: <<http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/>>. Acesso em: 17 de julho de 2018.

Agência Nacional do Aguas (Brasil). Plano de recursos hídricos da bacia hidrográfica do rio Piancó-Piranhas-Açu: resumo executivo. Agência Nacional de Águas. Brasília: ANA, 2018.

Artoni, R. F.; Vicari, M. R.; Bertollo, L. A. C. Citogenética de peixes neotropicais: métodos, resultados e perspectivas. *Publicatio UEPG – Biological and Health Sciences*, v. 6. p. 43-60, 2000.

Baumgartner, G., *et al.* Peixes do baixo rio Iguaçu [online]. Maringá: Eduem, 2012. Characiformes. p. 57-100.

Bertollo, L. A. C.; Born, G. G.; Dergam, J. A.; Fenocchio, A. S. and Moreira-Filho, O. (2000), A biodiversity approach in the Neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. *Chromosome Research*, **8**, 603-613.

Camilo, F. M. Estudos citogenéticos em algumas espécies de peixes da família Loricariidae pertencentes à Bacia do Rio Piracicaba. 61f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2004.

Campus, A. S. Citotaxonomia de acestrorhynchus (characiformes) da região amazônica. 37 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Manaus, AM, 2018.

Cunha, M. S. da. Biogeografia histórica do lambari de ampla distribuição *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei: Characidae) no sudeste brasileiro, com base em padrões de variação citogenéticos e moleculares. 54 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2014.

Fava, L. Variação cariotípica de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Characidae) nas bacias costeiras do Brasil. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Biologia Animal. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2008.

Feitosa, A. A. F. M. A; Watanabe, T., Menezes, M. A. de. Unidade de conservação no semiárido nordestino: o caso do Parque Ecológico de Engenheiros Ávidos – PB. *Raízes – Revista de Ciências Sociais e Econômicas*, v.21, n. 1, p. 101-113, jan./jun., 2002.

Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & Fong, J. D. Species by family/subfamily. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed 25 June 2019.

Kavalco, K. F.; Brandão, K.O.; Pazza, R.; Almeida-Toledo. L. F. *Astyanax hastatus* Myers, 1928 (Teleostei, Characidae): a new species complex within the genus *Astyanax*? *Genet Mol Biol* 32:477-483, 2009.

Levan, A., Fredga, K., & Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2), 201-220.

Maurutto, F. A. M. Contribuição a citogenética de peixes do gênero *Hypostomus* Lacépède (1803) (Teleostei, Loricariidae). 58f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR, 2010.

Mota, T. F. M.; Prioli, S. M. A. P.; J.; Prioli, A. J. Estudos filogenéticos da ordem characiformes: tendências e carências. *Publicatio Uepg: Ciências Biológicas e da Saude*, [s.l.], v. 20, n. 1, p.21-36, 2014. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Perazzo, G. X. 2016. Citogenética de Peixes. In: Piscicultura – Aspectos Relevantes. Camargo A.C.S., Nogueira W.C.L., Torres A.F.B., Almeida A.C., Stefanello C.M, Editora UNIPAMPA, p. 254 – 270.

Pereira, T. L. *et al.*, (2013). Dispersal and vicariance of *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) populations of the Brazilian continental margin. *Journal of Biogeography*, 40(5), 905-914.

Peres, W. A. M. Análise citogenética de espécies de *Astyanax* (Characiformes) da região de transposição do Rio Piumhi. 89f. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2010.

Santos, U. Filogeografia de Traíras *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1974) (Teleostei, Erythrinidae) das bacias hidrográficas da América do Sul. 123 f. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2013.

ANEXOS

ANEXO A – Razões entre braços cromossômicos obtidas a partir de espécimes de *Astyanax bimaculatus* coletados no Açude Engenheiro Avidos

Cromossomos de espécime macho	Razão (L/S)	Tipo cromossômico
1	1.09	Metacêntrico
	1.56	Metacêntrico
2	1.42	Metacêntrico
	1.39	Metacêntrico
3	1.00	Metacêntrico
	1.47	Metacêntrico
4	2.10	Submetacêntrico
	1.97	Submetacêntrico
5	2.37	Submetacêntrico
	1.82	Submetacêntrico
6	2.05	Submetacêntrico
	1.83	Submetacêntrico
7	2.00	Submetacêntrico
	2.05	Submetacêntrico
8	1.74	Submetacêntrico
	2.13	Submetacêntrico
9	2.82	Submetacêntrico
	1.79	Submetacêntrico
10	1.97	Submetacêntrico
	2.04	Submetacêntrico
11	2.27	Submetacêntrico
	1.79	Submetacêntrico
12	2.20	Submetacêntrico
	1.76	Submetacêntrico
13	1.70	Submetacêntrico
	1.76	Submetacêntrico
14	3.06	Subtelocêntrico
	3.11	Subtelocêntrico
15	3.56	Subtelocêntrico
	3.00	Subtelocêntrico
16	3.05	Subtelocêntrico
	3.32	Subtelocêntrico
17	3.19	Subtelocêntrico
	3.72	Subtelocêntrico
18	3.44	Subtelocêntrico
	3.32	Subtelocêntrico
19	3.12	Subtelocêntrico
	3.36	Subtelocêntrico
20	3.82	Subtelocêntrico
	3.22	Subtelocêntrico
21	3.25	Subtelocêntrico
	4.78	Subtelocêntrico
22	4.05	Subtelocêntrico
	3.82	Subtelocêntrico

	> 7.00	Telocêntrico
23	> 7.00	Telocêntrico
	> 7.00	Telocêntrico
24	> 7.00	Telocêntrico
	> 7.00	Telocêntrico
25	> 7.00	Telocêntrico

Cromossomos de espécie fêmea	Razão (L/S)	Tipo cromossômico
1	1.48	Metacêntrico
	1.09	Metacêntrico
2	1.29	Metacêntrico
	1.26	Metacêntrico
3	1.04	Metacêntrico
	1.02	Metacêntrico
4	2.00	Submetacêntrico
	1.86	Submetacêntrico
5	2.11	Submetacêntrico
	2.25	Submetacêntrico
6	2.38	Submetacêntrico
	2.24	Submetacêntrico
7	1.86	Submetacêntrico
	1.81	Submetacêntrico
8	1.85	Submetacêntrico
	2.24	Submetacêntrico
9	2.43	Submetacêntrico
	2.37	Submetacêntrico
10	2.00	Submetacêntrico
	2.15	Submetacêntrico
11	1.88	Submetacêntrico
	1.73	Submetacêntrico
12	2.46	Submetacêntrico
	1.98	Submetacêntrico
13	2.07	Submetacêntrico
	2.32	Submetacêntrico
14	3.17	Subtelocêntrico
	3.31	Subtelocêntrico
15	3.65	Subtelocêntrico
	3.39	Subtelocêntrico
16	3.08	Subtelocêntrico
	3.50	Subtelocêntrico
17	4.08	Subtelocêntrico
	5.44	Subtelocêntrico
18	3.51	Subtelocêntrico
	3.11	Subtelocêntrico
19	3.38	Subtelocêntrico
	4.02	Subtelocêntrico
20	3.85	Subtelocêntrico
	3.60	Subtelocêntrico
21	3.75	Subtelocêntrico
	3.95	Subtelocêntrico
22	3.54	Subtelocêntrico
	4.71	Subtelocêntrico

	> 7.00	Telocêntrico
23	> 7.00	Telocêntrico
	> 7.00	Telocêntrico
24	> 7.00	Telocêntrico
	> 7.00	Telocêntrico
25	> 7.00	Telocêntrico

ANEXO B – Diretrizes para publicação de artigos na Revista Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza¹

¹Disponível em:

<http://revistas.ufcg.edu.br/cfp/index.php/RPECEN/about/submissions#authorGuidelines>

Revista Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza
Unidade Acadêmica de Ciências Exatas e da Natureza - CFP - UFCG
Cajazeiras - PB, Brasil.
(ISSN 2526-8236)

Diretrizes para autores

FORMATAÇÃO DOS ESCRITOS

Os manuscritos devem ser elaborados e enviados em um único documento do Word (versão Windows) usando fonte “Times New Roman”, tamanho 12, espaçamento simples entre as linhas, margens 2,5 cm e páginas numeradas sequencialmente. O arquivo do manuscrito não pode ultrapassar 10 Mb. Notas de rodapé devem ser evitadas. Legendas das tabelas e figuras, bem como as tabelas e figuras também devem estar inseridas no documento. Os manuscritos devem ser organizados conforme as “Categorias de Manuscrito” apresentadas abaixo. A Equipe Editorial recomenda aos autores checarem estudos previamente publicados em Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza para sanar dúvidas sobre a correta estrutura de manuscritos a serem submetidos ao periódico.

Caso o autor deseje enviar o manuscrito no formato LaTeX, segue o link de um modelo proposto pela revista: [baixe aqui](#). Devem ser enviados, além do manuscrito em .tex, uma versão do mesmo no formato .pdf e as figuras em separado (preferencialmente nos formatos .eps ou .pdf, com resoluções maiores que 300 dpi). Se o autor desejar submeter usando o BibTex, o link ([baixe aqui](#)) fornece um modelo onde as referências e as citações já estão padronizadas com as exigências da revista PECEN.

CATEGORIAS DE MANUSCRITO

Autores devem seguir o arranjo e hierarquia de cada categoria de escrito apresentada abaixo. Casos especiais de manuscritos que não se encaixam nas categorias abaixo podem ser analisados pela Equipe Editorial.

Artigos

Manuscritos nesta categoria necessitam apresentar (ao menos) **seis** páginas na versão eletrônica final publicada. Artigos devem conter resultados de pesquisa científica desenvolvida por um ou mais autores cujas informações não foram

submetidas/publicadas parcialmente ou inteiramente em qualquer periódico/livro. O contexto científico de cada artigo deve estar embasado em literatura nacional e internacional atualizada. Artigos devem apresentar a seguinte organização sequencial: **(1)** título (conciso e informativo contendo até 25 palavras); **(2)** nome do(s) autor(es); **(3)** filiação institucional do(s) autor(es) juntamente com o endereço postal; **(4)** nome e e-mail do autor para correspondência; **(5)** Resumo (conciso e informativo delineando o objetivo e apresentando os principais resultados do estudo, contendo até 200 palavras); **(6)** Palavras chave (quatro a seis palavras que não se sobrepõe as do título); **(7)** Abstract (conforme o Resumo); **(8)** Key words (4 a 6 palavras idênticas as da seção 6); **(9)** Título curto não excedendo 40 caracteres; **(10)** Introdução; **(11)** Material e Métodos ou Metodologia; **(12)** Resultados, **(13)** Discussão ou **(14)** Resultados e Discussão; **(15)** Conclusão ou Considerações finais (opcional); **(16)** Agradecimentos (se necessários) e **(17)** Referências. Artigos submetidas a revista devem apresentar no mínimo seis e no máximo vinte páginas, incluindo figuras e tabelas. A submissão de artigos acima de 20 páginas necessita ser acordada com os editores.

Notas

Manuscritos nesta categoria constituem artigos curtos com até **cinco** páginas na versão eletrônica final publicada. Notas devem conter resultados de pesquisa científica desenvolvida por um ou mais autores cujas informações não foram submetidas/publicadas parcialmente ou inteiramente em qualquer periódico/livro. O contexto científico de cada nota deve estar embasado em literatura nacional e/ou internacional atualizada. Notas devem apresentar a seguinte estrutura: **(1)** título (conciso e informativo contendo até 20 palavras); **(2)** nome do(s) autor(es); **(3)** filiação institucional do(s) autor(es) juntamente com o endereço postal; **(4)** nome e e-mail do autor para correspondência; **(5)** Resumo ou Abstract (conciso e informativo delineando o objetivo e apresentando os principais resultados do estudo, contendo até 200 palavras); **(6)** Título curto não excedendo 40 caracteres; **(7)** texto do artigo (sem seções); **(8)** Agradecimentos (se necessários) e **(9)** Referências. Notas submetidas a revista devem apresentar até seis páginas, incluindo figuras e tabelas.

Revisões temáticas

Manuscritos nesta categoria devem abordar conceitos, temáticas ou tópicos científicos de interesse do(s) autor(es) embasado em referências essenciais, pertinentes e atualizadas para o devido entendimento e desenvolvimento do assunto. Revisões devem apresentar a seguinte estrutura: (1) título (conciso e informativo contendo até 25 palavras); (2) nome do(s) autor(es); (3) filiação institucional do(s) autor(es) juntamente com o endereço postal; (4) nome e e-mail do autor para correspondência; (5) Resumo (conciso e informativo delineando o objetivo e apresentando os principais resultados do estudo, contendo até 200 palavras); (6) Palavras chave (quatro a seis palavras que não se sobrepõe as do título); (7) Abstract (conforme o Resumo); (8) Key words (4 a 6 palavras idênticas as da seção 6); (9) Título curto não excedendo 40 caracteres; (10) texto do manuscrito podendo apresentar subtítulos; (11) Agradecimentos (se necessários) e (12) Referências. Revisões temáticas submetidas a revista devem apresentar até vinte páginas, incluindo figuras e tabelas. A submissão de Revisões acima de 20 páginas necessita ser acordada com os editores.

Ponto de vista

Manuscritos nesta categoria atuarão como um fórum para a discussão acadêmica de questões relevantes dentro escopo do periódico, onde professores/pesquisadores poderão expressar o seu ponto de vista sobre questões ou temáticas. Conforme decisão da Equipe editorial, o periódico pode publicar respostas ou considerações de outros professores/pesquisadores para estimular a discussão sobre a questão ou temática abordada. Manuscritos nesta categoria devem apresentar a seguinte estrutura: (1) título (conciso e informativo contendo até 20 palavras); (2) nome do(s) autor(es); (3) filiação institucional do(s) autor(es) juntamente com o endereço postal; (4) nome e e-mail do autor para correspondência; (5) Resumo ou Abstract (conciso e informativo delineando os principais aspectos do texto, contendo até 200 palavras); (6) Título curto não excedendo 40 caracteres; (7) texto do manuscrito podendo apresentar subtítulos; (8) Agradecimentos (se necessários) e (9) Referências (se necessárias). Manuscritos submetidos a revista devem apresentar até dez páginas, incluindo gráficos, figuras e tabelas.

Apresentação de livros, notícias, opiniões, erratas e obituários

Manuscritos nestas categorias noticiarão questões acadêmicas dentro do escopo do periódico. Professores/pesquisadores podem apresentar o lançamento de livros, noticiar temáticas relevantes e comunicar o falecimento de pessoas juntamente com um resumo de sua trajetória acadêmica e/ou científica. Manuscritos nestas categorias devem apresentar a seguinte estrutura: (1) título (conciso e informativo contendo até 20 palavras); (2) nome do(s) autor(es); (3) filiação institucional do(s) autor(es) juntamente com o endereço postal; (4) nome e e-mail do autor para correspondência; (5) texto do manuscrito podendo apresentar subtítulos; (6) Agradecimentos (se necessários) e (7) Referências (se necessárias). Manuscritos submetidos a revista devem apresentar até três páginas, incluindo gráficos, figuras e tabelas.

Editorial

Manuscritos de caráter editorial serão elaborados por membros da Equipe Editorial ou professores/pesquisadores convidados. Editoriais abordam informações sobre a organização, operacionalização, editoração, escopo, importância e status da revista perante a comunidade, bem como questões envolvendo a política científica do periódico. Editoriais submetidos a revista devem apresentar até duas páginas.

CITAÇÃO DE REFERÊNCIAS NO TEXTO

Os autores devem inserir as citações de referências no texto conforme, estritamente, o modelo apresentado abaixo (preste atenção no estilo de pontuação). As referências devem seguir uma ordem cronológica sempre que citadas entre parênteses.

Authors must insert citations of references in the text in strict compliance with the model presented below (note the punctuation style). References must follow a chronological order whenever cited in parentheses.

- Um autor / One author: ...Filho (2016), Filho (2016a,b), Filho (2015, 2016), Filho (2015, 2016a,b), (Filho 2016), (Filho 2016a,b) ou (Filho 2015, 2016)...
- Dois autores / Two authors: ...Filho & Oliveira (2016), Filho & Oliveira (2016a,b), Filho & Oliveira (2015, 2016), Filho & Oliveira (2015, 2016a,b), (Filho & Oliveira

2016), (Filho & Oliveira 2016a,b), (Filho & Oliveira 2015, 2016) ou (Filho & Oliveira 2015, 2016a,b)...

- Três ou mais autores / Three or more authors: ...Filho et al. (2016), Filho et al. (2016a,b), Filho et al. (2015, 2016), Filho et al. (2015, 2016a,b), (Filho et al. 2016), (Filho et al. 2016a,b), (Filho et al. 2015, 2016) ou (Filho et al. 2015, 2016a,b)...

- Dois ou mais autores entre parêntese / Two or more authors in parentheses: ...(Filho 2016; Filho & Oliveira 2016; Filho et al. 2016; Filho et al. 2016a,b)...

O periódico não aceitará textos empregando literatura cinza. Os autores necessitam embasar os manuscritos através de estudos publicados em periódicos indexados, bem como livros ou capítulos de livro. Monografias, dissertações e teses podem ser mencionadas como referência.

REFERÊNCIAS

Todas as referências citadas no texto devem estar listadas nesta seção e seguir, estritamente, o modelo e a sequência apresentada abaixo (preste atenção no estilo de pontuação). Os títulos dos periódicos devem ser escritos por extenso (sem qualquer abreviação). Os editores recomendam a taxa de uma (1) página de “Referências” para quatro (4) páginas de texto (Introdução a Discussão). As referências mencionadas nesta seção devem seguir ordem alfabética.

Artigo

- Nome do autor (ano da publicação) Título do artigo. *Título do periódico sem abreviação e em itálico*, volume (número - opcional): intervalo de páginas.
- Nandy D.K. (2016) Relativistic coupled-cluster calculations of transition properties in highly charged inert-gas ions. *Physical Review A*, 94 (052507): 1–8.
- Salgueiro F.B. & Castro R.N. (2016) Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. *Química Nova*, 39(10): 1192–1199.

- Shakun J.D., Clark P.U., He F., Marcott S.A., Mix A.C., Liu Z., Otto-Bliesner B., Schmittner A. & Bard E. (2012) Global warming preceded by increasing carbon dioxide concentrations during the last deglaciation. *Nature*, 484: 49–54.

Livro

- Nome do autor (ano da publicação) Título do livro. Edição do livro. Cidade da impressão: gráfica. Número total de páginas.
- Dajoz R. (2008) Princípios de Ecologia. 7ª edição. Porto Alegre: Artmed. 519 p.

Capítulo de livro

- Nome do autor do capítulo do livro (ano da publicação) Título do capítulo do livro (intervalo de páginas do capítulo). *In*: Nome dos editores ou organizadores do livro. Título do livro, edição ou volume do livro. Cidade da impressão: gráfica. Número total de páginas.
- Ponder W.F. & Keyzer R.G. (1998) Superfamily Rissoidae (p. 745–766). *In*: Beesley P.L., Ross G.J.B. & Wells A. (Eds). *Mollusca: The Southern Synthesis. Fauna of Australia. Vol. 5.* Melbourne: CSIRO Publishing. 1234 p.
- Shimizu R.M. (2016) 35. Hemichordata (p. 578–585). *In*: Fransozo A. & Negreiros-Fransozo M.L. (Orgs). *Zoologia dos Invertebrados.* Rio de Janeiro: Roca. 661 p.

Monografia, dissertação e tese

- Nome do autor (ano da publicação) Título da monografia, dissertação ou tese. Monografia, Dissertação ou Tese, Informação sobre o Programa de Pós-Graduação. Instituição na qual a Pós-Graduação está vinculada, Cidade.
- Gay M.R.G. (2008) O desenvolvimento do raciocínio estatístico nos livros didáticos dos anos iniciais do ensino fundamental. Monografia, Especialização em Educação Matemática. Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Filha V.L.S.A. (2007) Sílicas modificadas com centros básicos de nitrogênio, enxofre e oxigênio como adsorventes para cátions metálicos. Dissertação de Mestrado,

Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.

- Souza A.B. (2013) Conversão ascendente de frequências e absorção não linear de salicilaldeído azina. Tese de Doutorado, Instituto de Física. Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas.

Base de dados eletrônica

- Nome do autor (ano da publicação) Título da base de dados. Endereço eletrônico (Data de acesso).
- Bouchet P. & Gofas S. (2013) Mollusca Base: World Register of Marine Species. Disponível em: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=126> (Acessado em 11/10/2016).

FIGURAS

Mapas, fotografias, desenhos, gráficos, fórmulas e equações constituem figuras e devem ser cuidadosamente preparados. Todas as figuras devem ser numeradas em sequência usando números arábicos e citadas no texto como: (Figura 1), (Figura 2), (Figuras 1–2) ou (Figuras 1, 3). Figuras compostas devem ser identificadas como (Figura 1A), (Figura 1B), (Figura 1A–B), (Figura 1A, C), (Figuras 1A, C, 2, 3A) e apresentar legendas independentes. Os autores devem providenciar figuras com boa qualidade (formato TIFF ou JPEG e resolução mínima de 300 DPI) e, sempre que necessário, contendo barras de escala em quilômetros (km), metros (m), centímetros (cm), milímetros (mm) e/ou micrômetros (μm) para nortear o tamanho da área ou objeto. Os autores devem posicionar as chamadas das figuras (Figura 1) no texto. As legendas das figuras e as figuras devem aparecer preferencialmente após as Referências. As legendas das figuras devem ser concisas e autoexplicativas. Figuras coloridas serão bem recebidas. Os arquivos das figuras serão enviados, separadamente, após a aceitação do trabalho para publicação. Editores Assistentes tem o direito de efetuar pequenas modificações nas figuras, conforme a padronização do periódico.

TABELAS

Tabelas devem ser numeradas em sequência usando números arábicos e citadas no texto como (Tabela 1), (Tabela 2) ou (Tabelas 1–2). Linhas verticais não devem ser usadas nas tabelas. Os autores devem posicionar as chamadas das tabelas no texto. As legendas das tabelas e as tabelas devem aparecer preferencialmente após as Referências. As legendas das tabelas devem ser concisas e autoexplicativas.

UNIDADES, VALORES NUMÉRICOS, FÓRMULAS, COORDENADAS E NOMES CIENTÍFICOS

- Todos os números no texto devem ser apresentados como números arábicos.
- O periódico reconhece as Unidades do Sistema Internacional, as quais devem ser empregadas na forma abreviada (e.g., km, m, kg, g).
- Use “t” para toneladas; “h”, “min” e “s” para horas, minutos e segundos (respectivamente).
- Use espaços entre quantidades e unidades (e.g., 2 m, 3 kg, 7 g), exceto graus celsius, coordenadas e percentagens (e.g., 37°C; 41°N, 1°17'E, 10%).
- Inclua espaços entre símbolos aritméticos e valores numéricos (e.g., > 7 , < 7 , $a = b + 1$).
- Use “.” como marcador decimal (e.g., 10.5, 12.25 etc.).
- Não inclua qualquer símbolo para separar centenas (e.g., 5200, 10300 etc.).
- Coordenadas (se possível), devem estar em graus, minutos e segundos (e.g., 24°32'75"S, 53°06'31"O).
- Nomes científicos genéricos e específicos devem estar em itálico e quando mencionados pela primeira vez no texto devem incluir o nome do autor e ano da descrição.

Casos não contemplados aqui serão avaliados pela Equipe Editorial.

CÓDIGO INTERNACIONAL DE NOMENCLATURA

Os nomes científicos e o conjunto de regras e recomendações regidas por Código Internacional de Nomenclatura próprio devem seguir as especificações de seus respectivos códigos.

ÉTICA

Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza usa o “CrossCheck” para identificar qualquer tipo de plágio, dupla submissão, artigos já publicados e possíveis fraudes em pesquisas.

COMITÊ DE ÉTICA

NO CASO DE TRABALHOS ENVOLVENDO SERES HUMANOS, Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza somente avaliará manuscritos aprovados por Comitês de Ética em Pesquisa. A declaração de aprovação da pesquisa pelo Comitê necessitará ser enviada junto a submissão do manuscrito.

FREQUÊNCIA DE PUBLICAÇÃO

Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza tem periodicidade semestral, ou seja, publica um volume e dois números por ano. A publicação online acontecerá de forma contínua e disponibilizará o PDF do manuscrito, no site do periódico, o mais rápido possível após a aceitação para publicação. O primeiro número será finalizado em Junho/Julho e o segundo número em Dezembro. Um número adicional pode ser publicado, conforme a necessidade e decisão da Equipe Editorial do periódico.

SUBMISSÃO, PROCESSO DE AVALIAÇÃO E POLÍTICA EDITORIAL

Editores-Chefes receberão e encaminharão todas as submissões aos Editores de Seção ou Associados, os quais verificarão se o manuscrito cumpre com as exigências delineadas nas “Instruções aos Autores”. A submissão de manuscritos ao periódico Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza implica que todos os co-autores aprovaram e concordam com o conteúdo do texto, tabelas e material gráfico. Será de responsabilidade do “autor correspondente” que todos os co-autores tenham a informação correta sobre o conteúdo de manuscrito submetido ao periódico. O

manuscrito será enviado ao Editor de Seção ou Associado (responsável pelo processo de avaliação), o qual irá selecionar e encaminhar o documento para a avaliação de dois ou três “revisores potenciais”. Entende-se por “revisores potenciais” pesquisadores que possuem um grau satisfatório de domínio sobre a temática do manuscrito corroborado por publicações científicas nos últimos cinco anos. Os autores podem indicar o nome, endereço institucional e e-mail de até cinco “revisores potenciais (Consultores *Ad Hoc*)”. Cabe ao Editor de Seção ou Associado escolher, cuidadosamente, os avaliadores do manuscrito, independente da indicação dos autores. O Editor de Seção ou Associado deve evitar Consultores *Ad Hoc* que tenham um envolvimento direto com os autores de manuscritos. O periódico se baseia em um sistema de “duplo-cego ou blindagem dupla”, na qual os autores não reconhecem os revisores e vice-versa. Os Consultores *Ad Hoc* apresentarão a seguinte decisão sobre o manuscrito avaliado: (A) Rejeitado para publicação; (B) Aceito para publicação sem modificação do conteúdo; (C) Aceito para publicação após alguma revisão do conteúdo; ou (D) Aceito para publicação após considerável revisão do conteúdo. Artigos serão recusados pelos Editores de Seção ou Associados com base em duas rejeições para publicação. Os autores devem apresentar a versão reformulada do manuscrito “aceito para publicação” destacando no texto todas as modificações ou correções sugeridas pelos revisores. Os autores necessitam justificar devidamente as recomendações não acatadas. O Editor de Seção ou Associado considerará o manuscrito aceito para publicação após o(s) autor(es) atender(em) TODOS os requerimentos e recomendações dos revisores, salvo as questões devidamente justificadas. Os Editores de Seção/Associados podem fazer pequenos ajustes no texto visando uma melhor clareza do manuscrito, sem interferir no estilo do manuscrito. Em seguida, o Editor de Seção/Associado encaminhará o manuscrito a Editores Assistentes, os quais confeccionarão e enviarão a versão provisória do manuscrito (paper proof) para a revisão dos autores. O Editor Assistente tem o direito de fazer pequenos ajustes no manuscrito, principalmente na parte gráfica por questões de padronização e enquadramento de tabelas e/ou figuras no formato do periódico. O Corpo Editorial proíbe a realização de modificações substanciais e distribuição da “paper proof” pelo(s) autor(es). Nesta etapa, os autores devem ler a “paper proof” com atenção a fim de checar quais problemas no texto relacionados ao processo de diagramação. Os autores necessitarão comunicar ao Editor Assistente qualquer problema na diagramação do manuscrito para que o mesmo efetue a correção e envie uma nova versão da “paper proof” para a revisão do(s) autor(es). Após a aprovação da “paper proof” pelo(s)

autor(es), o PDF do manuscrito será publicado no site da revista. O Corpo Editorial proíbe a venda de manuscritos publicados em Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza.

CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao editor".
2. O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word, OpenOffice, LATEX ou RTF.
3. URLs para as referências foram informadas quando possível.
4. O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 12-pontos; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL); as figuras e tabelas estão inseridas no texto.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na página Sobre a Revista.
6. Em caso de submissão a uma seção com avaliação pelos pares (ex.: artigos), as instruções disponíveis em Assegurando a avaliação pelos pares cega foram seguidas.