



A UTILIZAÇÃO DE MARCADORES NA FILOGENIA DOS CICLÍDEOS (TELEOSTEI: PERCIFORMES): UMA ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA

Thomaz Mansini Carrenho Fabrin¹; Isabella Simone²; Sônia Maria Alves Pinto Prioli³; Alberto José Prioli⁴; Luciano Seraphim Gasques⁵

1. Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ambientes Aquáticos Continentais PEA – UEM
2. Bióloga pela Universidade Paranaense - UNIPAR
3. Docente do Programas de Pós Graduação em Biologia Comparada PGB – UEM
4. Docente dos Programas de Pós Graduação em Biologia Comparada PGB e em Ambientes Aquáticos Continentais PEA – UEM
5. Docente do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense- UNIPAR.
Endereço: Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Zona III, Umuarama, PR, CEP. 87502-210. E-mail: thomazmcf@gmail.com

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

RESUMO

Cichlidae é uma família de peixes importante para os estudos evolutivos, principalmente por existirem evidências de uma especiação rápida neste grupo. Por este motivo, tem sido bastante utilizado para pesquisas filogenéticas. O objetivo do presente trabalho foi verificar as principais regiões do DNA e demais características associadas aos estudos filogenéticos em ciclídeos. Para este fim utilizou-se a análise bibliométrica na verificação do banco de dados do *PubMed*, tendo como palavras-chave “phylogeny” e “Cichlidae”. Os trabalhos resultantes desta busca foram lidos, tabulados e quantificados. A maioria dos artigos utilizaram regiões do DNA Mitocondrial e Nuclear para a reconstrução das filogenias sendo que as principais famílias de genes do DNA nuclear foram os das famílias *S Ribossomal*, *RING-type zinc fingers* e os de *receptores acoplados à proteína G*, destacando a submília *Opsin* enquanto entre os mitocondriais a *Região controle*, a *citocromo-b* e da família da *Cadeia respiratória*. Os resultados podem auxiliar no delineamento de novos experimentos visando estabelecer a filogenia em ciclídeos neotropicais.

PALAVRAS-CHAVE: Cichlidae, DNA, Molecular, Morfologia

THE USE OF MARKERS IN THE PHYLOGENY OF CICHLIDS (TELEOSTEI: PERCIFORMES): SCIENTOMETRIC ANALYSIS

ABSTRACT

Cichidae are a important fish family for evolutionary studies, mainly for existing evidence of a rapid speciation in this group. For this reason, it has been widely used for phylogenetic research. The aim of this study was to determine the major regions of DNA and other characteristics associated with phylogenetic studies on cichlids. To do so we used the bibliometric analysis in the verification database *PubMed*, using as keywords "phylogeny" and "Cichlid". The work resulting from this search were read, tabulated and quantified. Most articles used regions of Nuclear and Mitochondrial DNA for reconstructing phylogenies and the main gene families of nuclear DNA were the families of *S Ribosomal*, *RING-type zinc fingers* and the *G* protein-coupled

receptors, emphasizing subfamily *opsin*, while between the mitochondrial *control region*, *cytochrome b* and the family of *respiratory chain*. The results may help in designing new experiments to establish the phylogeny in neotropical cichlids.

KEYWORDS: Cichlidae, DNA, Molecular, Morphology

INTRODUÇÃO

A evolução biológica leva em consideração a mudança das características hereditárias das espécies ao longo das gerações. Quando se estuda evolução infere-se que todas as espécies existentes estão relacionadas umas às outras, ou seja, elas tiveram um ancestral em comum em alguma época no decorrer de sua história evolutiva e a divisão (funcional ou estrutural) das populações destas espécies ancestrais formaram novos grupos de organismos.

Para que a relação entre as espécies possa ser reconstituída, geralmente são realizados estudos que tem como objeto a comparação derivativa das características morfológicas ou moleculares (incluindo DNA, hormônios, proteínas etc.). Deduzir o surgimento de uma nova espécie significa imaginar que a mesma separou-se e tornou-se geneticamente distinta e isolada de sua linhagem ancestral, desta forma, ao reconstruir a história da ancestralidade de uma espécie se utiliza a filogenia, que corresponde à sequência dos momentos das espécies ao longo de sua história evolutiva (AMORIM, 2002; GRIFFITHS et al., 2008).

Na história evolutiva dos vertebrados, alguns exemplos de radiação evolutiva se destacam, pois ocorreram em uma escala de tempo relativamente pequena quando se trata de algo tão complexo quanto a especiação. A família de peixes Cichlidae é um dos exemplos mais notórios neste sentido e sua fama como modelo evolutivo vem justamente de uma rápida e grande diversificação (RIDLEY, 2004).

Nos grandes lagos do oriente africano, assim como nos rios que estão a sua volta, surgiram mais de 1.500 espécies endêmicas de peixes pertencentes à família dos ciclídeos em poucos milhões de anos. Esta família se diversificou rapidamente, originando espécies com diferentes adaptações ecológicas, por isso elas representam o principal modelo de especiação rápida para estudos na biologia evolutiva. A quantidade de espécies, o grau de especiação ecológica e morfológica e a rápida formação de linhagens são as características que contribuem para que elas sejam tão utilizadas em pesquisas evolutivas. Os casos mais estudados são os do conjunto de ciclídeos dos lagos do leste africano, principalmente os lagos Victoria, Malawi e Tanganyika. Apenas no lago Malawi se originaram entre 500 a 800 espécies endêmicas (CLABAUT et al., 2005; STURMBAUER et al., 2010; BALDO et al., 2011; JOYCE et al., 2011).

Dois considerações têm sido gerais quando se trata dos ciclídeos. A primeira é que a variada taxa de especiação que eles possuem é explicada pela oportunidade ecológica e a segunda diz que a diferença entre a família dos ciclídeos e a de outros peixes, com relação a sua tendência irradiativa é explicada por uma inovação evolutiva específica, a *evolutionary key* (SEEHAUSEN, 2006).

Deste modo, as comparações filogenéticas têm sido úteis para verificar as relações macroevolutivas entre as estruturas de espécies muito diferentes, como a do cérebro por exemplo, porém tais comparações podem ser feitas tanto no nível morfológico quanto molecular (GONZALEZ-VOYER & KOLM, 2010). Apesar de a filogenia molecular estar revolucionando o modo de como é pensada a biogeografia, ela deve estar pautada em regiões do DNA que expressem a história evolutiva das

espécies, tornando-se desta forma confiável e podendo desta forma servir na orientação de revisões taxonômicas, caso contrário as análises filogenéticas poderão mais prejudicar do que ajudar na tentativa de unir as relações evolutivas (HULSEY et al., 2011).

Para que as relações filogenéticas sejam inferidas podem ser utilizadas, também, técnicas de morfometria e geometria que comparem as características genéticas. Porém, muitas pesquisas não utilizam somente a morfometria, mas associam características morfológicas às moleculares, como fizeram STEWART & ALBERTSON (2010) ao utilizarem dados moleculares e morfométricos para investigarem a evolução craniofacial dos ciclídeos do leste africano.

Com o avanço da genética e da biologia molecular, surgiram recursos tecnológicos como a *Polimerase Chain Reaction* (PCR) e o sequenciamento do DNA. Através destas técnicas foi possível estabelecer marcadores genéticos e verificar sequências específicas do DNA que podem ser úteis na identificação, caracterização e avaliação de recursos genéticos (FALEIRO, 2007).

Segundo MACHADO (2007), a ciência pode ser estudada através de seus aspectos quantitativos, e com isso gerar indicadores de desempenho do desenvolvimento científico e tecnológico que podem auxiliar na tomada de decisão para a elaboração de um projeto de pesquisa. Sendo assim, a bibliometria ou cienciometria, que é uma das áreas de estudo da ciência da informação, é importante na análise da produção científica tanto de uma região de abrangência, quanto a de determinada área científica (MACIAS-CHAPULA, 1998).

O objetivo deste trabalho foi verificar as principais regiões do DNA e demais características associadas aos estudos filogenéticos em ciclídeos, visando fornecer subsídios para o delineamento experimental de futuras pesquisas com ciclídeos neotropicais.

MATERIAL E METODOS

Neste trabalho, realizou-se uma análise bibliométrica visando a identificação de regiões do DNA utilizadas como marcadores em estudos filogenéticos na família dos ciclídeos. Através dos dados coletados foram apontados os principais marcadores utilizados e retratado o desenvolvimento dessa área.

Para o desenvolvimento deste levantamento bibliométrico, foi realizada uma pesquisa delimitada aos artigos encontrados no banco de dados *PubMed*, um banco de dados internacional de artigos científicos das mais diversas áreas das ciências biológicas e da saúde. A escolha do *PubMed* se deve ao fato de que este banco de dados é uma das principais base de alocação de artigos científicos internacionais, assim como encontra-se disponível gratuitamente para pesquisas *online*.

A estratégia para a busca no banco de dados foi a de utilizar as palavras-chave “phylogeny” e “Cichlidae” em conjunto. Os resumos foram lidos durante a busca para verificar previamente a correspondência do mesmo aos parâmetros de interesse.

Para que os artigos participassem da amostra os mesmos deveriam utilizar algum marcador molecular ou sequência de DNA específica, características morfológicas ou ambos e como objetivo deveriam buscar a resolução de algum problema de classificação taxonômica ou filogenética.

Aqueles artigos que não se enquadraram na descrição acima, assim como os artigos de revisão, não participaram da constituição da amostra. Foram considerados todos os artigos encontrados, independentemente do ano de

publicação.

Os artigos encontrados foram lidos, tabulados e separados por ano de publicação, objetivos e tipo de característica utilizada (morfológico e/ou molecular).

O levantamento ocorreu entre os meses de novembro de 2011 e janeiro de 2012. Os artigos foram recuperados, lidos e catalogados. Os dados foram tabulados e os resultados expressos em função de seu número relativo. Para a finalização da recuperação dos artigos, uma última revisão dos artigos no banco de dados foi realizada no último dia de janeiro de 2012.

RESULTADOS

Durante a busca foram encontrados 273 artigos, dos quais 147 (53,85%) constituíram a amostra para a análise, pois enquadraram-se nos critérios estabelecidos para a pesquisa. Dos artigos não incluídos na amostra muitos estavam relacionados a pesquisas com parasitos e com estudos de fisiologia nos ciclídeos. Os que se referiam a parasitos estavam relacionados à área taxonômica dos mesmos e não discutiam a relação de marcadores para a filogenia de ciclídeos.

Entre os 147 artigos obtidos como amostra, 60 (41%) utilizaram somente marcadores moleculares do DNA nuclear, 40 (27%) utilizaram somente marcadores moleculares do DNA mitocondrial, 31 (21%) utilizaram dados moleculares do DNA nuclear e mitocondrial associados, 6 (4%) utilizaram características morfológicas associados ao DNA nuclear, 3 (2%) utilizaram somente características morfológicas, 3 (2%) utilizaram a morfologia aos dados moleculares do DNA nuclear e mitocondrial e 4 (3%) utilizaram a morfologia associados aos dados do DNA mitocondrial (Figura 1).

Entre as características morfológicas mais utilizadas para a filogenia dos ciclídeos estão às que utilizaram alguma medida do cérebro, perfazendo um total de nove marcadores (bulbo olfatório, cerebelo, hipotálamo, peso do cérebro, telencéfalo), a mandíbula faríngea (4), a coloração (2) e a dentição (2).

Os marcadores do DNA nuclear foram os mais utilizados dentre os artigos analisados, compreendendo 100 destes, seguido por uma diferença de 22 artigos em relação aos marcadores mitocondriais e 84 em relação aos morfológicos.

Quatro famílias, sendo uma delas subfamília dos *receptores acoplados à proteína G*, de genes foram mais frequentes dentre os 100 artigos que utilizaram algum marcador molecular do DNA nuclear, sendo que 13 (13%) artigos utilizaram genes da subfamília *Opsin*, 10 (10%) artigos utilizaram genes da família *S Ribossomal*, oito (8%) artigos utilizaram genes da família *RING-type zinc fingers* e oito (8%) artigos utilizaram genes da família de *receptores acoplados à proteína G*. Entre as regiões nucleares mais utilizadas destacam-se as ligadas aos *loci rag* (13), *ghsr* (13), *hox* (11), *parahox* (4) e *its* (2).

Dentro das categorias que utilizaram DNA mitocondrial, compreendendo 78 artigos, três famílias foram mais frequentes, 41 artigos (52,56%) utilizaram genes ligados à *Região controle*, 32 (41,02%) utilizaram genes da família *citocromo-b* e 29 artigos (37,17%) utilizaram genes da família *Mitochondrial respiratory chain/Complex I*.

Na Figura 2 é possível observar o aumento progressivo das publicações relacionadas à filogenia de ciclídeos que utilizaram marcadores moleculares ao longo das últimas décadas.

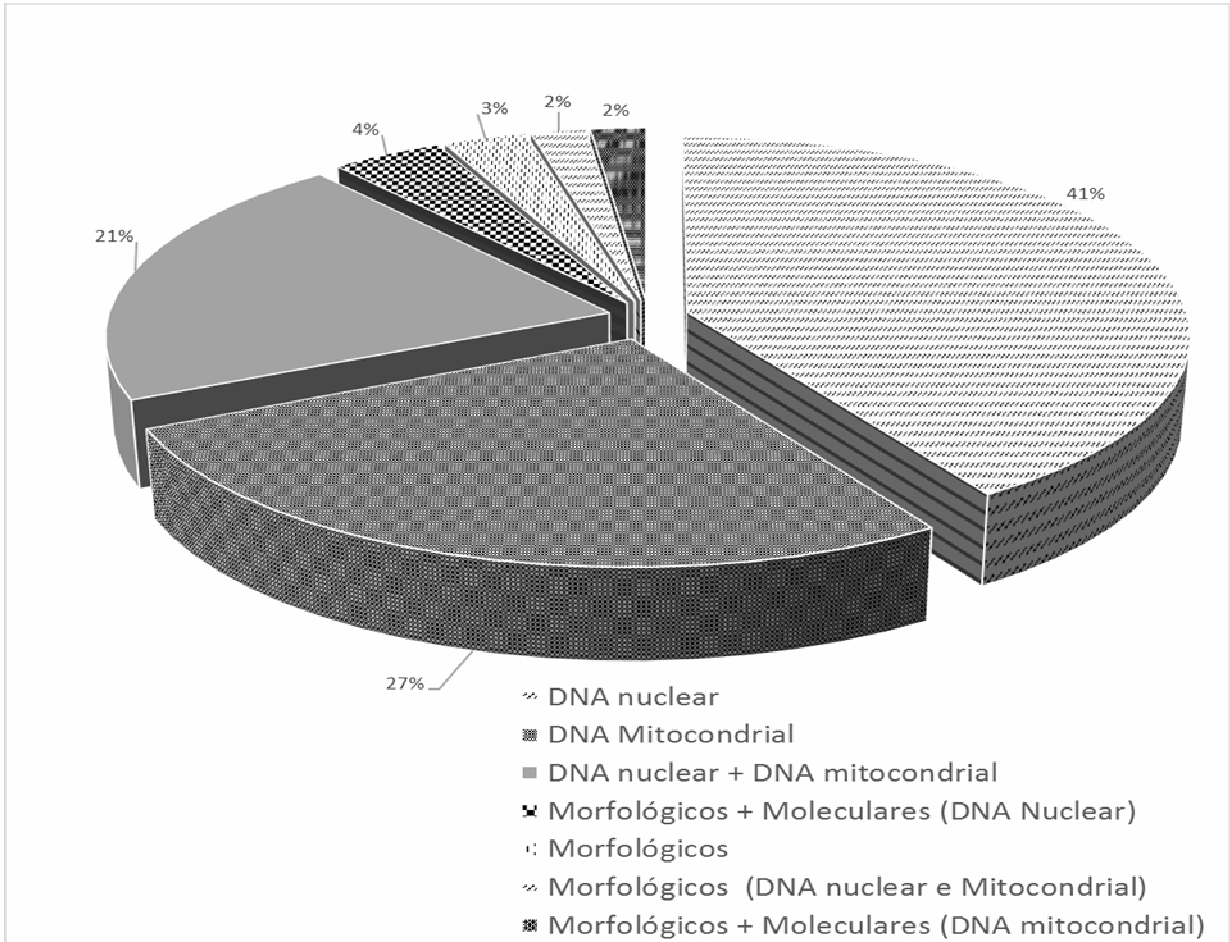


FIGURA 1: Frequência de marcadores das seguintes categorias: DNA nuclear, DNA mitocondrial, DNA nuclear + DNA mitocondrial, marcadores morfológicos + molecular (DNA nuclear), marcadores morfológicos, marcadores morfológicos + molecular (DNA nuclear e mitocondrial).

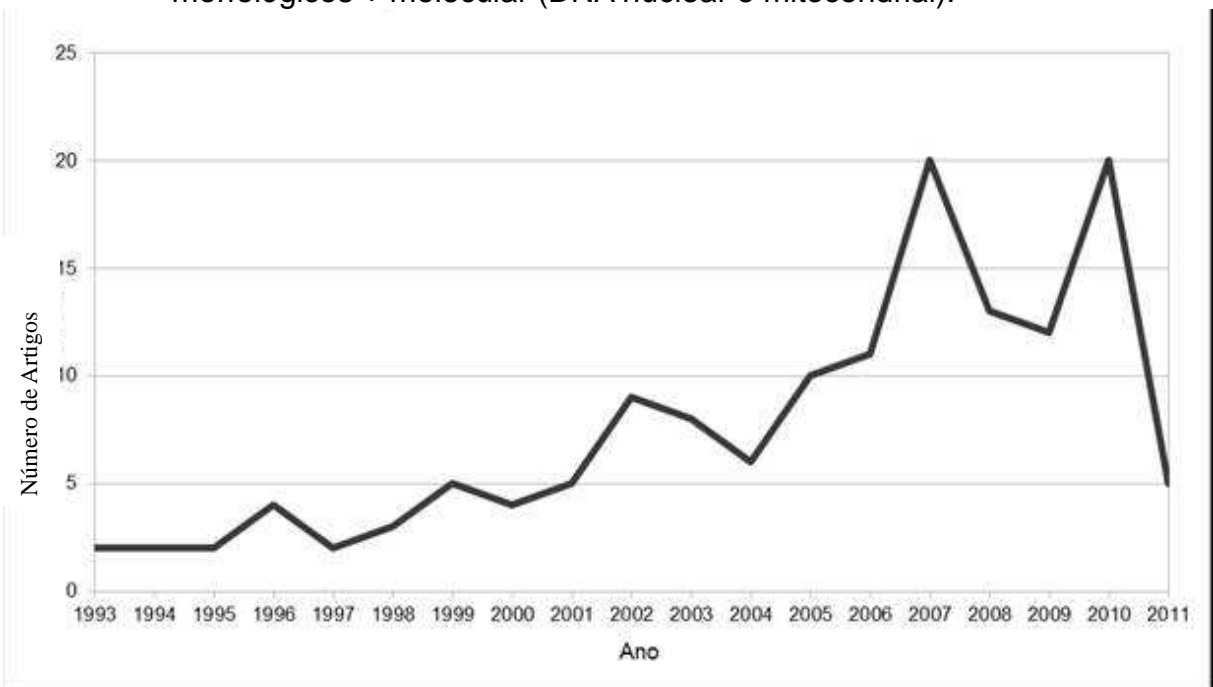


FIGURA 2: Publicações de artigos relacionados à filogenia de ciclídeos utilizando marcadores moleculares por ano.

Os marcadores nucleares apresentaram a maior variedade de genes, totalizando 150 marcadores diferentes, destes, 69 foram de microssatélites, já os marcadores mitocondriais apresentaram 10 genes diferentes (Figura 3).

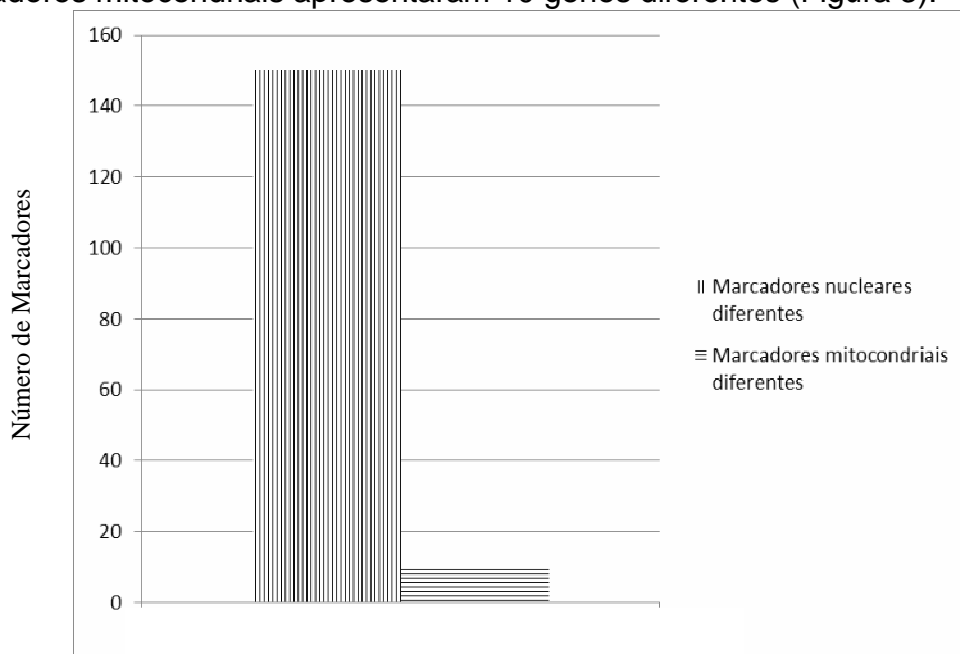


FIGURA 3: Número de diferentes regiões do DNA nuclear e do DNA mitocondrial encontradas.

A soma dos marcadores utilizados nos artigos é diferente da soma dos trabalhos. É necessário ressaltar que o número de marcadores pode ser maior do que um em cada artigo na maioria das vezes. Por este motivo, mesmo que o artigo tenha utilizado apenas marcadores nucleares por exemplo, ele geralmente utilizou mais que um marcador nuclear. A mesma lógica serve para marcadores morfológicos e marcadores nucleares.

DISCUSSÃO

Uma pequena parte (2%) dos artigos amostrados utilizaram exclusivamente estruturas morfológicas para inferências evolutivas. Este tipo de análise parece ser importante para verificar a natureza da radiação adaptativa dos ciclídeos através da identificação de padrões observados nas estruturas morfológicas, pois as alterações em determinadas estruturas podem contribuir para a modificação do nicho da espécie e posteriormente causar seu isolamento levando a uma possível especiação sendo que estas encontram-se entre as principais causas de especiação simpátrica. GONZALEZ-VOYER et al. (2009) e COOPER et al. (2010), defendem a importância da utilização das estruturas morfológicas para verificação da origem adaptativa da radiação nos ciclídeos, e também que elas permitem e direcionam os eventos evolutivos, entretanto o baixo número destas pesquisas parece refletir a dificuldade intrínseca a este processo.

De acordo com os resultados obtidos, a utilização de dados moleculares supera a utilização de marcadores morfológicos quando se trata da filogenia de ciclídeos, mas como STURMBAUER et al. (2010) e HULSEY et al., (2011) alertam, ao utilizar somente um tipo de marcador molecular para a filogenia, deve-se levar em conta a confiabilidade dos dados e os marcadores a serem utilizados, caso contrário

o pesquisador pode tirar conclusões precipitadas que provavelmente o induzirão ao erro. Há também as pesquisas que associam ambos os marcadores, moleculares e morfológicos.

Tal associação parece ser útil para provar que algumas características morfológicas evoluíram por convergência, não as considerando isoladamente, provavelmente devido a uma grande quantidade de espécies de ciclídeos apresentarem estruturas bastante semelhantes que podem ter origem ancestral diferente, aumentando a confiabilidade da filogenia, como fizeram KASSAM et al. (2006) e GONZALEZ-VOYER & KOLM (2010). Da mesma maneira o contrário parece acontecer, assim, a divergência também pode ser percebida por este tipo de análise, concluindo que as características morfológicas tiveram origem ancestral comum (HULSEY et al., 2010).

Essa associação também foi utilizada para verificar o tipo de especiação, simpátrica ou alopátrica. ELMER et al. (2010) estudaram populações de ciclídeos de lagos existentes em crateras que são isolados geograficamente e avaliaram se os fenótipos de lábios finos ou espessos originaram-se através de uma especiação simpátrica. Mesmo tendo uma distribuição bimodal dos dois fenótipos a variação genética entre as espécies não foi significativa.

Mas foram poucos os artigos que utilizaram marcadores morfológicos associados aos moleculares, aproximadamente 9% dos artigos da amostra. Ao serem considerados apenas os dados moleculares, pode-se perceber que 89% dos artigos contemplam esta categoria, mostrando a relevância deste tipo de marcador dentro da filogenia de ciclídeos. Tal fato parece ocorrer devido às semelhanças que as espécies de ciclídeos apresentam, dificultando a inferência de filogenia dependente das características morfológicas, podendo levar a um posicionamento errado da espécie dentro da árvore filogenética por não garantir se as espécies possuem o mesmo ancestral ou ancestrais diferentes (AMORIM, 2002).

Os ciclídeos são conhecidos como modelo evolutivo por causa da sua rápida especiação, observada principalmente nos grandes lagos africanos. Eles apresentam um grande número de adaptações morfológicas, ecológicas e comportamentais (HE et al., 2011). Mas algumas adaptações são muito parecidas, logo, se a filogenia for inferida somente através de estruturas morfológicas, não há como saber se esta característica é divergente ou convergente, provavelmente é por este motivo que os marcadores moleculares são tão relevantes na reconstrução da história evolutiva desta família de peixes.

Dentro da categoria dos marcadores moleculares, aqueles do DNA nuclear foram utilizados na maior parte (68%) dos artigos amostrados. Isto parece ocorrer devido à utilização de microssatélites e de técnicas de análise de polimorfismo de regiões ao acaso que são realizadas utilizando-se o DNA nuclear como no caso da *Randon Amplified Polimorphic DNA* (RAPD) que foram incluídas nesta categoria.

Tanto os marcadores moleculares nucleares quanto mitocondriais apresentaram famílias de genes ou marcadores que se destacaram devido a sua frequente utilização. Quando observados os marcadores moleculares do DNA nuclear, a subfamília *Opsin* foi a mais utilizada, seguida pela S Ribossomal, *RING-type zinc fingers* e a dos receptores acoplados à proteína G.

O marcador mais frequente do DNA mitocondrial foi a região controle (RC), seguida pelo citocromo *b* (*cytb*) e pelos genes da família da cadeia respiratória mitocondrial/Complexo I. Dentre as regiões mais utilizadas quando consideradas tanto as regiões mitocondriais quanto as nucleares citadas acima, as mitocondriais

foram as mais frequentes, sendo empregados 103 vezes, estando ou não presentes no mesmo artigo, enquanto as famílias de genes nucleares mais frequentes somaram 39 vezes.

Esta assimetria é reflexo do tamanho do pequeno genoma mitocondrial, possuindo poucas regiões para serem analisadas, por isso não é possível ter uma variedade tão grande de marcadores quanto os nucleares. Logo, por ter poucas regiões, quando ele é utilizado haverá a frequente utilização de poucos marcadores, como pode ser percebido nesta análise. Algumas regiões são altamente conservadas ou altamente variáveis. A região controle, por exemplo, é a região não codificante do genoma mitocondrial, constituindo a que mais acumula mutações, e o citocromo-b é bastante utilizado para inferir filogenias recentes, que é o caso dos ciclídeos, principalmente os dos grandes lagos africanos (FARIAS et al., 2001; MACHADO, 2006).

Os genes da subfamília *Opsin* têm se destacado porque sua expressão está diretamente ligada aos pigmentos visuais que os peixes possuem, influenciando na escolha de habitat, captura de alimento e na seleção sexual quando a coloração faz parte da corte (NAGAI et al., 2010; SMITH et al., 2010). Os genes *opsins* que os ciclídeos possuem são divididos em dois grupos, os *cone opsins*, compostos por sete genes (SWS1, SWS2b, SWS2a, RH2b, RH2a, RH2a α , RH2a β , e LWS), e um gene *rod opsin* (RH1). Os *cone opsins* estão relacionados com a visão de cores e alta intensidade de luz, enquanto o *rod opsin* é responsável pela visão em locais de baixa intensidade de luz (O'QUIN et al., 2010). A expressão dos *opsins* parece influenciar diretamente a possível especiação dos ciclídeos, uma vez que podem relacionar-se diretamente com seu nicho e reprodução (RIDLEY, 2004).

Ao se observar a produção anual de artigos, é possível perceber que a utilização dos marcadores moleculares vem se intensificando no decorrer dos anos com uma intensa tendência de aumento. Provavelmente as quedas bruscas no número de publicações relacionadas à filogenia de ciclídeos, como entre os anos de 2007 e 2010, podem ser devido aos ciclos produtivos de pesquisas dos grupos, pois logo após essa queda há um aumento no número de artigos publicados no ano seguinte.

Este aumento pode estar ligado à diminuição dos custos para utilizar técnicas moleculares, à maior acessibilidade aos equipamentos necessários e à capacitação dos pesquisadores, pois são muitas as instituições de pesquisa onde técnicas desse tipo se tornaram rotineiras. A divulgação e disponibilização de novas sequências de genes em bancos de dados *online* também podem contribuir para o aumento das publicações, pois os pesquisadores são capazes de desenvolver seus trabalhos a partir destes dados sem ter que passar por todo o processo necessário para o sequenciamento destes marcadores.

CONCLUSÃO

A associação de marcadores visando reduzir os erros para a filogenia de ciclídeos é recomendada, pois sua utilização de forma isolada pode levar a conclusões erradas durante o posicionamento das espécies em uma árvore filogenética, principalmente quando se trata de caracteres morfológicos apenas. Os genes *opsins* mostram-se como uma boa opção de marcadores nucleares para o estudo filogenético de ciclídeos, pois seu polimorfismo pode refletir na variação de comportamentos.

A associação entre genes nucleares e mitocondriais parece ser bastante promissora, pois enquanto os genes mitocondriais podem proporcionar dados que

podem ser associados à taxa evolutiva de modo mais preciso, desde que sejam espécies próximas, os genes nucleares podem dar a ancestralidade em uma escala maior de tempo, dado seu nível de conservação. Os resultados apontam para possíveis combinações entre combinação de regiões do DNA mitocondrial e nuclear para filogenias mais precisas também no grupo de ciclídeos neotropicais.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, D. S. **Sistemática e filogenética**. São Paulo: Holos, 2002. 156p.
- BALDO, L.; SANTOS, M. E.; SALZBURGER, W. Comparative transcriptomics of Eastern African cichlid fishes shows signs of positive selection and a large contribution of untranslated regions to genetic diversity. **Genome Biology and Evolution**, v.1, p.443-455, 2011.
- CLABAUT, C.; SALZBURGER, W.; MEYER, A. Comparative phylogenetic analyses of the adaptive radiation of Lake Tanganyika cichlid fish: nuclear sequences are less homoplasious but also less informative than mitochondrial DNA. **Journal of Molecular Evolution**, v.61, p.666-681, 2005.
- COOPER, W. J.; PARSONS, K.; McINTYRE, A.; KERN, B.; MCGEE-MOORE, A.; ALBERTSON, R. C. Benthic-pelagic divergence of cichlid feeding architecture was prodigious and consistent during multiple adaptive radiations within African Rift-Lakes. **PLoS One**, v.5, n.3, p. e9551, 2010.
- ELMER, K. R.; LEHTONEN, T.; KAUTT, A. Rapid sympatric ecological differentiation of crater lake cichlid fishes within historic times. **BMC Biology**, v.8, n.60, 2010.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Distrito Federal: Embrapa, 2007. 102p.
- FARIAS, I. P.; ORTÍ, G.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H.; MEYER, A. The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 53, p. 89-103, 2001.
- GONZALEZ-VOYER, A.; KOLM, N. Sex, ecology and the brain: evolutionary correlates of brain structure volumes in Tanganyikan cichlids. **PLoS One**, v.3, n.12, p. e14355, 2010.
- GONZALEZ-VOYER, A.; WINBERG, S.; KOLM, N. Brain structure evolution in a basal vertebrate clade: evidence from phylogenetic comparative analysis of cichlid fishes. **BMC Evolutionary Biology**, v.9, p.238, 2009.
- GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. **Introduction to genetic analysis**. 9.ed. New York: W. H. Freeman, 2008. 712p.
- HE, A.; LUO, Y.; YANG, H.; LIU, L.; LI, S.; WANG, C. Complete mitochondrial DNA sequences of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Blue tilapia (*Oreochromis aureus*): genome characterization and phylogeny applications. **Molecular Biology Reports**, v.38, p. 2015-2021, 2011.

HULSEY, C. D.; MIMS, M. C.; PARNELL, N. F.; STREELMAN, J. T. Comparative rates of lower jaw diversification in cichlid adaptive radiations. **Journal of Evolutionary Biology**, v.23, p.1456-1467, 2010.

HULSEY, C. D.; BENJAMIN, P. K.; HOLLINGSWORTH, P. R. Jr. Species tree estimation and the historical biogeography of heroine cichlids. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.58, p.124-131, 2011.

JOYCE, D. A.; LUNT, D. H.; GENNER, M. J.; TURNER, G. F.; BILLS, R.; SEEHAUSEN, O. Repeated colonization and hybridization in Lake Malawi cichlids. **Current Biology**, v.21, n.3, p. R108-R109, 2011.

KASSAM, D.; SEKI, S.; HORI, M.; YAMAOKA, K. Nuclear markers reveal that inter-lake cichlids' similar morphologies do not reflect similar genealogy. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.40, p.383-388, 2006.

MACHADO, C. **Diferenciação molecular de duas espécies de peixes antárticos do gênero *Notothenia* (Notothenioidei: Nototheniidae) através da análise do DNA mitocondrial**. 2006. 23f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Setor de Ciências Biológicas – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MACHADO, R. N. Análise cientométrica dos estudos bibliométricos publicados em periódicos da área de biblioteconomia e ciência da informação (1990 – 2005). **Perspectivas em Ciência da Informação**, v.12, n.3, p.2-20, 2007.

MACIAS-CHAPULA, C. A. O papel da informetria e cienciometria e sua perspectiva nacional e internacional. **Ciência da Informação**, v.27, n.2, p.134-140, 1998.

NAGAI, H.; TERAJ, Y.; SUGAWARA, T.; IMAI, H.; NISHIHARA, H.; HORI, M.; OKADA, N. Reverse evolution in RH1 for adaptation of cichlids to water depth in Lake Tanganyika. **Molecular Biology and Evolution**, v.26, n.6, p.1769-1776, 2010.

O'QUIN, K. E., HOFMANN, C. M.; HOFMANN, H. A.; CARLETON, K. L. Parallel evolution of *opsin* gene expression in African cichlid fishes. **Molecular Biology and Evolution**, v.27, n.12, p.2839-2854, 2010.

RIDLEY, M. **Evolution**. 3. ed. Massachusetts: Blackwell Publishing, 2004. 751p.

SEEHAUSEN, O. African cichlid fish: a model system in adaptive radiation research. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.273, p.1987-1998, 2006.

SMITH, A. R.; D'ANNUNZIO, L.; SMITH, A. E.; SHARMA, A.; HOFMAAN, C. M.; MARSHALL, N. J.; CARLETON, K. L. Intraspecific cone *opsin* expression variation in the cichlids of Lake Malawi. **Molecular Ecology**, v.20, p.299-310, 2010.

STEWART, T. A; ALBERSTON, R. C. Evolution of a unique predatory feeding apparatus: functional anatomy, development and a genetic locus for jaw laterality in Lake Tanganyika scale-eating cichlids. **BMC Biology**, v. 8, n.8, 2010.

STURMBAUER, C.; SALZBURGER, W.; DUFTNER, N.; SCHELLY, R.; KOBLMÜLLER, S. Evolutionary history of the Lake Tanganyika cichlid tribe Lamprologini (Teleostei: Perciformes) derived from mitochondrial and nuclear DNA data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.57, n.1, 266-284, 2010.