



## ESTUDO IN SILICO DAS SEQUÊNCIAS GÊNICAS DE *Aeromonas piscicola* E *Aeromonas hidrophila*

### RESUMO

Estudos in silício são aqueles realizados sem interferência humana na resolução dos dados, para avaliar o grau de compatibilidade entre diferentes genes e, assim, melhorar os métodos e técnicas em diversas áreas das ciências biológicas. O gênero *Aeromonas* é primariamente autóctone do ambiente aquático. São bacilos gram-negativos, com flagelo polar e anaeróbico facultativos. Os seres humanos adquirem *A. hydrophila* por meio de água ou alimentos contaminados. No Brasil, grande parte do pescado produzido é comercializado in natura após abate artesanal sem um processamento adequado. Dentre eles, destacam-se as espécies *Aeromonas piscicola* e o *Aeromonas hidrophila*. Este trabalho objetivou obter, através de ferramentas online de bioinformática, genes com diferentes graus de compatibilidade com as duas bactérias analisadas. Os passos metodológicos incluíram o uso de ferramentas disponíveis online, tais como: NCBI, CAP3, ORF, BLAST e PRIMER3. Os resultados para a *A. piscicola* indicaram compatibilidade com genes das espécies *A. bestiarum* (99%) e *A. salmonicida* (95%), enquanto para a *A. hidrophila* indicaram compatibilidade com bactérias como a *Edwardsella tarda* (84%); *Aeromonas sobria* (92%); *Aeromonas salmonicida* (94%); *Aeromonas trota* (95%). Desta forma, o trabalho in silico mostrou-se útil como uma ferramenta rápida, prática e objetiva para a identificação de genes e definição das relações taxonômicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bioinformática; In silico; Peixe.

## IN SILICO STUDY OF GENE SEQUENCES OF *Aeromonas piscicola* AND *Aeromonas hidrophila*

### ABSTRACT

Studies in silico are those made without human interference in the resolution of the data to assess the degree of compatibility between different genes and thus improve the methods and techniques in various areas of biological sciences. The genus *Aeromonas* is primarily indigenous to the aquatic environment. They are gram-negative, facultative anaerobic and with polar flagellum. Humans acquire *A. hydrophila* by contaminated food or water. In Brazil, most of the fish produced is sold fresh after slaughter craft without proper processing. Among them, there are *Aeromonas piscicola* and *Aeromonas hidrophila*. This study aimed to obtain, through bioinformatics' online tools, genes with different degrees of compatibility with both bacteria analyzed. The methodological steps included the use of online tools available, such as NCBI, CAP3, ORF, BLAST and PRIMER3. The results for *A. piscicola* showed compatibility with genes of the species *A. bestiarum* (99%) and *A. salmonicida* (95%), while for *A. hidrophila* indicated compatibility with bacteria such as *Edwardsella tarda* (84%); *Aeromonas sobria* (92%); *Aeromonas salmonicida* (94%); *Aeromonas trota* (95%). Thus, the in silico work proved useful as a fast, practical and objective tool to identify genes and defining taxonomic relationships.

**KEYWORDS:** Bioinformatics; In silico; Fish.

*Natural Resources*, Aquidabã, v.2,  
n.2, Mar, Abr, Mai, Jun, Jul, Ago  
2012.

ISSN 2237-9290

SEÇÃO: Artigos

TEMA: Ictiologia



DOI: 10.6008/ESS2237-9290.2012.002.0002

**Vagne de Melo Oliveira**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Brasil

<http://lattes.cnpq.br/6160988158330428>  
[vagne\\_melo@hotmail.com](mailto:vagne_melo@hotmail.com)

**Meiriana Xavier Vila Nova**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Brasil

<http://lattes.cnpq.br/2326764894889194>  
[novax62@yahoo.com.br](mailto:novax62@yahoo.com.br)

Recebido: 15/07/2012

Aprovado: 30/08/2012

Avaliado anonimamente em processo de pares cegas.

Referenciar assim:

OLIVEIRA, V. M.; VILA NOVA, M. X.. Estudo  
in silico das sequências gênicas de  
*Aeromonas piscicola* e *Aeromonas*  
*hidrophila*. *Natural Resources*, Aquidabã,  
v.2, n.2, p.18-26, 2012.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Aeromonas* sp abrange bactérias gram-negativas, em forma de bastonete, capaz de utilizar diferentes carboidratos, produzindo ácido e/ou gás. São microrganismos autóctones de ambientes aquáticos que podem ser transmitidos esporadicamente aos seres humanos (CASTRO-ESCARPULLI *et al.*, 2003). Existem atualmente, diversas espécies de bactérias do gênero *Aeromonas*, dentre as quais, as principais são: a *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila*, *A. encheleia*, *A. popoffii*, *A. simiae*, *A. molluscorum*, *A. bivalvium*, *A. aquariorum* e *A. tecta*. O gênero *Aeromonas* tem sido classificado na família *Vibrionaceae* e inclui espécies patogênicas para animais (FIGUEIREDO & LEAL, 2008) e para o homem (HUSS, 1997). Os membros do gênero *Aeromonas* possuem as enzimas oxidase e catalase positivos, na região intracelular, identificados como bacilos gram-negativos, com flagelo polar, anaeróbios facultativos. A infecção por *A. hydrophila* causa lesões ulcerativas e septicemia hemorrágica em peixes de água doce (RODRIGO & RIBEIRO, 2003; PARKER e SHAW, 2011).

Os seres humanos adquirem *A. hydrophila* por meio de água ou alimentos contaminados. No Brasil, grande parte do pescado produzido é comercializado *in natura* após abate artesanal sem um processamento adequado. *A. hydrophila* pode ser veiculador de genes de resistência a antibióticos para bactérias patogênicas ou não patogênicas a seres humanos e principalmente os peixes (PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2005). Alimentos de origem animal, frutos do mar e vegetais têm sido considerados um importante veículo de infecções de *Aeromonas* spp. Gastrenterite é a infecção mais prevalente em humanos, causada por *Aeromonas* spp., embora outras doenças graves, como infecções sistêmicas, são menos frequentes e normalmente associada a pacientes que estejam imunossuprimidos. São considerados importantes patógenos em organismos aquáticos, sobretudo em peixes, causadoras de bacteremia (CASTRO-ESCARPULLI *et al.*, 2003).

A presença de *Aeromonas* está muito generalizada em ambientes de água doce, mas pode ser também isolada de água salgada estuarina. Este organismo pode ser também facilmente isolado da carne, peixe e produtos derivados, gelados e muitos outros alimentos. De acordo com os estudos de Huss (1997) este organismo tem sido identificado como o principal organismo responsável por deteriorar carne crua, de salmão. A microbiota gastrointestinal dos peixes depende da colonização bacteriana durante os estágios iniciais de desenvolvimento, das mudanças na dieta e das condições ambientais. Essa microbiota pode ser composta por várias espécies de bactérias, incluindo as do gênero *Aeromonas*. Os peixes podem albergar microrganismos patogênicos e servir como seu reservatório. Várias espécies de *Aeromonas* estão associadas a doenças de peixes, dentre elas *A. hydrophila*, *A. veronni biovar sobria*, *A. allosaccharophila* e *A. salmonicida* (SILVA, 2010).

A biologia computacional está preocupada com o uso de computação para compreender os fenômenos biológicos e para adquirir e explorar os dados biológicos, cada vez mais, em maior

escala. Métodos de biologia computacional estão cada vez mais sendo usados por laboratórios de biologia molecular. Estes métodos tornaram-se críticos na biologia devido a recentes mudanças na nossa capacidade de determinação para adquirir grandes conjuntos de dados biológicos (EZZIANE, 2006). O presente trabalho tem a finalidade de obter a sequência de genes das bactérias *Aeromonas piscicola* e *Aeromonas hydrophila*, com o maior grau de compatibilidade, usando para isso ferramentas bioinformática *online* para identificar genes com possíveis aplicações biotecnológicas a partir de organismos cujo genoma ainda não está totalmente elucidado.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução deste trabalho foram utilizadas diferentes ferramentas de bioinformática disponíveis *online*. Inicialmente, realizou-se uma busca no banco de dados localizado no Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (NCBI, Genbank, database) para identificar sequências de genes disponíveis para as bactérias do gênero *Aeromonas*. Em seguida, selecionaram-se sequências codificadoras (CDS) pertencentes a estas famílias de genes, de forma aleatória. Nesta fase, foi possível analisar comparativamente a quantidade de dados disponíveis no banco de dados NCBI pelo número de famílias de genes e descrever o número de sequências codificadoras disponíveis para cada bactéria.

As sequências obtidas foram agrupadas usando o Programa da Assembléia Sequence - CAP3 (HUANG & MADAN, 1999), o que fez a identificação do quadro de leitura aberta (ORF), com o programa localizador ORF identificando as regiões 5'-UTR e 3'-UTR de cada seqüência. O ORFs foi submetido ao Blastn (que consiste em um programa que compara a seqüência de nucleotídeos de entrada contra um banco de dados de sequências de nucleotídeos) (AMARAL *et al.*, 2007) para a identificação e seleção de sequências relacionadas aos genes. Este programa é muitas vezes aplicado a fim de encontrar semelhanças entre seqüências de nucleotídeos e de proteínas em bancos de dados com grande número de seqüências de vários organismos (PROSDOCIMI *et al.*, 2003). Nesta etapa, ORFs foram comparados com outras seqüências depositadas no banco de dados NCBI. Por último, o desenho de primers foi realizado utilizando o PRIMER3.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bioinformática associa engenharia e ciência abrangendo o desenvolvimento de novos métodos computacionais e suas aplicações para resolução de problemas biológicos. Ele também tem uma grande componente de serviço em que os recursos computacionais, tais como os bancos de dados que são operados para o benefício da comunidade de pesquisa (GOODMAN, 2002). Membros do gênero *Aeromonas* habitam ambientes aquáticos, e estão implicados em uma

série de infecções intestinais e extra-intestinais em seres humanos, bem como em outros animais. São oxidases positivos, com flagelo polar, metabolismo respiratório e fermentativo (anaeróbios facultativos) (PARKER e SHAW, 2011). Quatro locais foram usados para inserir os genes da bactéria do gênero *Aeromonas*. A partir do programa NCBI a seqüência em formato FASTA foi utilizada. Então, empregou-se o programa CAP3 software, utilizado para o agrupamento de seqüências similares e montagem de genômica contíguos, que foram identificados por partes iguais de seqüências, recebendo o gene "contig".

O Finder ORF (NCBI) é uma ferramenta que identifica todos os quadros de leitura abertos, utilizando os códigos padrão ou alternativa genética. As figuras 1 e 4 ilustram as ORF para as bactérias *A. piscicola* e para a *A. hydrophila*, respectivamente. A seqüência de aminoácidos pode ser salva em vários formatos e procurada na seqüência de banco de dados usando o servidor BLAST (NCBI).

O desenho de primers é um processo que exige conhecimento prévio de alguns conceitos da biologia molecular, tais como "dímeros de primer", loop, grampos de cabelo (estrutura secundária causada por homologia de seqüência interna na fita de DNA), entre outros. Recomenda-se também para a construção de primers com conteúdo GC acima de 50% e um comprimento mínimo de 22-24 pares de bases. O que vai permitir o uso de temperaturas de recozimento em torno de 56 ° C (maior especificidade de amplificação). Os primers são sempre construídos na direção 5'-3', e requer dois primers para amplificação (MALONE *et al.*, 2006).

O número de acesso ou *accession number* é o identificador do registro da sequencia depositada no *GenBank*, que combina letras e números, e que pertence então à coleção de seqüências do banco de dados. Normalmente, este identificador compreende a combinação de uma letra seguida de cinco dígitos ou duas letras e seis dígitos (AMARAL *et al.*, 2007).

Ele representa o relatório completo da seqüência e não somente a sequencia em si. A tabela 1 e 2 listam os números de acessos, com suas respectivas seqüências gênicas, utilizadas para a bactéria *A. piscicola* e para a *A. hydrophila*. Os resultados para a bactéria *A. piscicola* indicaram graus de compatibilidade com outras bactérias do gênero *Aeromonas*, como *A. bestiarum* (99%) e *Aeromonas salmonicida* (95%), descritas na figura 3. Enquanto que os resultados para a bactéria *A. hydrophila* indicaram diferentes graus de compatibilidade com diferentes espécies de bactérias, como *Edwardsella tarda*, (84%); *Aeromonas sobria* (92%); *Aeromonas salmonicida* (94%); *Aeromonas trota* (95); *Aeromonas jandaei* (94%); *Aeromonas popoffii*, (94%). Os resultados obtidos de semelhanças tem valor biológico, sobretudo no estudo da filogenia das espécies estudadas, assim como em estudos de patogenicidade daqueles organismos pouco elucidados. À medida que a seqüência dos genes é muito grande, a melhor maneira de identificar novos genes rapidamente é por métodos computacionais (*in silico*). Há agora muitos exemplos em que as empresas farmacêuticas têm identificados genes de interesse inicialmente por análise *in silico*, especialmente no campo da toxicologia para desenvolvimento de novos fármacos. Técnicas de bioinformática são, portanto, determinadas a desempenhar um

papel cada vez mais importante na descoberta de drogas (DUCKWORTH e SANSEAU, 2002; VALERIO JR, 2009), assim como na indústria de alimentos como no caso da *A. hydrophila* encontrados na água animais domésticos e alimentos (peixes, crustáceos) (DASKALOV, 2006).

No campo da biologia computacional existem vários bancos de dados públicos de periódicos e de resultados de pesquisas científicas. A principal ferramenta da pesquisa em bioinformática é o próprio computador e o seu resultante disponibilizado faz com que a utilização dos dados possa ser aproveitada de forma rápida e fácil (SANTOS, 2004). A utilização das informações dos bancos de DNA e proteínas é de grande utilidade para a elucidação da função e expressão de novos genes. Os dados disponíveis podem ser utilizados de duas formas, direta que implica em identificar seqüências similares, ou com propriedades comuns, e estabelecer relações entre elas (por exemplo, filogenia molecular); e indireta feita através da predição de regiões e seqüências de genes relacionados, em espécies desconhecidas, através de alinhamento local (BLAST) (MALONE *et al.*, 2006).

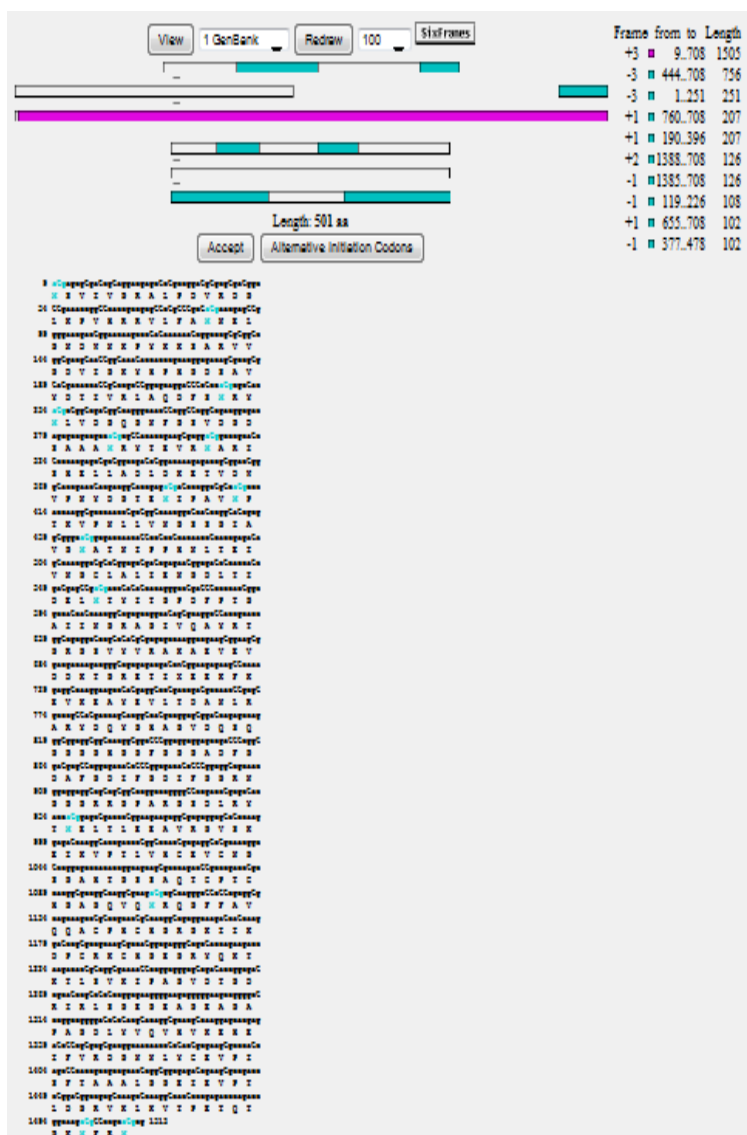


Figura 1: Localização da seqüência ORF correspondente >|cl|Sequence 1 ORF:9..1513 Frame +3 (em lilás), com 501 aminoácidos, para a bactéria *Aeromonas pisciicola*.

**Tabela 1:** Sítios de inserção usados em bioinformática para *Aeromonas piscicola*.

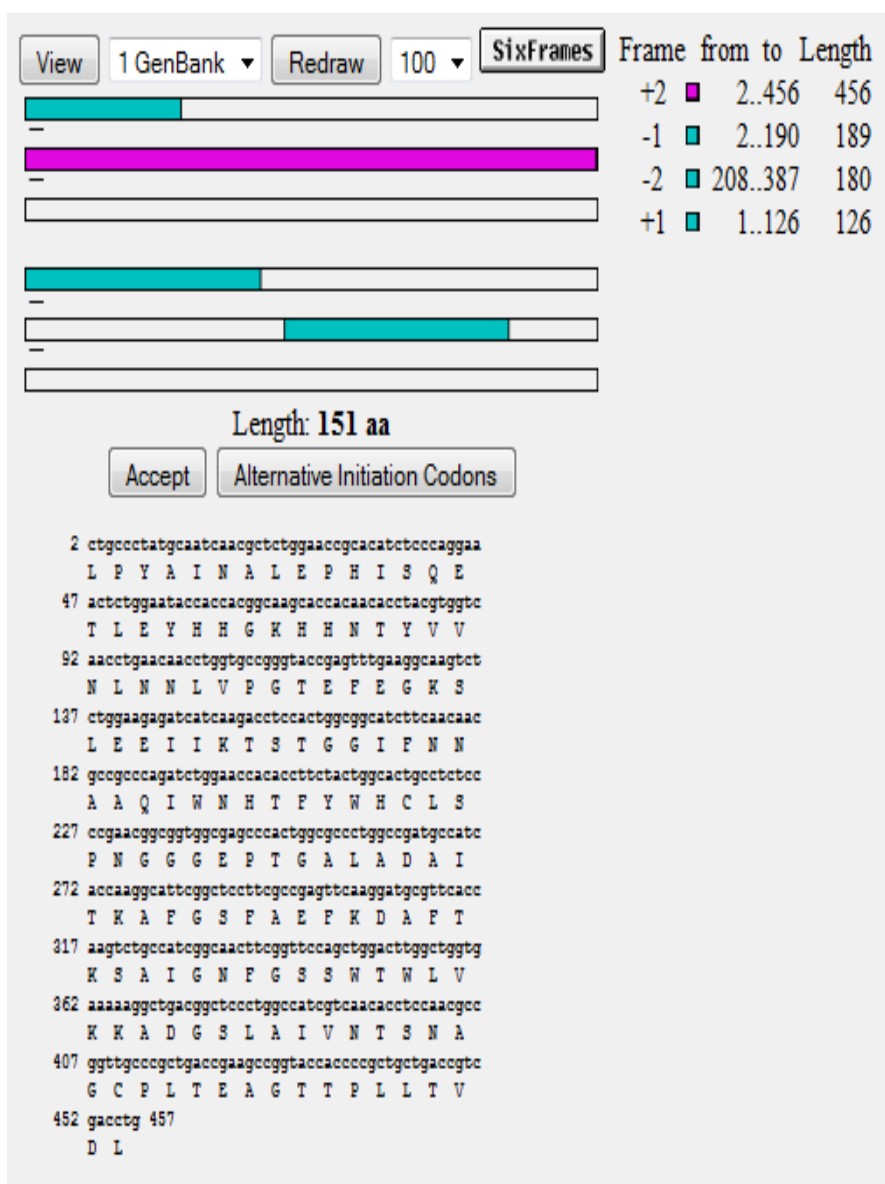
Número de acesso	Sequência	CAP3
>gj 332272968 gb HQ443104.1	ATTACGCCATGAGCGTGATCGTAG GA...	>Contig1 ATTACGCCATGAGCGTGATCGTAGGACGAGCTCTGCCGGA TG... >Contig2 GAAGAGAAGTTCAAAGAGGTCAAGGAAGCCTATGAGGTCC TGAC...
>gj 332272966 gb HQ443103.1	ATTACGCCATGAGCGTGATCGTAG GA...	
>gj 332272964 gb HQ443102.1	ATTACGCCATGAGCGTGATCGTAG GA...	
>gj 332272962 gb HQ443101.1	ATTACGCCATGAGCGTGATCGTAG GA...	
>gj 332272960 gb HQ443100.1	ATTACGCCATGAGCGTGATCGTAG GA...	
>gj 332272748 gb HQ442994.1	GAAGAGAAGTTCAAAGAGGTCAAG G...	
>gj 332272746 gb HQ442993.1	GAAGAGAAGTTCAAAGAGGTCAAG G...	
>gj 332272744 gb HQ442992.1	GAAGAGAAGTTCAAAGAGGTCAAG G...	
>gj 332272742 gb HQ442991.1	GAAGAGAAGTTCAAAGAGGTCAAG G...	
>gj 332272740 gb HQ442990.1	GAAGAGAAGTTCAAAGAGGTCAAG G...	

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
HQ442990.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2515 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1461	1461	53%	0.0	99%
HQ442991.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2516 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1456	1456	53%	0.0	99%
HQ442993.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2518 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1450	1450	53%	0.0	99%
HQ442992.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain CECT 7443 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1450	1450	53%	0.0	99%
HQ442989.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain MDC 162 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1450	1450	53%	0.0	99%
HQ442985.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain MDC 165 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1450	1450	53%	0.0	99%
HQ442986.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain MDC 4 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1445	1445	53%	0.0	99%
HQ442994.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2517 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1439	1439	53%	0.0	99%
HQ442987.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain MDC 34 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1439	1439	53%	0.0	99%
HQ442988.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain CECT 4227 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1428	1428	53%	0.0	98%
AB280554.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> dnaJ gene for DnaJ, partial cds, strain: GTC 2790	1428	1428	53%	0.0	98%
FM999950.1	<i>Aeromonas piscicola</i> partial dnaJ gene, strain TC1	1400	1400	50%	0.0	99%
FM999948.1	<i>Aeromonas piscicola</i> partial dnaJ gene, strain EO-0505	1400	1400	50%	0.0	99%
FM999951.1	<i>Aeromonas piscicola</i> partial dnaJ gene, strain TI 1.1	1395	1395	50%	0.0	99%
FM999949.1	<i>Aeromonas piscicola</i> partial dnaJ gene, type strain S1.2T	1395	1395	50%	0.0	99%
FM999954.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> partial dnaJ gene, strain 117P	1389	1389	50%	0.0	99%
FM999953.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> partial dnaJ gene, strain 116P	1389	1389	50%	0.0	99%
FM999952.1	<i>Aeromonas</i> sp. AH-3 partial dnaJ gene, strain AH-3	1389	1389	50%	0.0	99%
FM999955.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> partial dnaJ gene, strain J4N98	1384	1384	50%	0.0	99%
HQ443103.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2518 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1290	1290	46%	0.0	99%
HQ443102.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2515 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1290	1290	46%	0.0	99%
HQ443104.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2517 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1284	1284	46%	0.0	99%
HQ443100.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain CECT 7443 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1284	1284	46%	0.0	99%
HQ443101.1	<i>Aeromonas piscicola</i> strain MDC 2516 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1279	1279	46%	0.0	99%
HQ443097.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain CECT 4227 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1273	1273	46%	0.0	99%
AB280572.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. smithia dnaJ gene for DnaJ, partial cds, strain: GTC 2883	1273	1273	53%	0.0	95%
HQ443098.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain MDC 4 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1267	1267	46%	0.0	99%
HQ443096.1	<i>Aeromonas bestiarum</i> strain MDC 162 DNA gyrase subunit A (gyrA) gene, partial cds	1267	1267	46%	0.0	99%
HQ442981.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> strain MDC 44 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1267	1267	53%	0.0	95%
HQ442979.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> strain CECT 894 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1267	1267	53%	0.0	95%
GU734702.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. salmonicida strain AsCh08 chaperone protein DnaJ (dnaJ) gene, partial cds	1267	1267	53%	0.0	95%
AB504903.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. salmonicida dnaJ gene for chaperone protein DnaJ, partial cds	1267	1267	53%	0.0	95%
AB280569.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. masoucida dnaJ gene for DnaJ, partial cds, strain: GTC 2801	1267	1267	53%	0.0	95%
CP000644.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. salmonicida A449, complete genome	1267	2432	99%	0.0	96%
HQ442982.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> strain MDC 5 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1262	1262	53%	0.0	95%
HQ442980.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> strain MDC 25 chaperone Hsp40 (dnaJ) gene, partial cds	1262	1262	53%	0.0	95%
AB280568.1	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. achromogenes dnaJ gene for DnaJ, partial cds, strain: GTC 2796	1262	1262	53%	0.0	95%

**Figura 2:** Sequências produzindo alinhamentos significativos para a bactéria *Aeromonas piscicola*. Ilustração das sequências encontradas no Assembled RefSeq Genomes – BLAST.

**Tabela 2:** Sítios de inserção usados em bioinformática para *Aeromonas hydrophila*.

Número de acesso	Sequência	CAP3
>gi 7576373 dbj AB033444.1	CCAAGAACTCTGGAATACCACCACGGCAAGCACCACAA CACCTACGTGGTCAACCTGAACAACCTGG...	>Contig1 TCTGCCCTATGCAATCAACGCTCTGGAACCGC ACATCTCCCAGGAACTCTGGAAT...
>gi 7576371 dbj AB033443.1	TCTGCCCTATGCAATCAATGCTCTGGAACCGCACATCTCC CAGGAACTCTGGAATACCACCACGGCAA...	
>gi 7576369 dbj AB033442.1	TCTGCCCTATGCAATCAACGCTCTGGAACCGCACATCTCC CAGGAACTCTGGAATATCACCACGGCAA...	



**Figura 3:** Localização da sequência ORF correspondente >Icl|Sequence 1 ORF:2..457 Frame +2 (em lilás), com 151 aminoácidos, para a bactéria *Aeromonas hydrophila*.

## CONCLUSÕES

Aplicando as técnica *in silico* obtemos a aproximação genética entre *Aeromonas* sp. O resultado da análise pelo BLASTx utilizando-se o banco não redundante de sequência, indicou que a sequência em análise apresentou homologia com sequência das *Aeromonas* sp.

Foi possível detectar homologia com sequências de diferentes gêneros de varias espécies de bactérias e as sequencias de genes similares às espécies de *Aeromonas* e detectado sua aproximação com outras espécies de bactérias como a *Edwardsella tarda*, resultados importantes, sobretudo para a indústria médica e farmacêutica.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, A. M.; REIS, M. S.; SILVA, F. R.. **Programa BLAST**: guia prático de utilização. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

BEAZ-HIDALGO, R.; FIGUERAS, M. J.; ROMALDE, J. L.. *Aeromonas piscicola* sp. nov., isolated from diseased fish. **Systematic and Applied Microbiology**, v.32, n.4, p.471–479, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2009.06.004>

BLAST. **Assembled Ref Seq Genomes Blast**. Disponível: [blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi). Acesso: 11 Set 2011.

CASTRO-ESCARPULLI, G.; AGUILERA-ARREOLA, G.; SOLER, L.; FERNÁNDEZ-RENDÓN, E.; GUARRO, G. O.; GUARRO, J.; CHACÓN, M. R.. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. **International Journal of Food Microbiology**, v.84, n.1, p.41-49, 2003. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00393-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00393-8)

DASKALOV, H.. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. **Food Control**, v.17, n.6, p.474-483, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.009>

DUCKWORTH, M.; SANSEAU, P.. *In silico* identification of novel therapeutic targets. **Drug Discovery Today**, v.7, n.11, p. S64-S69, 2002. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446\(02\)02282-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446(02)02282-1)

EZZIANE, Z.. Applications of artificial intelligence in bioinformatics: a review. **Expert Systems with Applications**, v.30, n.1, p.2-10, 2006.

GOODMAN, N.. Biological data becomes computer literate: new advances in bioinformatics. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, n.1, p.68-71, 2002. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00287-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00287-2)

HUANG, X.; MADAN, A.. CAP3: a DNA sequence assembly program. **Genome Research**, v.9, p.868-877, 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1101/gr.9.9.868>

HUSS, H. H.. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. Roma: FAO, 1997.

MALONE, G.; ZIMMER, P. D.; MENEGHELLO, G. E.; BINNECK, E.; PESKE, S. T.. Prospecção de genes em bibliotecas de cDNA. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.1, p.07-13, 2006.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Nucleotide**. Disponível: [www.ncbi.nlm.nih.gov/guide](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide). Acesso: 12 Set 2011.

OPEN READING FRAME FINDER. **ORFinder**. Disponível: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf). Acesso: 12 Set 2011.



- PARKER, J. L.; SHAW, J. G.. *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. **Journal of Infection**, v.62, n.2, p.109-118, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2010.12.003>
- PEREIRA JUNIOR, D. J.; FIGUEIREDO, H. C. P.; CARNEIRO, D. O.; LEAL, C. A. G.. Concentração inibitória mínima de oxitetraciclina para isolados de *Aeromonas hydrophila* obtidos de diferentes fontes. **Ciênc. agrotec.**, v.30, p.1190-1195, 2005.
- PROSDOCIMI, F.; CERQUEIRA, G. C.; BINNECK, E; SILVA, A. F.; REIS, A. N.; JUNQUEIRA, A. C. M.; SANTOS, A. C. F.; NHANI-JÚNIOR, A.; WUST, C. I.; CAMARGO-FILHO, F.; KESSEDJIAN, J. L.; PETRETSKI, J. H.; CAMARGO, L. P.; FERREIRA, R. G. M; LIMA, R. P.; PEREIRA, R. M.; JARDIM, S.; SAMPAIO, V. S.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V.. Bioinformática: manual do usuário. **Biotecnologia**. Ciência & Desenvolvimento, n.29, p.18-31, 2003.
- RODRIGUES, D. P.; RIBEIRO, R. V.. *Aeromonas*. In: VIEIRA, R. H. S. F.. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Varela, 2003. p.151-174
- ROZEN, S.; SKALETSKY, H.. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: KRAWETZ, S.; MISENER, S.. **Bioinformatics methods and protocols: methods in molecular biology**. Totowa: Humana Press, 2000. p.365-386
- SANTOS, E. C.. **Uma introdução à bioinformática através da análise de algumas ferramentas de software livre ou de código aberto utilizadas para o estudo de alinhamento de sequencias**. Monografia (Graduação) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2004.
- SEQUENCE ASSEMBLY PROGRAM. **CAP3**. Disponível: [pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php](http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php). Acesso: 12 Set 2011.
- SILVA, R. M. L.. **Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.
- VALERIO JR, L. G.. *In silico* toxicology for the pharmaceutical sciences. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.241, n.3, p.356-370, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2009.08.022>