



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA – ECMV
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO**

GEANNE DIAS DOS SANTOS

**ANÁLISE FORENSE COMO FERRAMENTA MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO
DE ANIMAIS SILVESTRES: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

GOIÂNIA

2023

GEANNE DIAS DOS SANTOS

**ANÁLISE FORENSE COMO FERRAMENTA MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO
DE ANIMAIS SILVESTRES: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Monografia apresentada à Escola de Ciências Médicas e da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Melo Rodrigues

GOIÂNIA

2023

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA

Aluno: GEANNE DIAS DOS SANTOS

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Melo Rodrigues

Membros:

1. Dra. Mariana Pires de Campos Telles

2. Ms. Elza Maria Gonçalves Santos Uchoa

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a PUC Goiás que me ofertou a bolsa do vestibular social. Sem esta bolsa eu não conseguiria concluir o curso de biologia.

Gostaria de agradecer aos meus pais por me encorajar e acalmar nos momentos difíceis da minha graduação. Gostaria de agradecer a eles por compreender a minha ausência enquanto eu me dedicava a realizar este trabalho.

A minha banca examinadora, Profa. Dra. Mariana P. C. Telles e Profa. Ms. Elza M. G. S. Uchoa que aceitaram meu convite para participar da banca. Agradeço a professora Dra. Flávia Melo Rodrigues por me guiar e me orientar nessa etapa de conclusão de curso, e por fim a minha irmã Georgia Dias pela paciência e pelo apoio.

Aos meus amigos Amanda e Gustavo que estavam sempre a disposição para me ajudar nas crises e me encorajar a continuar nesta jornada. E a todos que de alguma forma me auxiliaram durante nestes anos de graduação. Aos professores, aos amigos e aos coordenadores do curso de Biologia da PUC Goiás, e principalmente aqueles que continuaram ao meu lado durante essa jornada.

RESUMO

O comércio ilegal de animais é a terceira atividade ilícita mais lucrativa do mundo, ficando atrás apenas para o tráfico de drogas e tráfico de armas. Para identificação destes animais comercializados pode ser utilizado marcadores moleculares para análises forenses. Esses marcadores exercem um papel fundamental na identificação de espécies, já que muitas vezes marcadores morfológicos não estão visíveis para identificação. Fazendo o uso da revisão integrativa é possível obter informações bibliográficas da produção científica em uma determinada temática. Sendo assim o objetivo deste estudo foi realizar uma análise integrativa dos estudos relacionados ao uso da análise genética molecular em caso de comércio ilegal de animais. A revisão foi realizada por meio de cinco artigos selecionados na base de dado Scopus. Para busca dos artigos foram empregados os termos “*forensic identification*” AND *animal* AND “*illegal trade*” e coletados dados tais como: ano; tipo de trabalho; autores; revistas científicas; marcadores moleculares; espécies estudadas; objetivo e o resultado dos trabalhos. As análises dos resultados foram descritas em tabelas. Os anos das publicações selecionadas variaram de 2008 a 2012 publicados em duas revistas científicas: *Forensic Science International Genetics* e *Journal of Forensic Sciences*. A Austrália (n = 3) foi o país que obteve maior número de publicações e o número de citações dos artigos selecionados variaram de 20 a 45. O objetivo da maioria dos estudos foi identificar as espécies por meio de técnicas moleculares e constataram que as técnicas moleculares conseguiram cumprir o papel de identificar as espécies por meio de vestígios. Os marcadores moleculares utilizados nos artigos foram PCR sequencial e PCR-RFLP. Percebe-se que os marcadores moleculares são os mais recomendados e eficazes para identificar vestígios das espécies. As informações geradas pelos marcadores moleculares forenses são necessárias para resolver problemas jurídicos-policiais associados à crimes contra a fauna visando a identificação e a recuperação das espécies.

Palavras-chave: marcadores moleculares, produção científica, tráfico de animais.

ABSTRACT

The illegal trade in animals is the third most lucrative illicit activity in the world, second only to drug trafficking and arms trafficking. To identify these commercialized animals, molecular markers can be used for forensic analysis. These markers play a key role in species identification, as morphological markers are often not visible for identification. Using the integrative review, it is possible to obtain bibliographic information on scientific production on a given topic. Therefore, the objective of this study was to carry out an integrative analysis of studies related to the use of molecular genetic analysis in cases of illegal animal trade. The review was carried out using five articles selected from the Scopus database. To search for articles, the terms “forensic identification” AND animal AND “illegal trade” were used, and data were collected, such as: year; kind of work; authors; scientific magazines; molecular markers; species studied; purpose and outcome of work. The analyzes of the results were described in tables. The years of selected publications ranged from 2008 to 2012 published in two scientific journals: Forensic Science International Genetics and Journal of Forensic Sciences. Australia (n = 3) was the country that obtained the highest number of publications and the number of citations of the selected articles ranged from 20 to 45. The objective of most studies was to identify the species through molecular techniques and found that the techniques Molecular tests managed to fulfill the role of identifying species through traces. The molecular markers used in the articles were SNPs, mitochondrial DNA, Mini-barcoding and PCR-RFLP. It is noticed that molecular markers are the most recommended and effective to identify traces of species. The information generated by forensic molecular markers is necessary to solve legal and police problems associated with crimes against fauna, aiming at the identification and recovery of species.

Keywords: molecular markers, scientific production, animal trafficking.

SUMÁRIO

1 Introdução	7
2 Objetivos	13
2.1. Objetivo Geral	13
2.2. Objetivos específicos	13
3 Metodologia	14
4 Resultados e Discussão	16
5 Conclusão	26
REFERÊNCIAS	27
APÊNDICE	31

1 Introdução

Na época da colonização no Brasil tinha um tratado chamado, “Tratado de Tordesilhas”, que é um acordo entre Portugal e Espanha que definiu os limites das áreas que iriam ser exploradas, portanto, ninguém que fosse do reino da Espanha poderia levar Pau-Brasil, peles de animais e animais que viviam na fauna do Brasil. Mas não era isso que estava acontecendo, pois foi descoberto que a França, que não faziam parte do reino de Portugal, estava levando para a suas terras Pau-Brasil, peles de alguns animais, aves entre outras coisas. Isso foi descoberto quando os Portugueses viram o Peregrino (um navio francês) ancorado no posto da Málaga, isso fez com que eles desconfiassem que o navio estivesse chegando ao Brasil. Então eles resolveram arquitetar um plano para conseguir pegar os franceses. O plano deu certo e os portugueses descobriram que os franceses tinham em sua embarcação 15 mil toras de pau-brasil, três mil peles de onça, 600 papagaios entre outras coisas. Percebe-se então que levar animais silvestres OU partes dos seus corpos da fauna do Brasil para outro lugar, de forma “ilegal” já havia começado na colonização (BUENO, 1999).

O comércio de animais é considerado a atividade mais lucrativa do mundo, ficando atrás apenas do tráfico de drogas e armas, sendo que, no Brasil, ganha, em termos monetários, para o comércio de pedras preciosas (SILVESTRE, 2002). Este comércio movimenta cerca de US\$ 2 bilhões de dólares anualmente, retirando 38 milhões de animais de seu habitat natural, para venda ilícita (RENTAS, 2021). Com a retirada destes animais dos habitats naturais, geram-se impactos para aquele local como, por exemplo, a perda da biodiversidade e o desequilíbrio daquele local. Com o passar do tempo os moradores irão sofrer com esse desequilíbrio, pois ocorrerá o aparecimento de predadores na busca de alimento nas áreas residenciais, por não haver uma demanda necessária para sua alimentação (STEFAN, 2021).

O Brasil é considerado o maior foco deste crime, o motivo que explica esse fator é a grande diversidade presente nos biomas brasileiros. Esta diversidade gera interesse das quadrilhas e organizações criminosas, criando demanda para esse mercado ilegal no Brasil. Por conta disto 10% do valor arrecadado com o comércio de animais silvestres

provêm do Brasil, essa estimativa é o reflexo do aumento do comércio de animais no país (REVISTA ARCO, 2020).

A lei nº 9.605/98 editada para regulamentar as sanções penais e administrativas aplicadas as condutas e atividades danosas à fauna e a flora, trouxe a definição de diversos crimes ambientais, no propósito de proteger o meio ambiente como um todo. O crime de comércio ilegal de animais silvestres está introduzido no inciso III do artigo 29 da lei, que proíbe a venda, exportação, aquisição, guarda em cativeiro ou transportes de ovos ou larvas sem a aprovação devido. A pena prevista para os crimes é de 6 meses a 1 ano de encarceramento e multa, podendo ser dobrada em casos de: crime praticado contra espécie em extinção; em período de proibição de caça; durante a noite; abuso de licença; dentro de unidade de conservação; quando utilizado métodos ou instrumentos que podem causar destruição em massa (JUSBASIL, 2014).

De acordo com estudos feitos pelo Renctas (2021) a cada 100 animais que são capturados ilegalmente, 70 são vendidos para os territórios brasileiros e 30 são exportados. Há uma rede de tráfico em que cada espécie é comercializada para uma função diferente, a modalidade de trafico mais explorada no Brasil é para animal de companhia (Figura 1) (REVISTA ARCO, 2020).

Figura 1- Tipos de tráfico por finalidade e espécies mais procuradas.



Fonte: Modificado de Revista Arco, (2020)

O uso de tecnologias moleculares tem uma grande relevância para a forense animal, contribuindo na identificação de espécies, definições das origens geográficas e verificação do sexo e paternidade. Os marcadores moleculares fazem um papel importante na identificação da espécie, visto que muitas vezes marcadores morfológicos não estão presentes para identificação. Na identificação de espécies de comércio ilegal é mais utilizado DNA mitocondrial (mtDNA) que o DNA nuclear, visto que a retirada do DNA em amostras degradadas ou escassas é mais acessível com o mtDNA. Isso acontece por conta da presença do DNA mitocondrial em diversas cópias por células, diferente do DNA nuclear, que possui apenas uma cópia por célula (VINICIOS, 2021).

Para identificação de animais de comércio ilegal são usados vários marcadores moleculares dentre eles os DNA-barcoding, LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*) e PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que são métodos confiáveis e de baixo custo. A técnica LAMP é realizada em duas etapas, o que a faz ser bastante exata e seletiva em relação ao alvo. Outro benefício deste teste é o fato de não se limitar apenas à DNA, podendo ser usado em fitas de RNA juntamente com a enzima transcriptase reversa e DNA polimerase. Esse método é bastante sensível, além de ser prático podendo ser aplicada as amostras providas do comércio de animal (TÁLIA MISSEN, 2018).

Atualmente os DNA barcoding representam os marcadores mais utilizados na área da genética forense. Este marcador é uma ferramenta de apoio molecular, que permite a identificação de diversas espécies, por meio de uma região do DNA. O objetivo da técnica é fornecer um método rápido, preciso e automático para identificação das espécies utilizando regiões curtas do DNA. O DNA barcode vem sendo usado para muitas aplicações biológicas, como por exemplo identificação de espécies semelhantes, detecção de espécies invasoras no ecossistema, espécies recentemente descritas, revisões taxonômicas, detecção de cadeias alimentares como a relação predador-presa, combate ao comércio ilegal de espécies ameaçadas de extinção (COSTION, et al., 2011).

As análises forenses são conservacionistas e podem, desta forma, ser baseadas em análises de DNA no sentido de ajudar a resolver problemas de questionamento jurídico-policiais relacionados à conservação da biodiversidade. Estas vertentes apontam uma conexão direta, no sentido de gerar dados que ajudem, principalmente, na resolução de incertezas taxonômicas, determinação do sexo de indivíduos, redução da perda de diversidade genética, determinação de graus de parentesco, definição de rotas de tráfico e estratégias de recuperação de espécies e/ou populações (GONÇALVES, 2013).

Quando se fala do estudo de análise forense para identificação de animais do comércio ilegal no âmbito da pesquisa são encontrados cerca de 1.220 artigos que falam sobre o tema, de autores diferentes, e com diferentes propostas e questões dentro do tema comércio ilegal. Sabendo dessa informação constata-se que a revisão integrativa vai ser de grande ajuda, pois por meio dela obtém trabalhos que foram feitos relacionados a esse tema de forma que se pode saber quais pesquisadores ou revistas que mais tem produzido sobre o assunto. Sendo assim, por meio deste tipo de revisão é possível ver os dados e pesquisa práticas que foram feitas sobre esse tema, o que é de extrema importância (SOUZA, SILVA, CARVALHO 2010).

A revisão integrativa consiste na retirada de fonte de informações bibliográficas ou eletrônicas para a obtenção de resultados de pesquisas de outros autores (BOTELHO; CUNHA; MACEDO, 2011). Esta categoria não abrange apenas áreas da saúde, ela engloba áreas do saber, em razão dela possibilitar a sistematização do conhecimento científico, fazendo com que o pesquisador consiga chegar perto da problemática que deseja apreciar, projetando assim, um panorama para a produção científica (ANIMA EDUCAÇÃO, 2014).

Opta-se por fazer uma revisão integrativa quando se pretende avaliar “a síntese e análise do conhecimento científico já produzido sobre o tema investigado” ou quando se quer ter uma informação que torna possível os leitores avaliarem a pertinência dos procedimentos empregados na criação da revisão (BOTELHO, CUNHA e MACEDO, 2011). É denominada integrativa pelo fato de fornecer informações amplas sobre um determinado assunto. Deste modo, o autor pode criar uma revisão integrativa com

diversas finalidades, podendo ser voltado para definição de conceitos, revisão de teorias ou análise metodológica dos estudos incluídos de um tópico particular (FALCI; MELO; LUCIA, 2018). Com base nessa informação este estudo irá utilizar a revisão integrativa com a finalidade de avaliar o uso de metodologias moleculares (genética forense molecular) nos estudos sobre comércio de animais silvestres.

Encontra-se dentro do tema comércio ilegal de animais silvestres algumas questões importantes como a fragilidade do combate deste crime, de como a biologia molecular pode ajudar a proteger estes animais do comércio ilegal e como a biologia molecular pode ajudar na investigação deste crime (CAMILA KOZAK, 2014). Dentro desse tema podemos ver, também, estudos que falam da genética de conservação para solucionar incertezas taxonômicas destes animais traficados. Dito isso se percebe a importância de se ter revisão integrativa, pois por meio dela é possível descrever alguns trabalhos encontrados no meio acadêmico (KOZAK, 2014).

2 Objetivos

2.1 Objetivos Gerais:

O objetivo deste estudo foi realizar uma análise integrativa dos estudos relacionados ao uso da análise genética molecular em caso de comércio ilegal de animais.

2.2 Objetivos Específicos

- Apresentar o ano, os autores e as revistas científicas que publicaram sobre o uso da genética molecular para identificação de animais silvestres comercializados;
- Identificar o número de autores, países e o número de citações nos estudos com animais silvestres vítimas de comércio ilegal por meio de análises de genética molecular;
- Discorrer sobre o principal objetivo e as principais conclusões dos estudos selecionados;
- Listar as espécies estudadas e os marcadores moleculares utilizados nos estudos com animais vítimas de comércio ilegal por meio de análises de genética molecular.

3 Metodologia

O estudo foi feito por meio de pesquisas bibliográficas a fim de construir uma revisão integrativa sobre o uso da genética molecular para identificação de animais silvestres comercializados ilegalmente. Foi utilizada como banco de dados a Scopus, devido a sua vasta cobertura de periódicos, o que facilita o encontro de pesquisas confiáveis, identificação de especialistas e acesso a dados, métricas e ferramentas de análise (ELSEVIER, 2021). A amplitude das informações de pesquisa no elsevier, inclui mais de 87.000 milhões de itens, mais de 335.000 livros e 1,8 de bilhões de referências citadas, que permite ver quem está se referindo à pesquisa de um autor. O banco de dados pode ser consultado em busca de informações de 81,5 milhões de registros, abrangendo mais de 94.000 instituições. Também inclui 17 milhões de perfis de autor (ELSEVIER, 2021) (Figura 3).

Figura 3- Visão geral dos dados depositados na base de dados Scopus.



Fonte: Elsevier, (2022)

Para obter as pesquisas que estudaram sobre o tema foram utilizados os seguintes termos: “forensic identification” AND animal AND “illegal trade”. Os critérios de inclusão dos estudos foram: tratar do tema estudado, idioma português ou inglês, qualquer período da publicação e apenas artigos científicos. Quanto aos critérios de exclusão foram: fuga ao tema, idioma, estudos duplicados, documentos que não são artigos e trabalhos com acesso fechado. Todos os trabalhos encontrados foram considerados na pesquisa, por não haver limite de ano e não houve uma busca por uma

espécie específica vítima do comércio ilegal. A partir dos artigos selecionados os seguintes dados foram coletados

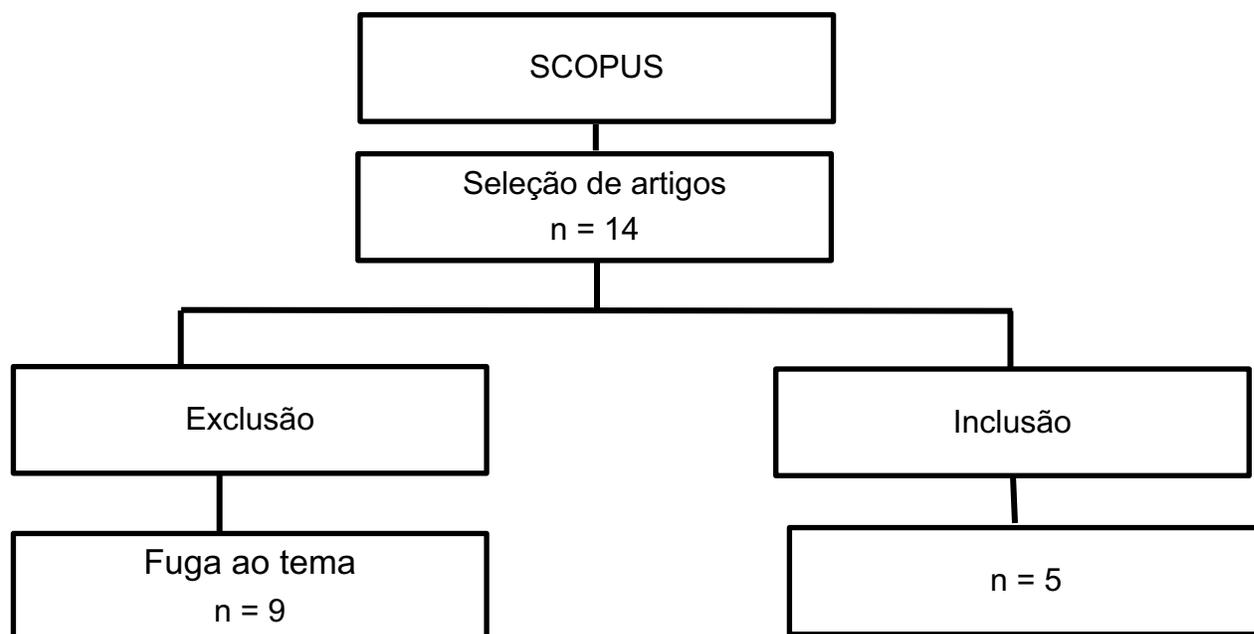
- Ano;
- Tipo de trabalho;
- Autores;
- Revistas científicas;
- Marcadores moleculares;
- Objetivo e Resultado.

Cada bibliografia foi lida na íntegra e aplicados os critérios de inclusão e exclusão. A partir dos artigos selecionados, os dados coletados nos estudos foram organizados em tabela para melhor apresentação dos resultados da revisão integrativa.

4 Resultados e Discussão

De acordo com levantamento feito pela base de dados do scopus foram encontrados um total de 14 publicações sobre identificação de animais comercializados por meio de análises de genética molecular, porém, 9 destas pesquisas estavam fora do tema proposto. O resultado desta revisão foi formado por cinco artigos selecionados pelos critérios de inclusão previamente estabelecidos (Figura 2).

Figura 2- Fluxograma da seleção dos artigos sobre identificação de animais traficados por meio de análises de genética molecular.



Os artigos selecionados foram publicados em duas revistas científicas, *Forensic Science International Genetics* e *Journal of Forensic Sciences* (Tabela 1). O *Journal of Forensic Sciences* (JFS) publica investigações, observações, pesquisas acadêmicas e análises originais em vários ramos das ciências forenses. Esta revista pretende fortalecer a base científica da ciência forense nas comunidades legais e regulatórias em todo o mundo (JFS, 2021). Na revista *Forensic Science International: Genetics* (ISFG) são

encontrados estudos voltados para campo da genética forense. A revista *Forensic Science International* oferece cobertura abrangente e pioneira dentro da ciência forense, essa revista divulga descobertas inovadoras, pesquisas altamente especializadas e ciência fundamentais (ISFG, 2021)

A importância em uma determinada área de pesquisa depende da quantidade de pesquisadores que abordam o tema (PETERS, 1991). Porém existem obstáculos em se obter informações recentes em níveis globais, regionais ou locais sobre o comércio ilegal da vida selvagem. Estes acontecimentos podem explicar a falta de publicações recentes ao longo dos anos, uma vez que nos trabalhos levantados o ano variou de 2008 a 2012 (Tabela 1). Desse modo deve se considerar que o interesse dos pesquisadores sobre este tema está intrinsicamente ligado a falta de dados, o qual, para comércio ilegal, muitas vezes não existem ou são de acesso restrito a gestores ambientais. A falta de dados recentes também pode ser explicada pelo fato da política de fiscalização restringir os resultados para a pesquisa científica de comércio de espécies (SANTOS, ARAÚJO, 2015)

Tabela 1- Autores e ano, periódicos e títulos dos artigos selecionados sobre identificação de animais de comércio ilícito por meio de análises de genética molecular.

Autor, Ano	Periódicos	Título
Kitpipit <i>et al</i> , 2012	Forensic Science International: Genetics	The development and validation of a single SNaPshot multiplex for tiger species and subspecies identification - Implications for forensic purpose.
Coghlan <i>et al</i> , 2012	Forensic Science International: Genetics	Egg forensics: An appraisal of DNA sequencing to assist in species identification of illegally smuggled eggs.
Dubey <i>et al</i> , 2011	Forensic Science International: Genetics	DNA mini-barcoding: An approach for forensic identification of some endangered Indian snake species.
Megathan <i>et al</i> , 2009	Journal of Forensic Sciences	Molecular identification of Indian crocodile species: PCR-RFLP method for forensic authentication
Peppin <i>et al</i> , 2008	Journal of Forensic Sciences	A DNA-based approach for the forensic identification of Asiatic black bear (<i>Ursus thibetanus</i>) in a traditional Asian medicine

Todos os artigos selecionados possuem mais de três autores, variando de 6 a 12 autores, sendo que o estudo “*Egg forensics: An appraisal of DNA sequencing to assist in species identification of illegally smuggled eggs*” (Coghlan *et.al.*, 2012) apresentou o maior o número de autores (n = 12), porém ele não detém o maior número de citações (Tabela 2). A ciência moderna tem como traço principal o aumento do perfil colaborativo em todas as áreas, visto que 70% dos artigos feitos atualmente são de autores de diversos países e instituições, e entre esses, cerca de 44% destes estudos provenientes de colaborações de pesquisadores de diferentes países e 56% de colaborações de pesquisadores em território nacional (GLANZEL; SCHUBERT, 2004; ROYAL SOCIETY, 2011). Em países cientificamente emergentes a expansão das pesquisas científicas se

deve ao aumento das colaborações entre pesquisadores localizados dentro dos territórios nacionais. Neste contexto as colaborações nas produções de pesquisas científicas tem sido um recurso central na política de ciência, tecnologia e inovação, visto que as despesas das universidades podem resultar em diferentes intensidades dos fluxos de conhecimento, dependendo das redes e da integração das redes científicas, e a articulação das redes colaborativas pode influenciar de maneira decisiva a qualidade e a produtividade científica (SIDONE, HADDAD, CHALCO, 2013)

Em relação a variação do número de citações observa-se que ficou entre 20 e 45. O estudo de Dubey *et al.* (2011) foi o que teve o maior número de citações (n = 45) (Tabela 2), por conta da sua pesquisa estudar os ovos de *psitaciformes* que foram contrabandeados. As aves são os animais mais comercializados, por conta disso o estudo de Dubey tem o maior número de citações. As contribuições no meio científico tem mostrado um importante papel para a produção de artigos, porém as citações tem apresentado também um importante papel nos artigos de revisão e em análises cienciométricas. Portanto, estudos que quantificam as citações, como as cienciométricas, é uma importante metodologia para o entendimento dos processos de comunicação científica (VANZ; CAREGNATO, 2003). A citações são formas que os pesquisadores encontram de mostrar suas pesquisas e descobertas, e de contribuir para a comunidade científica ao mesmo tempo em que protege sua pesquisa de plágio. O desenvolvimento dos índices de citações, como o Fator de Impacto (FI), ofereceu as estas novas dimensões uma forma de identificar a qualidade de periódicos (BRAGA, 1973; OLIVEIRA, CENDÓN, CIRINO, 2017).

Dos quatro países presentes na tabela 2 (Austrália, Reino Unido e Índia) alcançaram o mesmo número de publicações na área de identificação de animais (n = 2), e apenas a Noruega apresentou número diferente dos demais países (n = 1). A tabela aponta que o território europeu é onde os artigos mais são publicados em comparação a outros continentes, a tabela apresenta apenas dois artigos publicados em território que não sejam europeus (Tabela 2). Os Estados Unidos e a União Europeia estão entre a nação que mais investe em infraestrutura e pesquisa científica e, conseqüentemente são os países que mais tem publicações científicas. Geralmente são esses os primeiros a

publicarem artigos sobre determinado tema. Os Estados Unidos ocupam a segunda posição de países com maior número de comércio ilegal. Com investimento alto em pesquisa e índice alto de comércio ilegal é esperado que os EUA liderem o ranking de autores que publicam sobre o tema (SANTOS, ARAÚJO, 2015).

Tabela 2- Número de autores, países, ano e o número de citações a respeito das identificações de animais vítimas de comércio ilegal por meio de análises de genética molecular.

Artigo	Países	Número de autores	Número de citações
Kitpipit <i>et al</i> , 2012	Australia Noruega Reino Unido	10	30
Coghlan <i>et al</i> , 2012	Australia	12	36
Dubey <i>et al</i> , 2011	Índia	6	45
Megathan <i>et al</i> , 2009	Índia	6	20
Peppin <i>et al</i> , 2008	Reino Unido	8	32

Pode-se observar que todos os artigos possuem um objetivo principal em comum que foi identificar espécies vítimas de comércio ilegal por meio do material biológico, variando apenas as espécies e as técnicas moleculares estudadas. Adentrando a conclusão principal percebe-se que a todas as técnicas foram eficazes para realizar a identificação e diferenciação de espécies, fazendo o uso de amostras biológicas de cada espécie (Tabela 3).

No estudo de Kitpipit *et.al*, (2012) é possível perceber que a identificação das espécies de tigres foram feitos por haplótipos de SNPs específicos capaz de identificar

as espécies e subespécies deste animal que tiveram partes e derivados do corpo comercializados ilegalmente.

O estudo redigido por Coghlan *et.al*, (2012), tinha como intuito a identificação e avaliação dos ovos de *psitaciformes*, foi necessário um banco de dados de referência de DNA para saber as espécies selvagens mais comumente comercializadas.

O terceiro estudo sobre identificação por meio da análise forense molecular (DUBEY *et al.*, 2011), o objetivo principal era utilizar PCR-Sequencial para identificação de serpentes, esta técnica possibilitou determinar as espécies de cobras que tiveram suas peles comercializadas ilegalmente.

Já estudo de Megathan *et al.* (2009), consistiu em identificar e distinguir as três espécies de crocodilos: *Crocodylus porosus*, *Crocodylus palustris* e *Gavialis gangeticus*, por meio da técnica de PCR-RFLP, essa técnica permitiu a identificação e diferenciação das três espécies de forma rápida e eficaz, utilizando suas peles comercializadas.

O último estudo (PEPPIN *et al.*, 2008), que tinha como objetivo principal a extração de DNA das vesículas desconhecidas de *U. Thibetanus*, a técnica se provou eficaz para esse tipo de identificação (Tabela 3).

Tabela 3- Principais objetivos e principais conclusões sobre identificação por meio da análise forense molecular.

Autores, ano	Objetivo principal	Conclusão principal
Kitpipit <i>et al</i> , 2012	Relatar a identificação de haplótipos SNP específicos do tigre que tiveram partes e derivados comercializada	O ensaio demonstrou ser útil em aplicações forenses, pois foi capaz de detectar e identificar espécies e subespécies de tigres em vestígios ou evidências biológicas degradadas.
Coghlan <i>et al</i> , 2012	Investigar e avaliar os ovos de <i>psitaciformes</i> comercializados por meio do DNA mitocondrial	O estudo revelou que é preciso ter cautela ao se identificar espécies apenas por meio do lócus mitocondrial, por conta disto é necessário obter um banco de dados de referência de DNA, para saber as espécies selvagens mais comumente comercializadas
Dubey <i>et al</i> , 2011	Usar DNA barcoding para identificação de espécies de serpentes usando sua pele comercializada.	Os resultados do estudo de validação confirmam a eficácia da técnica na perspectiva forense, onde muitas vezes faltam as características morfológicas de diagnóstico da amostra apreendida.
Megathan <i>et al</i> , 2009	Identificar as espécies <i>Crocodylus porosus</i> , <i>Crocodylus palustris</i> e <i>Gavialis gangeticus</i> usando a técnica de PCR-RFLP	O protocolo de PCR-RFLP com um conjunto de três enzimas permite a distinção entre as três espécies diferentes de crocodilos, ajudando assim na avaliação rápida do status da espécie da amostra em questão.
Peppin <i>et al</i> , 2008	Extrair DNA de cristais biliares desconhecidos de <i>U. Thibetanus</i> , para identificar comércio ilegal de bile e vesícula de ursos negros.	O estudo demonstra a recuperação bem-sucedida do mtDNA de <i>U. thibetanus</i> de cristais biliares, com posterior identificação de espécies por meio de amplificação e sequenciamento de um fragmento <i>cyt b</i>

Cinco espécies diferentes foram identificadas por meio de técnicas moleculares nos estudos levantados. Foram elas tigras, aves, serpentes, crocodilos e ursos. Quase todos os estudos trouxeram técnicas moleculares iguais, utilizando amostras provenientes de material biológico dos animais (Tabela 4).

A PCR, é uma técnica da biologia molecular para amplificar uma única ou pequenas cópias de uma parte do DNA. É usado para produzir diversas cópias de uma região do DNA. A Reação em Cadeia da Polimerase proporciona a síntese de fragmentos de DNA, usando a enzima DNA polimerase a mesma que participa da replicação do material genético (NASCIMENTO, 2008)

A descoberta das reações de PCR trouxe grandes avanços e desenvolvimento científicos, como por exemplo o sequenciamento de genomas, a expressão de genes em sistemas recombinantes, o estudo de genética molecular, a determinação rápida da paternidade e o diagnóstico rápido de doenças infecciosas. A PCR encontra sua principal aplicação onde a quantidade de DNA disponível é pequena. Uma das principais aplicações do PCR é na medicina forense e na biologia forense, em pequenas amostras retiradas das cenas do crime (NASCIMENTO, 2008)

O PCR-RFLP é mais favorável do que as análises de restrição de DNA convencional. A técnica molecular PCR-RFLP é uma técnica relativamente simples e de baixo custo que consiste no aumento de uma parte do DNA por meio do PCR seguido da fragmentação do DNA amplificado por meio do uso de enzimas de restrição (PAVAN, MONTEIRO, 2014). Essa união do PCR com o RFLP permite a distinção de diferentes espécies. Por conta da reprodutibilidade e da alta sensibilidade este método tem sido usado para diferenciação e identificação de espécies (VOLPINI *et al.*, 2004; GARCIA, *et al.*, 2006; ROMERO *et al.*, 2009).

Tabela 4- Autor (ano), as espécies e as técnicas moleculares presente nos estudos acerca da identificação de animais comercializados ilegalmente por meio de análises de genética molecular.

Autor, ano	Organismos estudados	Técnica Molecular
Kitpipit <i>et al</i> , 2012 (Wildlifeexplained, 2016)		PCR-Sequencial
Coghlan <i>et al</i> , 2012	 (Passarosexoticos, 2016) (Passarosexoticos, 2009)	PCR-Sequencial
Dubey <i>et al</i> , 2011 (Ivan Mattos, 2020)		PCR´-Sequencial
Megathan <i>et al</i> , 2009 (zooterra.wordpress, 2010)		PCR-RFLP
Peppin <i>et al</i> , 2008 (stock.adobe, 2010)		PCR-Sequencial

Baseado nas leis e decretos 9.605/98 , os órgãos de fiscalização, diante de um crime, geralmente autuam o infrator e apreendem os animais, iniciativas em diversos

campos (não apenas no fórum judicial, como também nas áreas econômicas, política e científica) são fundamentais. Uma das formas de realizar essas atividades, correlacionando dados jurídicos e científicos, é criando um banco de dados com informações biológicas e ocorrências sobre os animais vítimas do comércio ilegal. É nessas circunstâncias que se utiliza a ciências moleculares forense, área interdisciplinar que ajuda a justiça por meio de conhecimentos técnicos científicos necessários mediante a investigação em casos criminais (VELHO, et al., 2017). Por meio da genética forense é possível determinar os materiais que são suspeitos, a origem da espécie, e os acontecimentos que envolvem os crimes silvestres. Análises de DNA estão ligadas a identificação das evidências para determinar as espécies, população, ou identificação individual de uma amostra (COOPER, 1998; WOODALL et al., 2015).

5 Conclusão

- Os anos das publicações selecionadas variaram de 2008 a 2012 com um total de 35 autores e publicados nas seguintes revistas científicas: *Forensic Science International Genetics e Journal of Forensic Sciences*.
- Os países que obtiveram maior número de publicação foram a Austrália, Reino Unido e Índia (n = 2) e a Noruega (n = 1). O número de citações dos artigos selecionados variou de 20 a 45.
- O objetivo da maioria dos estudos foi identificar as espécies por meio de técnicas moleculares, que constatou que as técnicas moleculares conseguiram cumprir o papel de identificar as espécies por meio de vestígios.
- As espécies estudadas foram Tigres (*Panthera tigris*) que usou do marcador PCR-sequencial. No estudo com aves *psittaciformes* (Papagaios e Cacatuas) e ursos (*Ursus thibetanus*) foi utilizada o marcador de PCR-sequencial. No trabalho com cobras indianas (*Naja naja*) o marcador empregado foi o PCR-sequencial e no artigo que estudou crocodilos (*Crocodylus palustris*, *Gavialis*, *Crocodylus porosus*) foi utilizado a técnica de PCR-RFLP.
- Sendo assim este estudo irá ser de uma grande importância para o meio científico, devido à falta de revisão bibliográfica sobre este assunto, podendo assim auxiliar trabalhos futuros sobre este assunto

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. **A proteção da fauna e o tráfico de animais silvestres**. Dissertação (Mestrado em Direito) - Universidade Metodista de Piracicaba. Piracicaba- SP, 2007.
- AMORIM, Marcos Vinicius de Almeida. **Desenvolvimento de marcadores moleculares mitocondriais para a identificação forense de psitacídeos alvos do comércio ilegal**. Dissertação (mestrado em Genética). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.
- ANDRADE, V. **Marcadores morfológicos e moleculares na identificação e distinção de off-type em campos de produção de sementes de soja**. Dissertação (mestrado em agronomia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2012.
- BOZA B.R, CRUZ V.P, STABILE G, ROTUNDO MM, FORESTI F, OLIVEIRA C. Mini DNA barcodes revelam detalhes da ecologia de forrageamento do bighead hairtail, *Trichiurus lepturus* (Scombriformes: Trichiuridae). **Revista Neotropical Ichthyology**, v. 20, n. 2, p.1-11, 2022.
- BRAGA, Gilda Maria. Relações Bibliométricas Entre a Frente de Pesquisa (Research Front) e Revisões da Literatura: Estudo Aplicado a Ciência da Informação. **Revista Ciência da Informação**, v.2, n.1, p. 9-26, 1973.
- BUENO, E. R. **Capitões do Brasil: saga dos primeiros colonizadores**. Rio de Janeiro: Objetiva, 1999.
- CAETANO, A.R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.64-71, 2009.
- COGHLAN, M.L.; WHITE, N.E.; PARKINSON, L. Egg forensics: An appraisal of DNA sequencing to assist in species identification of illegally smuggled eggs. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, p. 268-273, 2012.
- CUNHA, M.P.V.; GUIMARÃES, M. B.; DAVIES, Y. M.; et.al. Bactérias gram-negativas em cardeais (*Paroaria coronata* e *Paroaria dominicana*) apreendidos do tráfico de animais silvestres. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 1, 2016.
- DESTRO, Guilherme Fernando Gomes et al. Efforts to combat wild animals trafficking in Brazil. **Biodiversity enrichment in a diverse world**, v. 1, p. 421-436, 2012.
- DOLINSKY, L. C; PEREIRA, L.M.C.V. DNA forense: artigo de revisão. **Saúde & ambientes em revista**, v. 2, n. 2, p 11-22, 2007.
- DUBEY, Bhawna.; MEGANATHAN, P.R.; HAQUE, Ikramul. DNA mini-barcoding: An approach for forensic identification of some endangered Indian snake species.

Forensic Science International: Genetics, v. 5, n. 3, p. 181 – 184, 2011.

FORENSIC SCIENCE INTERNATIONAL: Genetics. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/forensic-science-international-genetics>. Acessado 12 out. 2022.

GONÇALVES, B.P. **Análises genéticas, ações educativas e criação de banco de dados forense: estratégia multidisciplinar para proteção jurídica à conservação biológica de aves traficadas**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Genética). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu-SP, 2018.

GONÇALVES, B.P.; WASKO, A.P. Genética da conservação aplicada ao tráfico ilegal de aves Conservation genetics applied to birds illegal trade *in* Congresso brasileiro de genética forense. **Saúde, Ética & Justiça**, v. 18, p. 79-83, 2013.

JACQUES, G.S. **Identificação de espécies animais usando sequências de genes mitocondriais no combate no crime contra fauna**. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia). Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2005.

JOURNAL OF FORENSIC SCIENCES. Journal Overview. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/15564029#:~:text=The%20Journal%20of%20Forensic%20Sciences,branches%20of%20the%20forensic%20sciences>. Acesso em 09 out. 2022.

KITPIPIT, T.; Tobe, S.S.; Kitchener A.C.; *et al.* The development and validation of a single SNaPshot multiplex for tiger species and subspecies identification—Implications for forensic purposes. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, n. 2, p. 250-257, 2012.

LIMA, D.S.S. **Repressão ao tráfico de animais silvestres no Brasil**. Trabalho de conclusão (Curso de Direito). Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos. Brasília, 2021.

MAGALHÃES, J.S. **Tráfico de animais silvestres no Brasil**. Monografia (Ciências Biológicas). Centro Universitário de Brasília Faculdade de Ciências da Saúde, Brasília, 2002.

PEPPIN, L.; MCEWING, R.; CARVALHO, G.R. A DNA-based approach for the forensic identification of Asiatic black bear (*Ursus thibetanus*) in a traditional Asian medicine. **Journal of Forensic Sciences**, v 53, p.1358 - 1362, 2008.

REME. Revista Mineira de Enfermagem. Disponível em: <https://www.reme.org.br/artigo/detalhes/904>. Acesso em 15 set. 2022.

REVISTA ARCO-JORNALISMO CIENTIFICO E CULTURA. Disponível em: <https://www.ufsm.br/midias/arco/trafico-animais-silvestres>. Acesso em: 12 out. 2022.

SOUZA, L. C. **Diagnóstico do atual status do tráfico de animais silvestres no Brasil**. Monografia (Bacharel em Engenharia Floresta). Universidade federal rural do rio de janeiro instituto de florestas departamento de ciências ambientais, Seropédica-RJ, 2007.

SOUZA, M.T.; SILVA, M.D.; CARVALHO, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein** (São Paulo), v. 8, p. 102-106, 2010.

TREMORI, T.M. **Identificação criminal de espécies da fauna silvestre por DNA mitocondrial**. Tese (doutorado medicina veterinária). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" -Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2018.

BRASIL. **Lei nº 5.197, de 3 de janeiro de 1967**, 1967. É proibido o comércio de espécimes da fauna silvestre e de produtos e objetos que impliquem na sua caça, perseguição. Disponível em:
https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l5197.htm#:~:text=%C3%89%20proibido%20o%20com%C3%A9rcio%20de,%2C%20persegui%C3%A7%C3%A3o%2C%20destrui%C3%A7%C3%A3o%20ou%20apanha. Acesso em: 15 jun. 2023.

Tribunal de Justiça do Distrito Federal e dos Territórios (TJDFT). **Venda de animais silvestres**. Brasília, 2020. Disponível em:
<https://www.tjdft.jus.br/institucional/imprensa/campanhas-e-produtos/direito-facil/educacao-semanal/venda-de-animais-silvestres>

BATISTA, T.E. **Código de barras de DNA (DNA Barcode) de espécies de bagres (Ordem Siluriformes) de valor comercial da Amazônia brasileira**. Dissertação (pós-graduação biotecnologia). Universidade do estado do Amazonas- UEA, Manaus, 2017

BARROCAS, E.N.; MACHADO, J.C.; FIGUEIRA, A.R.; et al. Uso de técnicas moleculares para diagnose de patógenos em sementes. **Informe Agropecuário**, v .30, n. 253, p. 24 - 32, 2009

NASCIMENTO, F.M.S. **Aplicação da técnica PCR para detecção de bactérias potencialmente patogênicas em um sistema UASB-lagoas de polimento para tratamento de esgoto doméstico**. Dissertação (Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

Oliveira, M.C.S.; Regitano, L.C.A.; Roese, A.D.; et al. **Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase**. São Carlos, SP, Embrapa, 2007.

NOVAIS, C.M; ALVES, M.P. PCR em tempo real. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Edição nº 33. 2004.

FLEURI, A.K.A.; PEREIRA, L.I.A.; COSTA, M.V.S.M. **Avaliação da PCR-RFLP para o diagnóstico e identificação de Leishmania sp: uma comparação com os métodos parasitológicos e imunológicos**. Goiânia-GO, 2011.

APÊNDICE



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE DESENVOLVIMENTO
INSTITUCIONAL
Av. Universitária, 1000 | Setor Universitário
Cabeceira Postal 881 CEP 74805-010
Goiânia | Goiás | Brasil
Fone: (62) 3045.3061 ou 3080 | Fax: (62) 3045.3080
www.pucgoias.edu.br | prodir@pucgoias.edu.br

RESOLUÇÃO n° 038/2020 – CEPE

ANEXO I

APÊNDICE ao TCC

Termo de autorização de publicação de produção acadêmica

O(A) estudante GEANNE DIAS DOS SANTOS do Curso de CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO, matrícula 20181005000167, telefone: (62) 98442-1648 e-mail geannediasds@gmail.com, na qualidade de titular dos direitos autorais, em consonância com a Lei n° 9.610/98 (Lei dos Direitos do autor), autoriza a Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) a disponibilizar o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado ANÁLISE FORENSE COMO FERRAMENTA MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRE: UMA REVISÃO INTEGRATIVA, gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, por 5 (cinco) anos, conforme permissões do documento, em meio eletrônico, na rede mundial de computadores, no formato especificado (Texto (PDF); Imagem (GIF ou JPEG); Som (WAVE, MPEG, AIFF, SND); Vídeo (MPEG, MWV, AVI, QT); outros, específicos da área; para fins de leitura e/ou impressão pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada nos cursos de graduação da PUC Goiás.

Goiânia, 26 de junho de 2023.

Assinatura do(s) autor(es): *Geanne Dias dos Santos*

Nome completo do autor: GEANNE DIAS DOS SANTOS

Assinatura do professor-orientador: *Flávia Melo Rodrigues*

Nome completo do professor-orientador: FLÁVIA MELO RODRIGUES