



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

EVELINY RODRIGUES BELÉM

**O INÍCIO DA ERA GENÉTICA DE CETÁCEOS DO BRASIL: SEQUÊNCIAS DE DNA
GERADAS POR MANUEL FURTADO NETO**

FORTALEZA

2021

EVELINY RODRIGUES BELÉM

O INÍCIO DA ERA GENÉTICA DE CETÁCEOS DO BRASIL: SEQUÊNCIAS DE DNA
GERADAS POR MANUEL FURTADO NETO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Vicente Vieira Faria

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B375i Belém, Eveliny Rodrigues.
O início da era genética de cetáceos do Brasil : sequências de DNA geradas por Manuel Furtado Neto / Eveliny Rodrigues Belém. – 2021.
20 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Vicente Vieira Faria.

Coorientação: Prof. Dr. João Eduardo Pereira de Freitas.

1. Marcadores moleculares. 2. Citocromo b. 3. COI. 4. Baleias. 5. Golfinhos. I. Título.

CDD 570

EVELINY RODRIGUES BELÉM

O INÍCIO DA ERA GENÉTICA DE CETÁCEOS DO BRASIL: SEQUÊNCIAS DE DNA
GERADAS POR MANUEL FURTADO NETO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 02/09/2021.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Vicente Vieira Faria (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Rodrigo Maggioni

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Livio Moreira de Gurjão

Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA)

Ma. Luara Hanna Oliveira Falcão

Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do Pará (UFPA)

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial minha mãe e minhas irmãs, que sempre me incentivaram a estudar e ir em busca dos meus sonhos, estando presentes em todas as fases da minha vida, me dando apoio e me motivando em diversas situações. Serei eternamente grata por tudo.

Aos meus amigos, Byanca Cavalcante, Mariany Oliveira, Lucas Santos, Wesley Araújo, Matheus Bessa, Francisco José, Larissa Maia, Alane Pastor e Clairton Pereira, que me ajudaram nessa caminhada e me fizeram companhia durante a graduação. Espero que esse carinho e amizade continue por muitos anos.

À minha namorada Elânia Sena, por todo apoio, cuidado, companheirismo, paciência e amor.

Ao Dr. Vicente Faria por ter aceitado me orientar mesmo nesse período tão conturbado de pandemia e por sempre se fazer presente mesmo com tantas outras atribuições. Sou-lhe grata por todo suporte, aprendizado e orientação.

Ao Dr. Rodrigo Maggioni, ao Dr. Livio Gurjão, à Ma. Luara Falcão, pela participação na banca do meu Trabalho de Conclusão de Curso.

Ao Dr. João Eduardo Pereira de Freitas, à Johanna Vidal, acadêmica do curso de Oceanografia da UFC, por todo suporte neste trabalho.

À Ana Caroline M. V. de Andrade Furtado, por todo material do Manuel Furtado Neto (cadernos de laboratório, manuscritos não publicados, etc.) disponibilizados para esta pesquisa.

Por fim, agradeço à todos que me ajudaram de alguma forma na minha construção pessoal e na produção desse trabalho, mas que não foram mencionadas.

RESUMO

Os primeiros estudos genéticos abordando cetáceos do Brasil foram iniciados em 1994 por Manuel Antonio de Andrade Furtado Neto, como parte de seu doutorado na Memorial University of Newfoundland, no Canadá. Através de sua pesquisa de tese, ele forneceu a primeira evidência genética de que o boto-cinza (*Sotalia guianensis*) e o tucuxi (*Sotalia fluviatilis*) eram espécies diferentes. Durante sua trajetória, realizou diversas contribuições científicas e aplicadas à conservação de cetáceos, até seu falecimento prematuro em 2019. A partir de uma revisão de seus textos científicos bem, como arquivos pessoais, incluindo cadernos de laboratórios, arquivos de alinhamento de sequências e manuscritos impressos não publicados, o presente estudo revelou que, ao longo de sua carreira, Furtado Neto gerou 42 sequências de DNA de 21 espécies de cetáceos do Canadá e do Brasil. Considerando as sequências obtidas de amostras coletadas de cetáceos do Brasil (n = 32), ele sequenciou quase 1/3 das espécies que ocorrem no Brasil (14 de 47 espécies). Ainda, se considerarmos ao nível taxonômico de família, suas sequências de DNA abrangem mais de 3/4 das famílias que ocorrem no Brasil (sete de um total de nove famílias). As sequências oriundas de amostras tanto do Canadá quanto do Brasil contemplam dois genes mitocondriais: citocromo oxidase I (COI; n = 11; 495 bp) e citocromo b (Cytb; n = 31; 365 bp). Dessas 42 sequências: (a) apenas 13 estão publicamente disponíveis no banco de dados Genbank; (b) 15 foram incluídas em textos científicos, porém nunca disponibilizadas no Genbank; e (c) 14 permanecem inéditas até o presente estudo. Apesar destas sequências terem sido geradas a mais de duas décadas, as 29 sequências nunca antes depositadas no GenBank ainda guardam os seguintes ineditismos em relação as sequências atualmente disponíveis no GenBank: (a) três serão as primeiras, para qualquer região do genoma, obtidas de exemplares de suas respectivas espécies (*Orcinus orca*, *Ziphius cavirostris* e *Mesoplodon densirostris*) a partir de coletas no Brasil; (b) cinco serão as primeiras sequências do Cytb obtidas de exemplares de suas respectivas espécies (*Megaptera novaeangliae*, *Physeter macrocephalus*, *Peponocephala electra*, *Stenella frontalis* e *Stenella longirostris*) a partir de coletas no Brasil; (c) duas serão as primeiras para COI e Cytb obtidas de um exemplar de *Pontoporia bleinvillei* a partir de coletas no Brasil; (d) e duas serão as primeiras para COI e Cytb obtidas de um exemplar de *Lagenorhynchus acutus* a partir de coletas no Canadá.

Palavras-chave: Marcadores moleculares, Citocromo b, COI, baleias, golfinhos.

ABSTRACT

The first genetic studies addressing cetaceans in Brazil were initiated in 1994 by Manuel Antonio de Andrade Furtado Neto as part of his doctorate at the Memorial University of Newfoundland, Canada. Through his thesis research, he provided the first genetic evidence that the Guiana dolphin (*Sotalia guianensis*) and the tucuxi (*Sotalia fluviatilis*) were different species. During his career, he made several scientific and applied contributions to the conservation of cetaceans, up until his premature passing in 2019. After a review of his scientific texts as well as personal files, including laboratory notebooks, sequence alignment files, and unpublished printed manuscripts, the present study revealed that, throughout his career, throughout his career, Furtado Neto generated 42 DNA sequences of 21 species of cetaceans from Canada and Brazil. Taking into account sequences obtained from tissue samples collected from cetaceans in Brazil ($n = 32$), he sequenced almost 1/3 of the species that occur in the in the country (14 of 47 species). Also, if we consider the family taxonomic level, his DNA sequences span more than 3/4 of the families that occur in Brazil (seven out of a total of nine families). The sequences from both Canada and Brazil are from two mitochondrial genes: cytochrome oxidase I (COI; $n = 11$; 495 bp) and cytochrome b (Cytb; $n = 31$; 365 bp). Of these 42 sequences: (a) only 13 are publicly available in the Genbank database; (b) 15 were included in scientific texts, but never made available on Genbank; and (c) 14 remained unpublished until the present study. Even though these sequences were generated more than two decades ago, the 29 sequences never before deposited in GenBank still have the following novelties in relation to sequences currently available in GenBank: (a) three will be the first, for any region of the genome, obtained from specimens of their respective species (*Orcinus orca*, *Ziphius cavirostris* e *Mesoplodon densirostris*) from collections in Brazil; (b) five will be the first Cytb sequences obtained from specimens of their respective species (*Megaptera novaeangliae*, *Physeter macrocephalus*, *Peponocephala electra*, *Stenella frontalis* e *Stenella longirostris*) from collections in Brazil; (c) two will be the first for COI and Cytb obtained from a specimen of *Pontoporia bleinvillei* collected in Brazil; (d) and two will be the first for COI and Cytb obtained from a specimen of *Lagenorhynchus acutus* collected in Canada.

Key words: Molecular markers, Cytochrome b, COI, whales, dolphins.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	MATERIAL E MÉTODOS	12
3	RESULTADOS	12
4	DISCUSSÃO	16
5	CONCLUSÕES	17
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	17
	REFERÊNCIAS	17

1 INTRODUÇÃO

Com representantes em todos os oceanos e ciclo de vida inteiramente aquático, os cetáceos (botos, baleias e golfinhos) são animais que se distribuem por uma ampla variedade de habitats, com espécies cosmopolitas e outras de distribuição endêmica, podendo alcançar comprimentos gigantescos (LODI; BOROBIA, 2013). Algumas dessas características tornam difíceis a coleta de dados e estudo desses animais, como por exemplo a dificuldade de se amostrar o vasto ambiente marinho, bem como, em certos casos, a baixa abundância das populações de cetáceos. Nesse contexto, avanços no campo das técnicas de biologia molecular baseados no DNA vêm desempenhando um papel importante na pesquisa e conservação de animais marinhos (MORIN *et al.* 2021); também tiveram e têm tido crucial papel no estudo dos cetáceos. Por exemplo, tomando dois dos genes mais comumente utilizados em estudos envolvendo sequenciamento de DNA, os genes mitocondriais citocromo oxidase I (COI) e citocromo b (Cytb) já foram aplicados na identificação de carcaças (SHOLL *et al.*, 2013), detecção de híbridos (CABALLERO; BAKER, 2009), comércio ilegal (SHOLL *et al.*, 2008; CUNHA *et al.*, 2015; FALCÃO *et al.*, 2017), novas espécies (DALEBOUT *et al.*, 2002; DALEBOUT *et al.*, 2004; CUNHA *et al.*, 2005; HRBEK *et al.*, 2014; ROSEL *et al.*, 2021), estrutura de populações (CABALLERO *et al.*, 2010), filogeografia (SICILIANO *et al.*, 2016) e filogenética molecular (CUNHA *et al.*, 2011).

Os primeiros estudos genéticos de cetáceos abordaram cromossomos, incluindo a cariotipagem de espécies (MAKINO, 1948; NOWOSIELSKI-SLEPOWRON; PEACOCK, 1955; WALEN; MADIN, 1965; KASUYA, 1966; ARNASON, 1969, 1972, 1974, 1982). Na década de 1980, o uso da técnica de clonagem (SOUTHERN, S.; SOUTHERN, P.; DIZON, 1988) e da técnica de polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) (BAKER *et al.*, 1990; DOWLING; BROWN, 1993); permitiram um primeiro acesso direto ao DNA dos cetáceos. Foi então que, a partir do desenvolvimento da técnica reação em cadeia da polimerase (PCR), o DNA mitocondrial (mtDNA) completo do primeiro cetáceo foi sequenciado (ARNASON; GULLBERG; WIDEGREN, 1991) e uma série de estudos utilizando marcadores moleculares baseados em PCR foram realizados (HOELZEL, 1991). Desde então, o avanço das técnicas já permitiu o sequenciamento de genomas completos de cetáceos, incluindo, por exemplo, a espécie de cetáceo mais ameaçada do mundo, a vaquita (*Phocoena sinus*) (MORIN *et al.* 2021).

No Brasil, do início da década de 1990, nenhum dos laboratórios devidamente

equipados para o uso de marcadores moleculares baseados em DNA realizavam pesquisas com vertebrados marinhos (FURTADO NETO, 1998a). Foi então que os primeiros estudos genéticos envolvendo a fauna de cetáceos do país foram iniciados a partir dos esforços de Manuel Antonio de Andrade Furtado Neto, que foi um dos fundadores e coordenador do Grupo de Estudos de Cetáceos do Ceará (GECC), que posteriormente transformou-se no Programa de Mamíferos Marinhos da ONG Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos (Aquasis) (ver CARVALHO; MEIRELLES, 2020). Ao longo de sua carreira, Furtado Neto, participou de diversos estudos com cetáceos, incluindo, por exemplo, monitoramento (OLIVEIRA *et al.*, 1995), registros de ocorrência (ALVES-JÚNIOR *et al.*, 1996; MEIRELLES; FURTADO NETO, 2004; MARTINS *et al.*, 2004), morfologia (PARENTE *et al.*, 1999), capturas acidentais (MONTEIRO-NETO *et al.*, 2000), preservação (FURTADO NETO; MONTEIRO-NETO, 2000), alimentação (GURJÃO *et al.*, 2003a, 2003b, 2004) e comportamento (MONTEIRO-NETO *et al.*, 2004). Especificamente para o campo da genética, suas pesquisas se deram durante seu doutorado.

Furtado Neto realizou seu doutorado na Memorial University of Newfoundland, Canadá, sob a orientação de Steven Carr, entre 1994 e 1998. Em sua pesquisa, foi pioneiro no emprego da técnica de PCR e sequenciamento de DNA aplicada à pesquisa de vertebrados marinhos do Brasil, dedicando a maior parte de sua pesquisa de tese ao estudo de cetáceos. Esse esforço resultou no primeiro artigo científico publicado em que PCR e sequenciamento de DNA foram aplicados aos cetáceos do Brasil: a identificação de um golfinho rotador, *Stenella Longirostris*, na Bahia (FURTADO NETO *et al.*, 1998a).

Ainda por meio de sua pesquisa de tese de doutorado, Furtado Neto forneceu a primeira evidência genética de que o boto-cinza (*Sotalia guianensis*) e o tucuxi (*Sotalia fluviatilis*) eram espécies diferentes, época em que as duas espécies eram consideradas uma só (FURTADO NETO, 1998a; FURTADO NETO *et al.*, 1998b); ver também MONTEIRO-FILHO; MONTEIRO; DOS REIS, 2002, p. 132; CUNHA; SILVA; SOLÉ-CAVA, 2010, p. 4). A obtenção de dados genéticos adicionais robustos o suficiente para dar suporte inequívoco ao conceito de uma única espécie, incluindo ambos ecótipos de água doce e marinho, *S. guianensis*, foi realizada por outros cientistas apenas anos depois (CUNHA *et al.*, 2005; CABALLERO *et al.*, 2007).

Também como parte de sua pesquisa de doutorado, Furtado Neto liderou a investigação das relações filogenéticas dos cetáceos, utilizando sequências de genes mitocondriais (FURTADO NETO *et al.*, 1995; FURTADO NETO, 1998a, 1988b; FURTADO NETO; CARR, 1999). Na década de 1990, vários grupos de pesquisa no mundo

tentavam elucidar as relações entre esses organismos através da filogenia molecular (ARNASON; GULLBERG, 1991; MILINKOVITCH; ORTI; MEYER, 1993; MILINKOVITCH; MEYER; POWELL, 1994; GRAUR; HIGGINS, 1994; IRWIN; ARNASON, 1994; ARNASON; GULLBERG, 1996; MONTGELARD; CATZEFLIS; DOUZERY, 1997). De fato, esta questão até os dias atuais é objeto de pesquisa científica (CUNHA *et al.*, 2015; ARNASON *et al.*, 2018; MCGOWEN *et al.*, 2020).

Após um período dedicado à pesquisa de outros organismos marinhos, ensino, administração e extensão universitária, Furtado Neto retomou a aplicação de marcadores moleculares ao estudo de cetáceos. Isto culminou em dois estudos aplicados à identificação molecular de cetáceos: um deles propôs um protocolo de PCR-RFLP (FALCÃO *et al.*, 2014), ao passo que o outro abordou a estratégia de DNA barcode (FALCÃO *et al.*, 2017). Como parte deste último estudo, foram depositadas em um banco público de sequências de DNA, GenBank, as primeiras sequências do Brasil da espécie golfinho-cabeça-de-melão, *Peponocephala electra*, e da espécie cachalote, *Physeter macrocephalus*. Os últimos esforços de pesquisa genética de Furtado Neto estavam em linha com a pesquisa atualmente conduzida na área no país (SILVA *et al.*, 2021). Em 2019, Furtado Neto ensaiava um retorno mais integral à pesquisa de cetáceos à medida que reduzia suas atividades de administração universitária e iniciava a orientação de um doutorado intitulado ‘Impacto da pesca e monitoramento ambientais dos botos da Enseada do Mucuripe, Fortaleza, Ceará’. No entanto, seu falecimento prematuro em dezembro de 2019 (VETTORAZZI; FARIA, 2020), infelizmente, interrompeu esse processo.

Não obstante as relevantes contribuições científicas de Furtado Neto envolvendo cetáceos já estarem publicadas, a maior parte das sequências de DNA de diferentes espécies geradas por ele permaneceu pouco acessível, visto que, se encontravam somente em sua tese e/ou arquivos pessoais (esses últimos compartilhados por ele mesmo ainda em vida ou gentilmente cedidos por seus familiares à Vicente Faria). A maioria dos periódicos especializados em publicar pesquisas envolvendo dados moleculares solicita a disponibilização das sequências de DNA em bancos de dados online (e.g. GenBank e BOLD Identification Systems). Cada sequência de DNA, ao receber um código de identificação, fica disponível para consulta pública. Isto torna possível, por exemplo, a inclusão desses dados em novos estudos realizados por diferentes autores. Dado o exposto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a produção de Furtado Neto quanto a sequências de DNA de cetáceos, em especial as de espécies amostradas no Brasil, bem como contextualizar o grau de abrangência taxonômica e de novidade científica em relação

a outras sequências de DNA de cetáceos atualmente disponíveis no GenBank.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram compiladas todas as sequências de DNA de cetáceos geradas por Furtado Neto. Para isso, foram consultados textos científicos publicamente disponíveis (artigos científicos, tese de doutorado e resumos de congresso); bem como arquivos pessoais, incluindo cadernos de laboratórios, manuscritos impressos não publicados e arquivos de alinhamento de sequências (em CD e disquete); e o banco de dados Genbank. Sequências disponíveis apenas na forma impressa (n = 14) foram manualmente digitadas utilizando-se o *software* Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA).

Sequências de DNA geradas por Furtado Neto que ainda não haviam sido disponibilizadas no GenBank tiveram a sua procedência verificada através dos cadernos de laboratório e de manuscritos não publicados. Já quanto à identificação ao nível de espécie, cada sequência foi submetida à Ferramenta de Pesquisa de Alinhamento Local Básico (BLAST) (ALTSCHUL *et al.*, 1990), disponível no site da *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). A fim de obter valores percentuais de identidade para cada espécie, as sequências foram avaliadas através da análise BLASTn, que é mais apropriada para breve consultas de entrada, identificação de sequências curtas e pesquisas entre espécies (Falcão *et al.*, 2017).

Uma vez que as sequências inéditas (ainda não depositadas no Genbank) tiveram suas identidades confirmadas, cada uma delas foi caracterizada quanto a: (a) família; (b) local de coleta da amostra (local, país, ano); (c) coletor(es) ou fornecedor(es) das amostras; (d) gene; (e) código identificador provisório da sequência; (f) taxa de cobertura da sequência; (g) E-value; (h) percentual de identidade BLASTn com sequência disponível no GenBank; e (i) grau de novidade quanto à sequências de DNA atualmente disponíveis no GenBank.

3 RESULTADOS

Furtado Neto gerou 42 sequências de DNA de dois genes mitocondriais, citocromo oxidase I - COI (n = 11; 495 bp) e citocromo *b* – Cytb (n = 31; 365 bp), a partir de amostras de 21 espécies de cetáceos do Brasil e do Canadá. Dessas 42 sequências: (a) apenas 13 estão publicamente disponíveis no banco de dados Genbank; (b) 15 foram incluídas em textos

científicos, porém nunca disponibilizadas no Genbank; e (c) 14 permanecem inéditas até o presente estudo. As 29 sequências inéditas em relação ao GenBank estão descritas na Tabela 1. Na Tabela 2, estão as informações do gene e percentual de identificação de cada sequência.

Aproximadamente 3/4 das sequências de DNA geradas por Furtado Neto foram geradas a partir de amostras de cetáceos coletadas no Brasil.

Tabela 1. Sequências de DNA inéditas geradas a partir de amostras de diversas espécies de cetáceos.				
Família/ Espécie	Local de coleta da amostra (local, país, ano)	Coletor(es) ou Fornecedor(es) das amostras	Código da sequência ainda não depositada no GenBank	Grau de novidade quanto à sequências de DNA atualmente disponíveis no GenBank
Balaenopteridae				
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Praia de Tabuba - Caucaia/CE, Brasil, 11/1997	Tony Dickinson/ Colaboradores*	MNBR02	As duas primeiras sequências de Cytb de espécimes coletados no Brasil
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Rio de Janeiro/RJ, Brasil, 01/1995	Colaboradores*	MNBR03	
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Newfoundland, Canadá, 21/06/1990	Jon Lien	MNCA04	
Physeteridae				
<i>Physeter macrocephalus</i>	Paracuru/CE (1995); ou Prainha (12/05/1995) ou Porto das Dunas (10/01/1996) - praias do município de Aquiraz/CE; ou Praia de Cofeco (15/01/1996) - Fortaleza/CE; ou Praia de Barra Nova (01/02/1996) - Cascavel/CE, Brasil	Furtado Neto/ Colaboradores*	PMBR01	1ª sequência de Cytb de espécime coletado no Brasil
Ziphiidae				
<i>Ziphius cavirostris</i>	Ceará, Brasil, entre 01/1992 à 07/1996	Furtado Neto/ Colaboradores*	ZCBR01	1ª sequência de qualquer parte do genoma de espécime coletado no Brasil
<i>Mesoplodon densirostris</i>	Rio Grande-RS, Brasil, 02/1993	Colaboradores*	MDBR01	1ª sequência de qualquer parte do genoma de espécime coletado no Brasil
<i>Mesoplodon bidens</i>	Newfoundland, Canadá, 1986	Jon Lien	MBCA01	
Delphinidae				
<i>Orcinus orca</i>	Rio Grande-RS, Brasil, <1998	Colaboradores*	OOBR01	1ª sequência de qualquer parte do genoma de espécime coletado no Brasil
<i>Peponocephala electra</i>	Praia do Pecém - São Gonçalo do	Furtado Neto/ Colaboradores*	PEBR01	1ª sequência de Cytb de espécime coletado no Brasil

	Amarante/CE, Brasil, 06/1994			
<i>Tursiops truncatus</i>	Almofala/CE (16/03/1996) ou Fortaleza/CE (22/11/1996), Brasil	Furtado Neto/ Colaboradores*	TTBR01	
<i>Tursiops truncatus</i>	Newfoundland, Canadá, 05/1995	Jon Lien	TTCA02	
<i>Steno bredanensis</i>	Ceará (05/1994); ou Taíba (09/11/1995 e 16/12/1995) ou Pecém (03/05/1996) – praias do município de São Gonçalo do Amarante/CE; ou Praia do Iguape (10/02/1996) - Aquiraz/CE, Brasil	Furtado Neto/ Colaboradores*	SBBR01	
<i>Steno bredanensis</i>	Ceará, Brasil, 1994-1996	Furtado Neto/ Colaboradores*	SBBR02	
<i>Sotalia guianensis</i>	Ceará, Brasil, 1995-1996	Furtado Neto/ Colaboradores*	SGBR01	
<i>Stenella frontalis</i>	Ceará, Brasil, 1995-1996	Furtado Neto/ Colaboradores*	SFBR02	
<i>Stenella frontalis</i>	São Paulo-SP, Brasil, <1998	Colaboradores*	SFBR03	
<i>Stenella frontalis</i>	São Paulo-SP, Brasil, <1998	Colaboradores*	SFBR04	As cinco primeiras sequências de Cytb de espécimes coletados no Brasil
<i>Stenella frontalis</i>	Icarai do Norte (Icarai de Amontada) - Amontada/CE, Brasil, 26/04/1996	Furtado Neto/ Colaboradores*	SFBR05	
<i>Stenella frontalis</i>	Florianópolis/SC, Brasil, 1997	Colaboradores*	SFBR06	
<i>Stenella longirostris</i>	Bahia, Brasil, 07/05/1995	Colaboradores*	SLBR01	As duas primeiras sequências de Cytb de espécimes coletados no Brasil
<i>Stenella longirostris</i>	Fernando de Noronha/PE, Brasil, 04/1997	José Martins da Silva Júnior	SLBR02	
<i>Stenella clymene</i>	Ceará, Brasil, entre 01/1992 à 07/1996	Furtado Neto/ Colaboradores*	SCBR01	
<i>Delphinus delphis</i>	Newfoundland, Canadá, 05/1995	Jon Lien	DDCA02	
<i>Lagenorhynchus acutus</i>	Arnold's Cove - Newfoundland, Canadá, 10/10/1994	Jon Lien	LACA01	1ª sequência de COI de espécime coletado no Canadá
<i>Lagenorhynchus acutus</i>	Newfoundland, Canadá, 05/1995	Jon Lien	LACA02	1ª sequência de Cytb de espécime coletado no Canadá
Monodontidae				
<i>Delphinapterus leucas</i>	Chance Cove (03/05/1989) ou St. Anthony (13/06/1990) - Newfoundland, Canadá	Jon Lien	DLCA01	
Pontoporiidae				
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio Grande/RS (31/10/1994) ou Rio	Colaboradores*	PBBR01	1ª sequência de COI de espécime coletado no Brasil

	de Janeiro/RJ (03/1995), Brasil			
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Rio Grande/RS, Brasil, 31/10/1994	Colaboradores*	PBBR02	As duas primeiras sequências de Cytb de espécimes coletados no Brasil
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Iquipari (02/1995), ou Grussaí ou Atafona (03/1995) – praias do município de São João da Barra/RJ, Brasil	Colaboradores*	PBBR03	

Fonte: Elaborado pela autora.

* Grupos de pesquisas que coletaram ou forneceram amostras: Grupo de Estudos de Cetáceos do Ceará (GECC) que transformou-se no Programa de Mamíferos Marinhos da ONG Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos (Aquasis), Grupo de Estudos de Cetáceos da Bahia (GECET-BA); Pessoas que coletaram ou forneceram amostras: Alexandre Zerbini, Ana Paula di Benedetto, Eduardo Secchi, Everaldo Queiroz, Francisco Ávila, José Lailson-Brito Jr., José Silva Jr., Marcus Santos, Paulo Flores, Renata Ramos, Salvatori Siciliano, Vera da Silva.

Tabela 2. As sequências de DNA com seus percentuais de identificação					
Família/ Espécie	Gene	Código da sequência ainda não depositada no GenBank	Taxa de cobertura da sequência (Query Cover)	E-value*	Percentual de identidade – BLASTn com sequência disponível no GenBank
Balaenopteridae					
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Cytb	MNBR02	100%	0,0	99,45% com MF409246.1
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Cytb	MNBR03	100%	0,0	99,45% com MF409246.1
<i>Megaptera novaeangliae</i>	Cytb	MNCA04	100%	0,0	100% com MF409246.1
Physeteridae					
<i>Physeter macrocephalus</i>	Cytb	PMBR01	100%	1e-174	97,26% com NC_002503.2
Ziphiidae					
<i>Ziphius cavirostris</i>	Cytb	ZCBR01	100%	0,0	100% com KC776715.1
<i>Mesoplodon densirostris</i>	Cytb	MDBR01	100%	2e-176	97,81% com KF032875.2
<i>Mesoplodon bidens</i>	COI	MBCA01	99%	0,0	97,57% com NC_042218.1
Delphinidae					
<i>Orcinus orca</i>	Cytb	OOBR01	100%	0,0	100% com KR180366.1
<i>Peponocephala electra</i>	Cytb	PEBR01	100%	0,0	100% com JF289176.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Cytb	TTBR01	99%	0,0	98,90% com MG762991.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Cytb	TTCA02	99%	0,0	98,62% com MG762990.1
<i>Steno bredanensis</i>	Cytb	SBBR01	98%	1e-173	97,77% com NC_042761.1
<i>Steno bredanensis</i>	Cytb	SBBR02	98%	8e-176	98,05% com NC_042761.1
<i>Sotalia guianensis</i>	Cytb	SGBR01	100%	0,0	98,36% com KY236019.1

<i>Stenella frontalis</i>	Cytb	SFBR02	99%	0,0	99,72% com EU517714.1
<i>Stenella frontalis</i>	Cytb	SFBR03	99%	0,0	99,45% com AF084090.1
<i>Stenella frontalis</i>	Cytb	SFBR04	100%	0,0	99,45% com AF084090.1
<i>Stenella frontalis</i>	Cytb	SFBR05	100%	0,0	99,73% com EU517714.1
<i>Stenella frontalis</i>	Cytb	SFBR06	100%	0,0	99,45% com AF084090.1
<i>Stenella longirostris</i>	Cytb	SLBR01	100%	0,0	99,73% com KX857461.1
<i>Stenella longirostris</i>	Cytb	SLBR02	100%	0,0	99,18% com KX857459.1
<i>Stenella clymene</i>	Cytb	SCBR01	100%	0,0	100% com KF692012.1
<i>Delphinus delphis</i>	Cytb	DDCA02	99%	0,0	100% com KM225669.1
<i>Lagenorhynchus acutus</i>	COI	LACA01	100%	0,0	99,60% com NC_050265.1
<i>Lagenorhynchus acutus</i>	Cytb	LACA02	100%	0,0	99,46% com NC_050265.1
Monodontidae					
<i>Delphinapterus leucas</i>	COI	DLCA01	99%	0,0	99,60% com MW316272.1
Pontoporiidae					
<i>Pontoporia blainvillei</i>	COI	PBBR01	100%	0,0	96,77% com AJ554060.1
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Cytb	PBBR02	100%	0,0	100% com AF304069.1
<i>Pontoporia blainvillei</i>	Cytb	PBBR03	100%	0,0	100% com AF229170.1

Fonte: Elaborado pela autora.

* E-value = 0,0 implica uma probabilidade zero de o alinhamento ocorrer por acaso.

4 DISCUSSÃO

Cerca de 47 espécies de nove famílias de cetáceos se distribuem em águas continentais e marinhas do Brasil (MIRANDA *et al.*, 2020). Considerando as sequências de DNA obtidas de amostras coletadas de cetáceos do Brasil (n = 32), Furtado Neto sequenciou quase 1/3 das espécies que ocorrem no país (n = 14 espécies). Ainda, se considerarmos ao nível taxonômico de família, suas sequências de DNA abrangem mais de 3/4 das famílias que ocorrem no Brasil (n = sete famílias).

Mesmo as sequências de DNA terem sido geradas a mais de duas décadas, as 29 sequências nunca antes depositadas no GenBank ainda guardam ineditismos em relação a sequências atualmente disponíveis no GenBank. Por exemplo, não há sequência de DNA de qualquer parte do genoma de espécime coletado no Brasil das espécies orca (*Orcinus orca*),

baleia-bicuda-de-cuvier (*Ziphius cavirostris*) e baleia-bicuda-de-blainville (*Mesoplodon densirostris*). Também não há registros de sequências do gene Cytb de espécime coletado no Brasil para as espécies baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) cachalote (*Physeter macrocephalus*), golfinho-rotador (*Stenella longirostris*), golfinho-cabeça-de-melão (*Peponocephala electra*) e golfinho-pintado-do-atlântico (*Stenella frontalis*). Além disso, não há material depositado de ambos os genes (COI e Cytb) de espécime coletado no Brasil para a espécie toninha ou franciscana (*Pontoporia blainvillei*). Quanto ao Canadá, não há sequências do gene COI e Cytb de espécime coletado no mesmo país para a espécie golfinho-de-laterais-brancas-do-atlântico (*Lagenorhynchus acutus*).

5 CONCLUSÕES

- Furtado Neto gerou, ao longo da carreira, 42 sequências de dois genes mitocondriais a partir de amostras de 21 espécies de cetáceos.
- Furtado Neto sequenciou quase 1/3 das espécies e mais de 3/4 das famílias de cetáceos que ocorrem no país
- As sequências de DNA de cetáceos geradas por Furtado Neto a partir de amostras obtidas no Brasil e no Canadá ainda guardam ineditismo em relação as sequências do GenBank.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A disponibilização das sequências de DNA geradas por Furtado Neto em um banco de dados de acesso público podem corroborar e fortalecer pesquisas sobre a fauna de cetáceos. Dessa forma, o presente estudo pode ser considerado um primeiro passo em direção à disponibilização destas sequências ainda inéditas no Genbank, tornando-as de acesso público.

O ainda vigente grau de ineditismo de várias sequências de DNA caracterizadas no presente estudo destacam ainda mais o pioneirismo de Furtado Neto para a genética de cetáceos no país.

REFERÊNCIAS

ALTSCHUL, S. F. *et al.* Basic local alignment search tool. **Journal of molecular biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.

ALVES-JÚNIOR, T. T. *et al.* Registros de cetáceos para o litoral do estado do Ceará, Brasil. 1996.

ÁRNASON, U. Comparative chromosome studies in Cetacea. **Hereditas**, v. 77, n. 1, p. 1-36, 1974.

ÁRNASON, U. *et al.* Whole-genome sequencing of the blue whale and other rorquals finds signatures for introgressive gene flow. **Science advances**, v. 4, n. 4, p. eaap9873, 2018.

ARNASON, U. Karyotype stability in marine mammals. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 33, n. 3, p. 274-276, 1982.

ARNASON, U. The karyotype of the fin whale. **Hereditas**, v. 62, n. 3, p. 273-284, 1969.

ARNASON, U. The role of chromosomal rearrangement in mammalian speciation with special reference to Cetacea and Pinnipedia. **Hereditas**, v. 70, n. 1, p. 113-118, 1972.

ARNASON, U.; GULLBERG, A. Cytochrome b nucleotide sequences and the identification of five primary lineages of extant cetaceans. **Molecular Biology and Evolution**, v. 13, n. 2, p. 407-417, 1996.

ARNASON, U.; GULLBERG, A. Relationship of baleen whales established by cytochrome b gene sequence comparison. **Nature**, v. 367, n. 6465, p. 726-728, 1994.

ARNASON, U.; GULLBERG, A.; WIDEGREN, B. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the fin whale, *Balaenoptera physalus*. **Journal of Molecular Evolution**, v. 33, n. 6, p. 556-568, 1991.

BAKER, C. S. *et al.* Influence of seasonal migration on geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in humpback whales. **Nature**, v. 344, n. 6263, p. 238-240, 1990.

CABALLERO, S.; BAKER, C. S. Captive-born intergeneric hybrid of a Guiana and bottlenose dolphin: *Sotalia guianensis* × *Tursiops truncatus*. **Zoo Biology**, v. 29, n. 5, p. 647-657, 2009.

CABALLERO, S. *et al.* Population structure and phylogeography of tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*). **Biology, Evolution, and Conservation of River Dolphins Within South America and Asia**, p. 285-299, 2010.

CABALLERO, S. *et al.* Taxonomic status of the genus *Sotalia*: species level ranking for “tucuxi” (*Sotalia fluviatilis*) and “costero” (*Sotalia guianensis*) dolphins. **Marine mammal science**, v. 23, n. 2, p. 358-386, 2007.

CARVALHO, V. L.; MEIRELLES, A. C. O. Boto-cinza: Biologia e conservação no Brasil (Guiana dolphin: Biology and conservation in Brazil). **Bambu Editora e**

Artes Gráficas – São Paulo, 2020.

CUNHA, H. A. *et al.* Molecular and morphological differentiation of common dolphins (*Delphinus* sp.) in the Southwestern Atlantic: testing the two species hypothesis in sympatry. **PloS one**, v. 10, n. 11, p. e0140251, 2015.

CUNHA, H. A. *et al.* Phylogenetic status and timescale for the diversification of *Steno* and *Sotalia dolphins*. **PLoS One**, v. 6, n. 12, p. e28297, 2011.

CUNHA, H. A. *et al.* Riverine and marine ecotypes of *Sotalia dolphins* are different species. **Marine Biology**, v. 148, n. 2, p. 449-457, 2005.

CUNHA, H. A. *et al.* When you get what you haven't paid for: molecular identification of "douradinha" fish fillets can help end the illegal use of river dolphins as bait in Brazil. **Journal of Heredity**, v. 106, n. S1, p. 565-572, 2015.

CUNHA, H. A.; SILVA, V. M. F.; SOLÉ-CAVA, A. M. Molecular ecology and systematics of *Sotalia dolphins*. **Biology, Evolution and Conservation of River Dolphins within South America and Asia**. New York: Nova Science, p. 261-283, 2010.

DALEBOUT, M. L. *et al.* A comprehensive and validated molecular taxonomy of beaked whales, family Ziphiidae. **Journal of Heredity**, v. 95, n. 6, p. 459-473, 2004.

DALEBOUT, M. L. *et al.* A new species of beaked whale *Mesoplodon perrini* sp. n. (Cetacea: Ziphiidae) discovered through phylogenetic analyses of mitochondrial DNA sequences. **Marine mammal science**, v. 18, n. 3, p. 577-608, 2002.

DOWLING, T. E.; BROWN, Wesley M. Population structure of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) as determined by restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. **Marine Mammal Science**, v. 9, n. 2, p. 138-155, 1993.

FALCÃO, L. H. O. *et al.* Molecular identification of cetaceans from the West Atlantic using the E3-I5 region of COI. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017.

FALCÃO, L. H. O. *et al.* Prospective molecular markers for the identification of illegally traded angelsharks (*Squatina*) and dolphin (*Sotalia guianensis*). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 9710-9717, 2014.

FURTADO NETO, M. A. A. Molecular systematics and population genetics of marine vertebrates from Brazil. Doctoral Thesis. St. John's, Newfoundland: **Memorial University of Newfoundland**, 1998a.

FURTADO NETO, M. A. A. Sistemática molecular e genética populacional de vertebrados marinhos do Brasil.. In: III Simpósio de Biologia da Universidade Santa Cecília, 1998b. Resumos. Santos: Universidade de Santa Cecília, 1998b. v. 1. p. 25-26.

FURTADO NETO, M. A. A.; CARR, S. M. Molecular phylogeny of cetaceans as

suggested by combination of genes. In: 13th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals, 1999. Abstracts of the 13th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. Wailea-Hawaii: Society for Marine Mammalogy, 1999. v. 1. p. 63

FURTADO NETO, M. A. A. *et al.* Mitochondrial sequence variation in the Brazilian dolphin *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853). In: 2o. Congresso da Sociedade Latinoamericana de Especialistas em Mamíferos Aquáticos, 1998b, Olinda. Resumos do 2o. Congresso da Sociedade Latinoamericana de Especialistas em Mamíferos Aquáticos. Recife, Sociedade Latinoamericana de Especialistas em Mamíferos Aquáticos, 1998b. v. 1. p. 90.

FURTADO NETO, M. A. A. *et al.* Phylogenetic systematics of South American cetaceans suggested by mtDNA sequences. In: 11th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals, 1995. Abstracts of the 11th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. Orlando-EUA, Society for Marine Mammalogy, 1995. v. 1. p. 40.

FURTADO NETO, M. A. A. *et al.* Uso de sequências do mtDNA para identificação de um exemplar de Golfinho Rotador, *Stenella Longirostris* (Gray, 1828), encalhado no Estado da Bahia, Brasil. 1998a.

FURTADO NETO, M. A. A.; MONTEIRO-NETO, C. Preservação de Mamíferos Marinhos do Nordeste. *Ciencia Animal (UECE)*, Fortaleza, v. 10,s.1, n.1(suplem.), p. 48-51, 2000.

GRAUR, D.; HIGGINS, D. G. Molecular evidence for the inclusion of cetaceans within the order Artiodactyla. **Molecular Biology and Evolution**, v. 11, n. 3, p. 357-364, 1994.

GURJÃO, L. M. *et al.* Análise de conteúdos estomacais de quatro golfinhos (Cetacea: Delphinidae) encalhados em praias no litoral do Estado do Ceará, Brasil. **Revista Biociências**, v. 10, 2004.

GURJÃO, L. M. *et al.* Feeding habits of marine tucuxi, *Sotalia fluviatilis*, at Ceará State, northeastern Brazil. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, p. 117-122, 2003a.

GURJÃO, L. M. *et al.* Notas sobre a dieta de cachalotes (Cetacea: Physeteroidea), encalhados no Ceará, nordeste do Brasil. 2003b.

HOELZEL, A. Rus. Genetics and ecology of whales and dolphins. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 25, n. 1, p. 377-399, 1994.

HRBEK, T. *et al.* A new species of river dolphin from Brazil or: how little do we know our biodiversity. **PLoS one**, v. 9, n. 1, p. e83623, 2014.

IRWIN, D. M.; ARNASON, U. Cytochrome b gene of marine mammals: phylogeny and evolution. **Journal of Mammalian Evolution**, v. 2, n. 1, p. 37-55, 1994.

KASUYA, T. Karyotype of a sei whale. **Sci. Rep. Whales Res. Inst.(Tokyo)**, v. 20, p. 83-88, 1966.

LODI, L.; BOROBIA, M. Baleias, botos e golfinhos do Brasil: guia de identificação. **Technical Books Editora**, 2013.

MAKINO, S. The chromosomes of Dall's porpoise, *Phocoenoides dalli* (True), with remarks on the phylogenetic relation of the Cetacea. **Chromosoma**, v. 3, n. 1, p. 220-231, 1948.

MARTINS, A. M. A. *et al.* The most northern record of Gervais' beaked whale, *Mesoplodon europaeus* (Gervais, 1855), for the southern hemisphere. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, p. 151-155, 2004.

MCGOWEN, M. R. *et al.* Phylogenomic resolution of the cetacean tree of life using target sequence capture. **Systematic Biology**, v. 69, n. 3, p. 479-501, 2020.

MEIRELLES, A. C. O.; FURTADO NETO, M. A. A. Stranding of an Antarctic minke whale, *Balaenoptera bonaerensis* (Burmeister, 1867), on the northern coast of South America. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 3, n. 1, p. 81-82, 2004.

MILINKOVITCH, M. C.; MEYER, A.; POWELL, J. R. Phylogeny of all major groups of cetaceans based on DNA sequences from three mitochondrial genes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 11, n. 6, p. 939-948, 1994.

MILINKOVITCH, M. C.; ORTI, G.; MEYER, A. Revised phylogeny of whales suggested by mitochondrial ribosomal DNA sequences. **Nature**, v. 361, n. 6410, p. 346-348, 1993.

MIRANDA, A. V. *et al.* Guia Ilustrado de Identificação de Cetáceos e Sirênios do Brasil–**ICMBio/CMA 2ª Edição** - Brasília, DF: ICMBio/CMA, 2020.

MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; MONTEIRO, L. R.; DOS REIS, S. F. Skull shape and size divergence in dolphins of the genus *Sotalia*: a tridimensional morphometric analysis. **Journal of Mammalogy**, v. 83, n. 1, p. 125-134, 2002.

MONTEIRO-NETO, C. *et al.* Behavioral responses of *Sotalia fluviatilis* (Cetacea, Delphinidae) to acoustic pingers, Fortaleza, Brazil. **Marine Mammal Science**, v. 20, n. 1, p. 145-151, 2004.

MONTEIRO-NETO, C. *et al.* Impact of fisheries on the tucuxi (*Sotalia fluviatilis*) and rough-toothed dolphin (*Steno bredanensis*) populations off Ceará state, northeastern Brazil. **Aquatic Mammals**, v. 26, n. 1, p. 49-56, 2000.

MONTGELARD, C.; CATZEFLIS, F. M.; DOUZERY, E. Phylogenetic relationships of artiodactyls and cetaceans as deduced from the comparison of cytochrome b and 12S rRNA mitochondrial sequences. **Molecular Biology and Evolution**, v. 14, n. 5, p. 550-559, 1997.

MORIN, Phillip A. *et al.* Reference genome and demographic history of the most

endangered marine mammal, the vaquita. **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 4, p. 1008-1020, 2021.

NOWOSIELSKI-SLEPOWRON, B. J. A.; PEACOCK, A. D. XXIII.—
Chromosome Number in the Blue, Fin and Sperm Whales. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences**, v. 65, n. 3, p. 358-368, 1955.

OLIVEIRA, J. A. *et al.* Monitoramento do boto cinza, *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Delphinidae) em Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. 1995.

PARENTE, C. L. *et al.* Estudo da morfologia dos ossos tímpano-perióticos de cetáceos da sub-ordem odontoceti (Mammalia: Cetacea). 1999.

SHOLL, T. G. C. *et al.* Cytochrome b sequencing for the species identification of whale carcasses washed ashore in Brazil. **Marine Biodiversity Records**, v. 6, 2013.

ROSEL, P. E. *et al.* A new species of baleen whale (Balaenoptera) from the Gulf of Mexico, with a review of its geographic distribution. **Marine Mammal Science**, v. 37, n. 2, p. 577-610, 2021.

SHOLL, T. G. C. *et al.* Taxonomic identification of dolphin love charms commercialized in the Amazonian region through the analysis of cytochrome b DNA. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 88, n. 6, p. 1207-1210, 2008.

SICILIANO, S. *et al.* New genetic data extend the range of river dolphins *Inia* in the Amazon Delta. **Hydrobiologia**, v. 777, n. 1, p. 255-269, 2016.

SILVA, V. S. *et al.* Integrating morphology and DNA barcoding to assess cetacean diversity in Brazil. **Mammal Research**, v. 66, n. 2, p. 349-369, 2021.

SOUTHERN, S. O.; SOUTHERN, P. J.; DIZON, A. E. Molecular characterization of a cloned dolphin mitochondrial genome. **Journal of molecular evolution**, v. 28, n. 1, p. 32-42, 1988.

VETTORAZZI, M. B.; FARIA, V. V. Manuel Antônio de Andrade Furtado Neto 1963-2019. 2020.

WALEN, K. H.; MADIN, S. H. Comparative chromosome analyses of the bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*) and the pilot whale (*Globicephala scammoni*). **The American Naturalist**, v. 99, n. 908, p. 349-354, 1965.