

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**Alto fluxo gênico e baixa diversidade genética
mitocondrial de *Genidens genidens* no litoral
do Espírito Santo**

Rafaela Rodrigues De Sousa Santos

SÃO MATEUS/ES

Novembro/2023

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**Alto fluxo gênico e baixa diversidade genética
mitocondrial de *Genidens genidens* no litoral
do Espírito Santo**

Rafaela Rodrigues De Sousa Santos

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Espírito Santo, como requisito para a
obtenção do Título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Orientador (a): Profa. Dra. Ana Paula Cazerta Farro

Coorientador (a): Dra. Cecili Barrozo Mendes

SÃO MATEUS/ES

Novembro/2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: **Rafaela Rodrigues de Sousa Santos**

Título:

**Alto fluxo gênico e baixa diversidade genética mitocondrial de
Genidens genidens no litoral do Espírito Santo**

Monografia do Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado)
Defendida e aprovada em 22 / 11 / 2023

Com nota 9 pela comissão julgadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br ANA PAULA CAZERTA FARRO DA ROSA
Data: 12/12/2023 07:22:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador(a) e presidente da Comissão Examinadora
Professora. Doutora. Ana Paula Cazerta Farro UFES

Prof. Dr. Mauricio Hostim Silva
CEUNES - UFES
SHAPE: 1651997
Examinador 1

Professor. Doutor. Mauricio Hostim Silva UFES

Lorena Lopes Almeida

Examinador 2

Doutora. Lorena Lopes Almeida UFES

Cecili Barrozo Mendes

Coorientador

Doutora. Cecili Barrozo Mendes UFES

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro dos gigantes.”

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha gratidão a Deus, pois sem Ele, eu não estaria aqui.

Em seguida, quero agradecer à minha família e amigos pelo apoio constante. Minha mãe, irmã, avó, tia, primos - todos vocês tornaram meus dias mais leves durante os desafios da faculdade.

Um agradecimento especial ao meu namorado, Vanderlei Pinheiro dos Santos. Sua ajuda e apoio foram fundamentais em todos os momentos. Ele é minha inspiração, uma pessoa extremamente inteligente que compartilha seus conhecimentos ao meu lado. Amo você, obrigada por tudo.

À minha orientadora, Ana Paula Cazerta Farro, sua orientação foi um farol que iluminou meu caminho desde o estágio 2 até o trabalho de conclusão de curso. Sua paciência, dedicação e habilidade em explicar conceitos foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico. Agradeço por sempre estar disposta a esclarecer dúvidas, orientar com carinho e incentivar meu desenvolvimento. A experiência de ter você como orientadora foi enriquecedora, e sua contribuição deixou uma marca significativa em minha jornada acadêmica. Muito obrigada por ser uma mentora excepcional.

À minha coorientadora, Cecili Barrozo Mendes, meu agradecimento por estar sempre presente e ajudar em tudo que precisei. Desde PCR até aprender a mexer em outros programas, você sempre me ensinou com paciência. Agradeço por tudo. Tenho uma profunda admiração por você, reconhecendo sua sabedoria e inteligência excepcionais. Desejo que continue compartilhando essas qualidades com outras pessoas. Sua contribuição como minha coorientadora foi fundamental, pois absorvi valiosos conhecimentos ao seu lado.

Não posso esquecer de agradecer ao laboratório "GECOM", que me acolheu desde o início. Às meninas que me ajudaram na monografia, como Dahi, Gabriela Ortalane, Vanessa, Mylla, Karla, Manu, e todas as outras que sempre estiveram dispostas a auxiliar em tudo.

Por fim, um agradecimento às minhas amigas (o) da faculdade, em especial Amanda Garito, Isabela Kellen, Leonan Rodrigues, Gabriela Costa, Lívia Batista, Lharyssa Nunes, Carolyn Mendes e Maria Clara. Agradeço por fazerem parte da minha vida e tornarem meus dias, almoços e aulas melhores.

Um agradecimento especial a Lharyssa Nunes, companheira de laboratório e de vida. Sua amizade é essencial, e obrigada por todos os momentos compartilhados. Agradeço por essa amizade que surgiu espontaneamente e que se tornou indispensável em minha vida. Às

amigas Carolyna Mendes e Maria Clara, que tornaram meus dias os melhores possíveis. A amizade de vocês é essencial na minha vida, pois com vocês as risadas e fofocas são garantidas. Amo vocês.

Não posso deixar de expressar minha gratidão ao Laboratório de Ecologia de Peixes Marinhos por esclarecer minhas dúvidas sobre coleta e outros assuntos.

Por fim, obrigada a todos que contribuíram de alguma forma para a minha monografia e por todos os momentos compartilhados. Se alcancei este ponto, é graças ao suporte que recebi dos grandes que me precederam, segundo as palavras de Isaac Newton.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	6
2.1 - Geral	6
2.2 - Objetivos específicos	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Coleta	7
3.2 Extração de quantificação do DNA	8
3.4 Análise de diversidade e construção de rede de haplótipos	10
4. RESULTADOS	10
5. DISCUSSÃO	15
6. CONCLUSÃO	17
7. REFERÊNCIAS	18

RESUMO

A família Ariidae é composta por 131 espécies de bagres marinhos encontrados em áreas tropicais e temperadas, abrangendo regiões litorâneas, estuarinas e de rios. Um membro dessa família é a espécie *Genidens genidens*, também conhecida como "bagre-guri", endêmica da América do Sul. Com um corpo robusto e alongado, *G. genidens* é encontrada principalmente em águas costeiras e estuarinas, sendo distribuída desde a Colômbia até o Rio da Prata, na Argentina. Essa espécie possui grande importância pesqueira. Além disso, suas características reprodutivas, como o cuidado parental e o desenvolvimento sincronizado dos ovócitos, têm sido objeto de diferentes estudos científicos. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional de *G. genidens* no litoral do Espírito Santo, comparando a diversidade genética entre os rios afetados pelo desastre ambiental de Mariana, MG. As áreas de estudo abrangem regiões impactadas pela lama de rejeito de minério, aumentando a relevância da pesquisa, que contribuirá na compreensão da magnitude do impacto e no planejamento de futuras medidas de recuperação dos *stocks* desta espécie. As coletas dos peixes foram realizadas na região da foz do rio Doce (n = 40) e nos estuários dos rios Ipiranga (n= 39) e São Mateus (n=40), totalizando 119 indivíduos. Foram realizados três arrastos em cada ponto amostral, com auxílio de redes de arrasto de fundo ou de balão. O DNA foi extraído, a partir de um método que utiliza solução salina. Dos 119, indivíduos, 97 foram sequenciados e editados (fragmentos de 744 bp). Foram identificados cinco haplótipos no rio Ipiranga, cinco no rio Doce e três no rio São Mateus, fazendo um total de oito haplótipos. A diversidade haplotípica foi moderada ($h = 0,6836$), enquanto a diversidade nucleotídica foi baixa ($0,001256 \pm 0,000966$). O teste de F_{ST} não mostrou estrutura genética significativa entre os locais amostrados. Os testes de D Tajima e F_s de FU não indicaram expansão populacional, visto que os valores de p não foram significativos. Nossos resultados indicam que os indivíduos encontrados nos três rios representam uma única população, com fluxo gênico moderado entre as localidades amostradas, possivelmente relacionado a características como a movimentação sazonal entre ambientes com diferentes níveis de salinidade, que facilita a migração. Tais resultados devem ser considerados para a conservação e manejo sustentável dessa espécie. Assim, é indicado o monitoramento dessa diversidade em uma maior escala temporal, a fim de verificar a tendência (aumento ou diminuição) dos índices de diversidade ao longo do tempo.

Palavras-Chave: ATPase 6 e 8; Bagre-guri; Diversidade genética; Peixes marinhos.

ABSTRACT

The Ariidae family is made up of 131 species of marine catfish found in tropical and temperate areas, covering coastal, estuarine and river regions. One member of this family is the species *Genidens genidens*, also known as the "guri catfish", which is endemic to South America. With a robust, elongated body, *G. genidens* is found mainly in coastal and estuarine waters, and is distributed from Colombia to the Río de la Plata in Argentina. This species is of great fishing importance. In addition, its reproductive characteristics, such as parental care and synchronized oocyte development, have been the subject of various scientific studies. In this context, the aim of this study was to assess the genetic diversity and population structure of *G. genidens* on the coast of Espírito Santo, comparing the genetic diversity between the rivers affected by the environmental disaster in Mariana, MG. The study areas cover regions impacted by the ore tailings sludge, increasing the relevance of the research, which will contribute to understanding the magnitude of the impact and to planning future recovery measures for stocks of this species. Fish were collected in the region of the mouth of the Doce River (n = 40) and in the estuaries of the Ipiranga (n = 39) and São Mateus (n = 40) rivers, totaling 119 individuals. Three trawls were carried out at each sampling point, using bottom or balloon trawls. DNA was extracted using a saline solution method. Of the 119 individuals, 97 were sequenced and edited (744 bp fragments). Five haplotypes were identified in the Ipiranga River, five in the Doce River and three in the São Mateus River, making a total of eight haplotypes. Haplotypic diversity was moderate ($h = 0.6836$), while nucleotide diversity was low (0.001256 ± 0.000966). The F_{ST} test showed no significant genetic structure between the sites sampled. The D Tajima and F_s FU tests did not indicate population expansion, as the p-values were not significant. Our results indicate that the individuals found in the three rivers represent a single population, with moderate gene flow between the sites sampled, possibly related to characteristics such as seasonal movement between environments with different salinity levels, which facilitates migration. These results should be considered for the conservation and sustainable management of this species. It is therefore advisable to monitor this diversity on a longer time scale in order to verify the trend (increase or decrease) of diversity indices over time.

Keywords: ATPase 6 and 8; Catfish; Genetic diversity; Marine fish.

1. INTRODUÇÃO

A família de peixes Ariidae é composta por 131 espécies (MARCENIUK *et al.*, 2023). Sendo a maioria das espécies associadas a águas costeiras e tropicais, estuários e rios (FIGUEIREDO & MENEZES, 1978; MARCENIUK, 2005). Habitando regiões litorâneas, estuarinas e rios em regiões tropicais e temperadas (MARTINELLI, 2010). Os bagres pertencentes a esta família ocorrem em zonas litorâneas sendo geralmente mais abundantes em águas costeiras pouco profundas, em fundo lodoso ou arenoso, além disso, migram para as embocaduras dos rios e regiões lagunares na época da desova (FIGUEIREDO & MENEZES, 1978). Sua reprodução normalmente ocorre do início da primavera ao fim do verão nos meses mais quentes do ano, no período chuvoso, quando há maior captação dos rios e menores níveis de salinidade (GOMES & ARAÚJO 2004; FÁVARO *et al.*, 2005). As regiões estuarinas e costeiras são consideradas áreas de alimentação, reprodução e abrigo para este grupo (GURGEL *et al.*, 2000).

Dentro da família Ariidae temos o gênero *Genidens*, composto por quatro espécies de bagres marinhos endêmicos do litoral da América do Sul, bem caracterizadas morfologicamente (MARCENIUK & FERRARIS, 2003; MARCENIUK, 2005), sendo elas: *Genidens genidens* (CUVIER, 1829); *G. planifrons* (HIGUCHI *et al.*, 1982); *G. barbatus* (LACEPEDE, 1803) e *G. machadoi* (MIRANDA-RIBEIRO, 1918). Este gênero, historicamente, é considerado importante para os recursos pesqueiros nas regiões Sudeste e Sul do Brasil (MARCENIUK & MENEZES, 2007) apresentando duas espécies classificadas como ameaçadas de extinção: o bagre branco *G. barbatus*, (*EN ameaçado*) e o bagre-boca *G. planifrons* (*CR criticamente ameaçado*) (MMA, 2014; RIO GRANDE DO SUL, 2014).

Genidens genidens está distribuída pela costa leste da América do Sul, desde a Colômbia até o Rio da Prata, na Argentina (Figura 1) (ACERO, 2009). Tem como habitat águas costeiras e estuarinas, possuindo uma grande importância econômica (REIS, 1986).



FIGURA 1. Mapa representativo da distribuição de *Genidens genidens*, conforme avaliação da IUCN. As regiões destacadas ilustram as áreas de ocorrência dessa espécie.

A espécie (Figura 2) é conhecida popularmente por “bagre-urutu”, “bagre-favudo”, “bagre-guri” ou “caçari”. Possui comprimento máximo de 350 mm (MARCENIUK & MENEZES, 2007) e um corpo robusto e alongado (Figura 2) (FIGUEIREDO & MENEZES, 1978). É comumente encontrada em grande número em estuários e lagoas, sendo um dos bagres que mais ocorre na costa brasileira. Ademais, *G. genidens* foi caracterizado por ser uma espécie dependente de estuários (FIGUEIREDO & MENEZES, 1978; ANDRADE-TUBINO *et al.*, 2008), podendo completar todo o seu ciclo de vida em ambientes estuarinos (ELLIOTT *et al.*, 2007). Sua principal característica diagnóstica é a presença de dentes palatinos situados em duas protuberâncias carnosas, uma de cada lado do palato, sendo poucos desenvolvidos e aciculares, reunidos em pequenos grupos nas projeções carnosas (FIGUEIREDO & MENEZES, 1978). *Genidens genidens* é uma das espécies de peixes estudada sob diferentes aspectos, incluindo distribuição (MISHIMA & TANJI, 1981; AZEVEDO *et al.*, 1999), dieta (RABITTO & ABILHÔA, 1999), reprodução (MAZZONI *et al.*, 2000) e pesca (REIS, 1986). Além disso, essa espécie é considerada como um indicador-chave dos estuários em alguns estudos (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2013;

RODRIGUEZ-CEA *et al.*, 2006). Isso sugere que eles poderiam ser utilizados como sentinelas dos estuários devido à sua capacidade de tolerância à eutrofização e a outras alterações provocadas pela ação humana, os bagres são notáveis por sua capacidade de tolerar condições ambientais desafiadoras, a diminuição da concorrência proveniente de espécies menos adaptadas a essas condições específicas pode propiciar a ascensão da dominância de *G. genidens* (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2013;) sendo um peixe indicador de qualidade ambiental, tornando, assim, a pesquisa sobre sua biologia uma prioridade.



FIGURA 2. Indivíduo da espécie *Genidens genidens*.

Fonte: (Fishbase: Sazima, 2001)

Esse animal possui características correspondentes a uma espécie estrategista-K, cujo a maior parte da energia é direcionada para o processo de desova associado a cuidados parentais bem desenvolvidos (GOMES & ARAÚJO, 2004). Os machos realizam a incubação oral (MAZZONI *et al.*, 2000; GARCIA *et al.*, 2006), reduzindo a mortalidade da prole nos primeiros estágios do ciclo de vida (CONAND *et al.*, 1995). Ademais, possui desenvolvimento oocitário síncrono (SCHMIDT *et al.*, 2008), o que também implica na desova total e baixa fecundidade (GOMES *et al.*, 1999).

Em um estudo sobre a biologia reprodutiva na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil, observou-se que os valores médios do Índice de Desenvolvimento Gonadal (IGS) dos machos apresentaram um aumento considerável em fevereiro/março, atingindo o pico em abril/maio, enquanto nas fêmeas, o pico foi registrado em dezembro/janeiro (GOMES, 1999). Os valores mais baixos tanto para machos quanto para fêmeas ocorreram entre junho e setembro. Esse padrão temporal sugere que, a partir de dezembro, as fêmeas estão prontas para a reprodução, enquanto a maioria dos machos amadurece nos meses seguintes, principalmente entre fevereiro e maio (GOMES, 1999). As mudanças sazonais nas populações em relação ao

habitat de peixes de água doce, estuarinos e marinhos são o resultado de variações em fatores ambientais como precipitação e salinidade. Trabalhos anteriores sobre os padrões de abundância espacial de recrutas e adultos de *G. genidens* no estuário da Lagoa dos Patos mostraram que indivíduos maiores procuram as áreas de menor salinidade da lagoa para se reproduzir, enquanto indivíduos menores usam o estuário como berçário (ARAÚJO, 1988).

Análises de conteúdo estomacal mostram que *G. genidens* possui estratégia alimentar do tipo generalista-oportunista (ARAÚJO, 1984; VALERÍN-SOLANO, 1999), consumindo diferentes organismos, tais como *Callinectes* sp., poliquetas, tanaidáceos, misidáceos, isópodes, anfípodes e gastrópodes (ARAÚJO, 1984). Além disso, alguns estudos de abundância enfatizam a importância do ambiente estuarino em relação à alimentação para *G. genidens* (ARAÚJO, 1988). Este serve de área de criação para os indivíduos jovens, além de fornecer alimento durante todo o ano. Também na Baía de Guaratuba, Paraná, constatou-se que a alimentação dessa espécie é influenciada pelas condições ambientais, já que sua dieta foi variada durante o ano. Acredita-se que seu hábito alimentar generalista e variável se deve ao fato de sua predisposição anatômica, como: suas fortes placas dentígeras, que ajudam a comer alimentos rígidos (conchas, esqueletos e carapaças); seu estômago que consegue armazenar os itens ingeridos durante um bom tempo; sua fenda bucal pronunciada, permitindo a digestão de presas inteiras; e os barbilhões mentonianos e maxilares que ajudam reconhecer itens no fundo. Esses fatores ajudam na alimentação variável desta espécie (RABITTO *et al.*, 1888; CHAVES *et al.*, 1996).

Tanto os bagres marinhos quanto os de água salobra são utilizados na alimentação humana, sendo um importante recurso pesqueiro (MALABARBA, 2013). *Genidens genidens* é uma espécie comercial importante para a pesca artesanal (REIS, 1986). Um estudo realizado por CHAO *et al.*, (1982) no estuário da Lagoa dos Patos, demonstrou que a família Ariidae representada por *Netuma barba* (LACEPEDE, 1803), *Netuma planifrons* (HIGUCHI *et al.*, 1982) e *Genidens genidens* (VALENCIENNES, 1833), compõe 20% do número e peso da captura total dos arrastos de fundo experimentais. Na pesca artesanal aproximadamente 12% do peso total das capturas provém destes peixes, enquanto na pesca industrial na plataforma continental estes bagres constituíram menos de 1% do peso total de peixes nos anos 1980, 1981 e 1982 (Superintendência do Desenvolvimento da Pesca - SUDEPE -Rio Grande, RS). Um estudo realizado na Baía de Guaratuba, Paraná, revelou que essa espécie se dispersa em baías e estuários (GOMES *et al.*, 1999), além disso, diversas espécies da família Ariidae, como a espécie *G. genidens*, são vulneráveis à sobrepesca devido às características de sua biologia reprodutiva, que resultam em uma recuperação lenta do estoque (KING, 1995). Apesar da sua aparente capacidade de resistir a condições desfavoráveis, a combinação de

uma baixa taxa de reprodução e um intenso cuidado parental torna este tipo de bagre particularmente suscetível à redução da sua população devido à pressão exercida pela pesca e distúrbios como degradação ambiental (RODRIGUES *et al.*, 2008; LOWERRE-BARBIERI *et al.*, 2015, 2016).

Dada a importância econômica, ecológica e social mencionada anteriormente, torna-se imperativo realizar estudos sobre a genética da espécie em questão, para avaliar os níveis de diversidade genética das populações. A taxonomia e sistemática do grupo Ariidae trazem desafios de compreensão devido às notáveis similaridades morfológicas, à plasticidade fenotípica e à falta de consistência nos caracteres usados para discriminar as espécies, conforme evidenciado em estudos anteriores (MARCENIUK *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2016; MARCENIUK *et al.*, 2017; 2019). No contexto do gênero *Genidens*, um estudo conduzido por Cerqueira (2022) revelou que os indivíduos coletados ao longo da costa, abrangendo a região do Sudeste ao Sul do Brasil, exibiram diferenças genéticas significativas entre si. A análise da diversidade e diferenciação genética é crucial para a conservação global (MCNEELY *et al.*, 1990). Ao longo dos anos, os estudos sobre a diversidade genética desempenham um papel crucial na formulação de estratégias de conservação, proporcionando um entendimento mais profundo da variedade genética das populações. Isso possibilita a identificação das espécies que requerem medidas específicas de proteção e preservação (JOHNS, 2001).

No estudo de populações, a escolha dos marcadores genéticos adequados pode variar de acordo com o organismo em análise. O DNA mitocondrial (mtDNA) assume um papel de extrema relevância em pesquisas que abordam a evolução animal, filogeografia e genética populacional, como evidenciado por diversos estudos prévios (AGNESE *et al.*, 1997; ROKAS *et al.*, 2003; AZEVEDO *et al.*, 2008; ORTI *et al.*, 2008). No contexto deste estudo, foi adotada a utilização dos marcadores ATPase 6 e 8. Um exemplo destacado desse enfoque reside no estudo conduzido com espécies de peixes do gênero *Zungaro* (Siluriformes, Pimelodidae), cujo propósito foi analisar a diversidade genética inerente a esse gênero. As análises foram direcionadas para as regiões do DNA mitocondrial, compreendendo tanto a região do controle quanto o gene ATPase 6 (BONI *et al.*, 2011). Esses marcadores têm se mostrado eficazes no monitoramento genético de populações, detecção de gargalos genéticos e análise populacional em escalas de tempo, além de rápidas substituições de nucleotídeos e altos níveis de mudanças microevolutivas e polimorfismos intraespecíficos (TEODORO, 2018). A utilização desses marcadores possibilita inferências sobre a relação entre táxons próximos e a evolução das populações por meio da análise de fluxo gênico, estrutura da população e especiação (AVISE, 1994). Trabalho utilizando esta metodologia, como Barros

(2020), conseguiu obter importantes resultados sobre a diversidade haplotípica, nucleotídica e estruturação genética para a espécie de peixe *Stellifer rastrifer*, da família Sciaenidae.

O conhecimento genético é necessário para se desenhar estratégias de manejo adequadas para garantir a conservação da espécie e sustentabilidade no uso desses peixes (CADRIN *et al.*, 2014). É importante salientar que, em novembro de 2015, no município de Mariana, MG, ocorreu o rompimento da barragem de Fundão, pertencente à mineradora Samarco. A lama de rejeito percorreu mais de 600 quilômetros até chegar ao litoral do Espírito Santo, na foz do Rio Doce, o que conseqüentemente resultou na morte de muitas espécies, diversas das quais não há conhecimento prévio do estado de conservação das populações locais (FRANCINI-FILHO, 2019; BARROS, 2020). É crucial ressaltar a necessidade urgente de avaliar o estado dessas espécies após a ocorrência desse desastre ambiental, visto que as áreas de amostragem escolhidas para esse estudo estão diretamente associadas às regiões afetadas pelo rejeito da barragem, tornando a investigação ainda mais relevante para compreender o impacto e as possíveis medidas de mitigação necessárias para a recuperação dessas populações e dos ecossistemas afetados.

Desta forma, levando-se em consideração que a espécie *Genidens genidens* é importante não só para a pesca, mas também para o equilíbrio ecológico, uma vez que, devido ao pouco conhecimento sobre sua estrutura populacional, as políticas de manejo existentes para este recurso são limitadas a algumas áreas (SUDEPE, 1984; MMA, 2004), é de extrema importância que haja mais estudos genéticos e ecológicos sobre a espécie. Nesse estudo pretende-se oferecer uma compreensão mais abrangente da história populacional da espécie nas regiões da Foz do Rio Doce e dos estuários dos rios São Mateus e Ipiranga, no litoral do Espírito Santo.

2. OBJETIVOS

2.1 - Geral

Avaliar a diversidade genética e a estruturação populacional de *Genidens genidens* no litoral do Espírito Santo, com ênfase na Foz do Rio Doce e estuários dos rios São Mateus e Ipiranga.

2.2 - Objetivos específicos

- Gerar seqüências da região dos genes ATPase 6 e ATPase 8 do DNA mitocondrial de *Genidens genidens*;
- Avaliar a diversidade e estruturação da espécie nas diferentes localidades amostrais;
- Comparar a diversidade genética pela chegada e deposição do rejeito dos rios estudados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta

As amostras utilizadas foram coletadas em colaboração com o Laboratório de Ecologia de Peixes Marinhos no Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES / UFES), no âmbito do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática (PMBA), sob a licença ambiental para a coleta nº 74802-5. Para a coleta de indivíduos foram realizados três arrastos em cada ponto amostral com auxílio de redes de arrasto de fundo ou de balão (um artefato de formato cônico, subdividido em corpo, asas e ensacador, com boias presentes na tralha superior e pesos na tralha inferior), na região das fozes dos rios Doce, Ipiranga e rio São Mateus, abrangendo o período de 2018, 2019, 2021 e 2022 (figura 3).

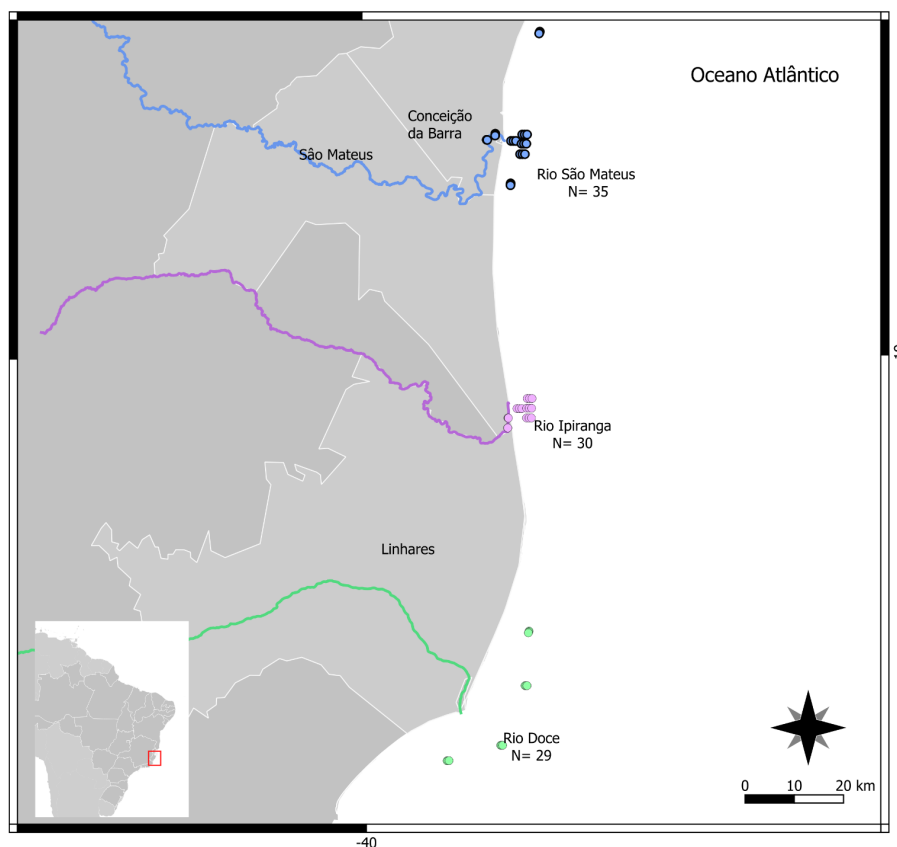


Figura 3. Pontos de coleta da espécie *Genidens genidens* na região da foz do Rio Doce e dos estuários dos rios Ipiranga e São Mateus (2018, 2019 e 2021 e 2022), ES.

Os peixes foram eutanasiados seguindo o Guia Prático para Eutanásia do Conselho Nacional para Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Foi aplicada uma anestesia com solução de benzocaína até a eutanásia, e os peixes foram acondicionados em sacos

plásticos rotulados e congelados, contendo informações sobre o ponto de coleta, local do arrasto e data. No Laboratório de Ecologia de Peixes Marinhos do CEUNES-UFES, os peixes foram identificados quanto ao ponto, arrasto, local e data de coleta. O material coletado foi identificado por meio da técnica de "DNA barcoding". Para esse propósito, a região do gene COI (Citocromo Oxidase I) foi amplificada, e em seguida, realizou-se uma análise de "blast" no banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) para confirmar a identificação dos indivíduos como pertencentes à espécie *Genidens genidens*.

Em seguida, foi retirado um pedaço de músculo de cada indivíduo. Para tanto, foram utilizados bisturis e pinças metálicas esterilizados com hipoclorito e álcool 70%, passando por um processo de flambagem, a fim de evitar a contaminação. Após a remoção, as amostras foram acondicionadas em microtubos contendo álcool 96% e encaminhadas ao Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do CEUNES, UFES.

No total, foram coletadas amostras de acordo com a disponibilidade de indivíduos, sendo 40 indivíduos provenientes do Rio Doce, 39 do Rio Ipiranga e 40 do Rio São Mateus, totalizando 119.

3.2 Extração e quantificação do DNA

A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA), seguindo o protocolo de extração com solução salina, conforme descrito por BRUFORD *et al.*, 1992. Nesse processo, um pedaço do músculo foi delicadamente picotado e colocado em um microtubo de 1,5 mL contendo uma solução de lise. Essa solução é composta por 410 µL de Buffer de Extração, 80 µL de SDS 10% e 10 µL de proteinase K. Em seguida, o microtubo foi inserido em um banho-seco a 55 °C, onde permaneceu por 12 a 16 horas, permitindo que ocorresse a completa lise celular.

Após esse período, a solução foi submetida a centrifugação de 13.000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante resultante foi transferido para um novo microtubo de 1,5 mL, ao qual foi adicionado 180 µL de NaCl (5M). Para garantir a completa homogeneização, a solução foi invertida delicadamente por 50 vezes e, em seguida, passou por uma nova centrifugação nas mesmas condições anteriores. Para prosseguir com a purificação, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo contendo 1 mL de isopropanol gelado. Após homogeneização e uma nova centrifugação a 13.000 rpm por sete minutos, o sobrenadante foi descartado. Para assegurar a remoção de impurezas, adicionou-se 250 µL de etanol 80%, seguido de 50 inversões delicadas da solução. Uma última centrifugação foi realizada sob as mesmas condições anteriores, e o sobrenadante foi novamente descartado. Em seguida, os tubos foram invertidos sobre um pedaço de papel e colocados em um banho-seco a 55° C até

que o etanol residual fosse completamente evaporado. Após isso, o DNA foi ressuspensionado adicionando 50 μL de água ultrapura ao tubo.

Uma vez completada a etapa de extração e ressuspensão do DNA, foram realizadas as quantificações das amostras utilizando o espectrofotômetro NanoDrop - ND100. Nesse processo, 1 μL do DNA extraído foi utilizado. Após a quantificação, o DNA foi diluído para uma concentração final de 20 $\text{ng}/\mu\text{L}$ em água ultrapura, garantindo assim uma adequada concentração para as próximas etapas do experimento.

3.3 Amplificação por PCR

Foram realizadas as reações de amplificação em cadeia da polimerase (PCR), visando isolar a região dos genes adjacentes ATPase 6 e ATPase 8 do mtDNA utilizando o primer L'9236/H 8331 (HUGHES & HILLYER, 2006). A solução final foi composta por 2 μL de tampão 10x PCR Buffer (Invitrogen), 0,027 mM de MgCl_2 (50 mM), 0,003 mM de dNTP (10 mM), 0,006 mM, dos primers L'9236/H 8331 (10mM), 1 unidade de Taq DNA Polimerase e água ultrapura suficiente para completar o volume final da reação de 20 μL .

O protocolo de amplificação consistiu em uma desnaturação inicial de 5 min a 95 °C, seguida por 35 ciclos de desnaturação de 1 min a 94 °C, anelamento de 30 s a 56 °C e extensão de 2 min a 72 °C. Por fim, ocorreu uma extensão final de 10 min a 72 °C. Os fragmentos de DNA amplificados foram corados com GelRed e visualizados em um gel de agarose 1 %, utilizando um transluminador ultravioleta.

Para a purificação do DNA amplificado e a eliminação de potenciais inibidores do sequenciamento foi utilizado 1 μL da enzima ExoSap-IT (USB Corporation). Em seguida, os produtos purificados foram encaminhados a Macrogen Inc. (Coreia do Sul) para a realização do sequenciamento automático dos fragmentos em ambas as direções (*forward* e *reverse*).

As sequências obtidas foram alinhadas e editadas no programa Geneious Prime (KEARSE *et al.*, 2012) através da observação dos eletroferogramas de cada amostra, gerando uma sequência consenso para cada indivíduo sequenciado. As sequências consenso foram alinhadas no programa MEGA 5 (TAMURA *et al.*, 2018), utilizando o algoritmo MUSCLE (ROBERT, 2004).

3.4 Análise de diversidade e construção da rede de haplótipos

O alinhamento foi utilizado como *input* no programa Arlequin 3.0 (EXCOFFIER *et al.*, 2005) para realizar os cálculos dos índices de diversidade nucleotídica e haplotípica e testes de estruturação populacional, tais como a análise de variação molecular AMOVA (EXCOFFIER *et al.* 1992), teste de estruturação F_{ST} (WEIR & COCKERHAM, 1984) e teste exato de diferenciação populacional (RAYMOND & ROUSET, 1995; GOUDET *et al.*, 1996). Além disso, foram empregados os testes de neutralidade D de Tajima (TAJIMA, 1989) e F_s de

Fu (FU, 1997), que foram capazes de estimar parâmetros demográficos e de expansão populacional.

O programa DNAsp (ROZAS *et al.*, 2010) foi utilizado para calcular o número de haplótipos e sítios polimórficos das localidades amostradas. As redes de haplótipos foram construídas por meio de cálculos de parcimônia, implementados pelo algoritmo TCS, utilizando o programa Pop Art (LEIGH & BRYANT, 2015).

4. RESULTADOS

A concentração de DNA nas amostras variou de 49 a 998 ng/μL, com média de 117,51 ng/μL. Estas foram diluídas para uma concentração de trabalho de 20 ng/μL.

Das 119 amostras coletadas, 97 foram amplificadas com sucesso, resultando em fragmentos com aproximadamente 1000 pb. Após o alinhamento e a edição das sequências, foi possível obter fragmentos de 744 pb. No total, 94 amostras atenderam aos critérios de qualidade necessários para as análises, sendo 30 do rio Ipiranga, 29 do Rio Doce e 35 do rio São Mateus.

A avaliação da estruturação genética foi conduzida utilizando F_{ST} , AMOVA e o teste exato de diferenciação populacional entre os rios Doce, São Mateus e Ipiranga. Todos os testes indicam que as três localidades amostradas representam uma única população. Os valores de F_{ST} foram baixos e estatisticamente não significativos (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de F_{ST} (diagonal abaixo) e seus respectivos valores de p (diagonal acima) encontrados na população de peixes da espécie *Genidens genidens* entre as localidades dos rios Doce, São Mateus e Ipiranga.

	Doce	São Mateus	Ipiranga
Doce	*	0,46875± 0,0135	0,47168± 0,0140
São Mateus	-0,00707	*	0,92578+-0,0071
Ipiranga	-0,00624	-0,02383	*

A AMOVA demonstrou que a variação genética se encontra predominantemente dentro e não entre as diferentes localidades (Tabela 2). Além disso, o teste de diferenciação populacional não produziu resultados estatisticamente significativos, sendo que a comparação entre Ipiranga e Doce apresentou o menor valor de 0,36984± 0.0108, e São Mateus e Ipiranga apresentou o maior valor de 0,63369± 0.0098.

Os valores da diversidade para a população foram: diversidade haplotípica (h) 0,6836 e nucleotídica (π) 0,001256. A média da composição nucleotídica para os locais amostrados foi de C=30,92%, T=27,64%, A=31,84% e G=9,60%. Os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica, bem como o número de haplótipos (N) identificados em cada localidade amostrada, revelaram os valores mais elevados no rio Ipiranga, seguido pelo Rio Doce e São Mateus, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 2. Valores do AMOVA demonstrando a distribuição da variação genética dentro das localidades dos rios Doce, São Mateus e Ipiranga em 94 indivíduos da espécie *Genidens genidens*, avaliados por meio dos marcadores genéticos ATPase 6 e 8.

Fonte de variação		Soma dos quadrados	Componentes de variância	Porcentagem de variação
Entre as populações	2	0.418	-0.00435 Va	-1.28
Dentro das Populações	91	31.370	0.34472 Vb	101.28
Total	93	31.787	0.34037	
Índice de Fixação	F_{ST} : -0.01279			

Tabela 3. Número amostral (n), número de haplótipos (N), diversidade nucleotídica (π), diversidade haplotípica (h) de *Genidens genidens* na foz do Rio Doce e estuários dos rios São Mateus e Ipiranga no Espírito Santo. População se refere às três localidades juntas. Entre parênteses encontram-se os valores de desvio padrão.

	(n)	(N)	(π)	(h)
Ipiranga	30	5	0,0012 (\pm 0,001)	0,7011
Doce	29	5	0,0014 (\pm 0,001)	0,6798
São Mateus	35	3	0,00079 (\pm 0,007)	0,6874
População	94	8	0,001256 (\pm 0,001)	0,6836

Para a população total, foram identificados oito haplótipos distintos com base em 11 sítios polimórficos (Tabela 4). A frequência absoluta dos haplótipos, que indica quantas vezes os indivíduos amostrados possuíam um haplótipo específico, variou de 1 a 49. A frequência relativa de cada haplótipo, que é calculada dividindo a frequência absoluta desse haplótipo pelo número total de indivíduos amostrados, variou na faixa de 1,03% a 50,52%.

Tabela 4. Sítios polimórficos, frequências absolutas (FA) e relativas (FR) dos haplótipos para a espécie *Genidens genidens* para as localidades amostradas nos rios Doce, São Mateus e Ipiranga.

SÍTIOS POLIMÓRFICOS											
ATPase 6 e 8 744 bp	1	1	2	3	6	6	6	6	FA	FR	
	4	5	7	6	6	1	5	7	9		
	9	2	1	3	8	4	0	8	4		
HAP 1	G	A	G	T	G	A	A	T	T	49	50,52
HAP 2	.	G	42	43,3
HAP 3	A	2	2,06
HAP 4	A	1	1,03
HAP 5	.	.	.	C	1	1,03
HAP 6	.	G	A	1	1,03
HAP 7	.	G	.	.	.	G	G	.	A	1	1,03
HAP 8	C	.	1	1,03

A análise da rede de haplótipos revelou a presença de haplótipos comuns aos três rios, sendo o haplótipo 1 (Hap_1) o mais frequente. Assim como o haplótipo 1, o haplótipo 2 também foi observado nos três rios, enquanto o haplótipo 3, é compartilhado apenas pelos rios São Mateus e Doce (Figura 4).

Apenas os rios Ipiranga e Doce apresentaram haplótipos exclusivos. Os haplótipos 4 e 5 são exclusivos do Rio Doce, enquanto os haplótipos 6, 7 e 8 são exclusivos do rio Ipiranga (Figura 4). No entanto, é importante observar que esses haplótipos exclusivos de cada localidade têm uma frequência bem menor em comparação aos haplótipos compartilhados.

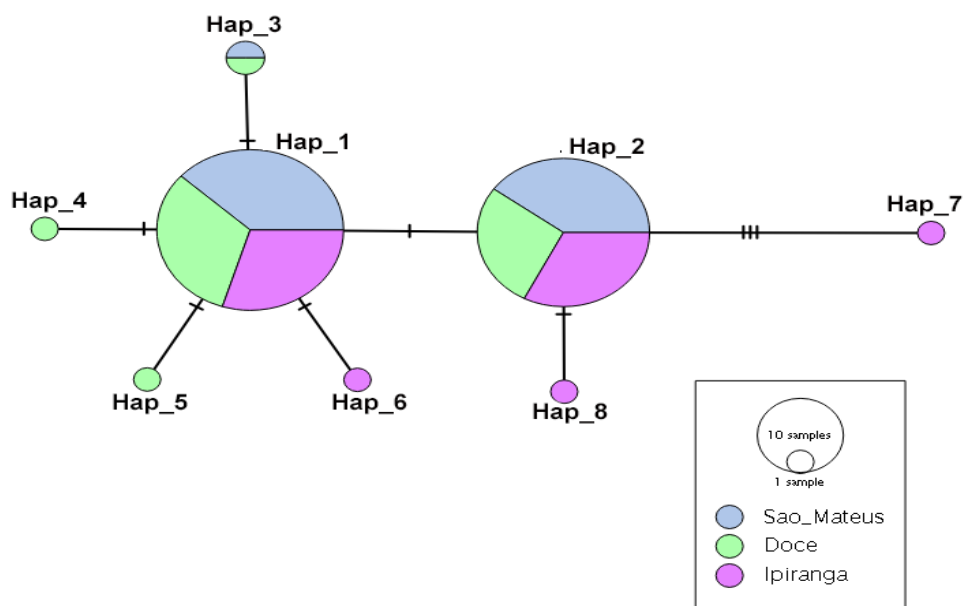


Figura 4. Rede de haplótipos de *Genidens genidens* para os rios Doce, São Mateus, e Ipiranga, representados pela cor lilás, verde e azul, respectivamente, gerada pelo programa PopArt. O tamanho dos círculos coloridos corresponde a frequência com que determinado haplótipo aparece nas diferentes localidades. Traços verticais indicam passos mutacionais.

Os testes de neutralidade apresentaram valores não significativos (D de Tajima = -1,31489 [valor de $p= 0,07600$] e F_s de $F_u = -3, 26856$ [valor de $p= 0,05400$]). O mesmo ocorreu quando cada localidade amostral foi analisada separadamente (Tabela 5).

Tabela 5: Valores do teste de neutralidade D Tajima e F_s F_u na população total e por localidade amostrada de *Genidens genidens*.

Teste de Neutralidade				
Estatísticas	SÃO MATEUS	DOCE	IPIRANGA	População geral
Tajima's D teste				
Tamanho da amostra	35	29	30	94
Tajima's D	0,332	-0,516	-1,251	-1, 31489
Tajimas's d p-valor	0,708	0,369	0,107	0,07600
Fu's FS teste				
Nº de alelos	5	6	7	9
FS	-1,981	-1,60	-3,346	-3, 26856
FS p-valor	0,052	0,127	0,007	0,05400

5. DISCUSSÃO

A população de *Genidens genidens* na região avaliada apresentou uma moderada diversidade haplotípica, caracterizada pela grande quantidade de haplótipos encontrados em relação ao número amostral, e uma baixa diversidade nucleotídica, caracterizada pela baixa diferenciação (poucas mutações) entre os haplótipos.

Todos os testes de estruturação realizados indicam que as três localidades amostrais representam uma mesma população, que é corroborado pelo compartilhamento dos haplótipos mais frequentes entre os três rios. Este resultado indica presença de fluxo gênico mesmo entre espécimes que habitam rios diferentes. A ausência de estruturação pode ser atribuída à falta de barreiras eficazes dentro da distribuição de *G. genidens*. Este fato pode estar relacionado a características da família Ariidae, como a movimentação sazonal entre ambientes com diferentes níveis de salinidade, que influencia em vários aspectos de sua biologia, como reprodução, alimentação e ontogenia (SCHMIDT *et al.*, 2008; AVIGLIANO *et al.*, 2017). Outro fator importante é que *G. genidens* possui um conjunto de características (incluindo ampla tolerância às variações ambientais, elevada flexibilidade alimentar barbilhões sensoriais particularmente úteis para localizar presas em águas turvas), que presumivelmente permitem a sua permanência em estuários com características distintas, facilitando a movimentação sazonal da espécie. Além disso, um fator que pode contribuir para o fluxo gênico da espécie nas três localidades pode ser pelo fato dessa espécie ser um grupo demersal com mecanismos de retenção larval e sem comportamento migratório ou estágio larval pelágico (MARCENIUK, 2005a), o que pode promover a conectividade entre os rios.

Os testes de Neutralidade D de Tajima e F_s de Fu da população apresentaram valores não significativos, que não corroboram com a hipótese da expansão populacional recente (TAJIMA, 1989; ARIS-BROSOU & EXCOFFIER, 1996). Isso indica que, até o momento, não há evidências claras de uma expansão populacional nesta espécie. É possível que a não significância dos dados se dê pelo número insuficiente de frequência da maioria dos haplótipos. Uma vez que dois haplótipos foram compartilhados nos três rios e um haplótipo compartilhado em dois rios. Os demais haplótipos são únicos e estão em torno do haplótipo central. Com exceção do haplótipo 7 com três passos mutacionais, os demais haplótipos, se encontram no máximo um passo mutacional dos haplótipos centrais, demonstrando a pequena distância genética desses haplótipos. É importante destacar que apenas dois haplótipos têm uma alta frequência, correspondendo a cerca de 94% da diversidade haplotípica de *G. genidens*. Resultados semelhantes foram observados em Lin *et al.* (2008) para a espécie

marinha costeira *Girella punctata*, da família Girellidae, no qual foram analisados indivíduos amostrados entre as ilhas japonesas, revelando uma baixa diversidade nucleotídica e moderada haplotípica para a população. Também destacaram a presença de haplótipos centrais com alta frequência, possivelmente representando ancestrais, e, ao mesmo tempo, haplótipos menos frequentes que provavelmente surgiram à medida que a população se recuperava. A hipótese deles seria que a influência da era glacial no Pleistoceno pode ter influenciado no gargalo populacional. Um outro estudo conduzido por Cerqueira (2022) revelou que os indivíduos do gênero *Genidens*, coletados ao longo da costa Sudeste ao Sul do Brasil, apresentaram uma notável diversidade genética, com excesso de heterozigotos para as espécies *G. barbuis* e *G. genidens*. Além disso, não foi identificada estruturação genética em *G. barbuis* ao longo da costa, sugerindo homogeneidade genética. Essa uniformidade pode ser atribuída à capacidade de migração das espécies entre porções estuarinas durante o período de reprodução e à conectividade populacional através dos ciclos pluviais, indicando ausência de barreiras biogeográficas. Esses achados ressaltam a importância crucial da compreensão genética para estratégias eficazes de conservação no contexto do gênero *Genidens* (CERQUEIRA, 2022).

O formato de estrela da rede de haplótipos é um indicio de um aumento na população. Esta característica sugere que a espécie enfrentou um período de gargalo populacional, seguido por um recente início de expansão (RODRIGUES *et al.*, 2008), porém não sustentado pelos testes Neutralidade D de Tajima e F_s de Fu.

Em um estudo, Grant e Bowen (1998) apresentaram quatro interpretações categóricas dos valores observados de diversidade haplotípica e nucleotídica. Primeiro, a baixa diversidade de haplótipos e nucleotídeos pode indicar a ocorrência de um gargalo populacional recente ou um efeito fundador, onde a população foi reduzida a uma única ou poucas linhagens de mtDNA. Segundo, a alta diversidade de haplótipos e baixa diversidade de nucleotídeos, sugere que um gargalo populacional pode ter ocorrido no passado, seguido por um rápido crescimento populacional e a formação de novos haplótipos. Terceiro, a baixa diversidade de haplótipos e alta diversidade de nucleotídeos, indica uma divergência entre subpopulações, onde as variações de nucleotídeos podem ser altas, mas a diversidade de haplótipos é limitada. Quarto, a alta diversidade de haplótipos e nucleotídeos sugerem que a população é grande e estável, com múltiplas linhagens de mtDNA. No contexto do estudo em questão, os resultados podem se encaixar na segunda categoria, sugerindo a possibilidade de um gargalo populacional, seguido por um rápido crescimento populacional e a subsequente formação de novos haplótipos (SANTOS, 2012). No entanto, é importante observar que, embora se enquadrem nessa categoria, a frequência haplotípica é significativamente maior

para apenas dois haplótipos principais, indicando uma limitada diversidade genética. Este padrão sugere a necessidade de uma investigação mais aprofundada, possivelmente aumentando o número de indivíduos amostrados, para uma compreensão mais completa da diversidade haplotípica.

No caso de *G. genidens*, de maneira similar às demais espécies pertencentes à família Ariidae, ocorre uma maior vulnerabilidade à sobrepesca, devido à complexidade de seus mecanismos reprodutivos (KING, 1995), como a incubação oral dos ovos ou alevinos realizada pelos machos, que impossibilita a dispersão larval (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2013). Outro fator seria o impacto da lama de rejeitos provenientes do rompimento da barragem de Fundão, Mariana, MG, que ocorreu em 2015. A lama alcançou a foz do Rio Doce e áreas adjacentes ao Norte e ao Sul, no litoral do Espírito Santo, sendo um evento de grande despejo de sedimentos no ambiente marinho (FRANCINI-FILHO, 2019). O colapso da barragem pode ter tido um impacto negativo nas populações de *G. genidens*, contribuindo para um possível gargalo populacional. Estudos com *Prochilodus costatus* coletados no Rio Paraopeba, um dos afluentes afetados pela lama no rompimento barragem Córrego do Feijão em 2019, constataram uma significativa perda de diversidade genética em todos os loci estudados, por causa da grande mortalidade de peixes causada diretamente pela passagem da lama, como também os efeitos desta sobre a qualidade da água, uma vez que os níveis de mercúrio chegaram a 21 vezes mais altos do que o permitido, este fato implica diretamente na sobrevivência da espécie, uma vez que danos à estrutura genética podem persistir para as gerações subsequentes e causar efeitos nos níveis individual e ecossistêmico (PEREIRA, 2021). Um estudo feito com marcadores microsatélites para avaliar a possível perda de diversidade genética em peixes recifais e estuarinos ao longo do gradiente Norte/Sul da foz do Rio Doce mostrou que quatro espécies de peixes marinhos tiveram baixos índices de diversidade genética nuclear, o pargo (*Lutjanus analis*), coney (*Cephalopholis fulva*), pellona costeira americana (*Pellona harroweri*) e o linguado (*Trinectes paulistanus*) (DE BIASI *et al.*, 2023).

A partir deste estudo, podemos concluir que os indivíduos de *G. genidens* exibem uma diversidade haplotípica moderada e formam uma única unidade populacional nos três locais amostrados. Além disso, os resultados indicam a ausência de uma estruturação genética significativa dentro da população de *G. genidens* entre os indivíduos estudados. Quanto ao comportamento reprodutivo, embora não tenha sido encontrada uma associação direta, a falta de estrutura genética sugere um fluxo gênico considerável entre os indivíduos. No entanto, o monitoramento dessa diversidade e estruturação é interessante para que se possa constatar se a diversidade não está diminuindo, o que poderia ter implicações importantes em futuras

pesquisas sobre a biologia reprodutiva da espécie. Isso é fundamental para a compreensão da diversidade, bem como para o manejo adequado de suas populações em futuras iniciativas de conservação e exploração sustentável.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a população de bagres-guri dos rios São Mateus, Doce e Ipiranga não apresentam estruturação genética, isso significa que existe um fluxo gênico entre os três rios, proporcionado por características biológicas da espécie. Além disso, os indivíduos das três localidades amostradas revelam moderada variabilidade genética, porém, destacam-se pela baixa diversidade nucleotídica, apresentando apenas dois haplótipos predominantes. Recomenda-se a ampliação das análises com um maior número de amostras para uma compreensão mais abrangente. Além disso, é sugerido um monitoramento contínuo com outros marcadores para avaliar a tendência dos índices de diversidade ao longo do tempo, visando uma análise precisa da dinâmica populacional para orientar possíveis medidas de conservação ou gestão.

7. REFERÊNCIAS

ACERO, A. & BENTANCUR, R.; *Genidens genidens*. **The IUCN Red List of Threatened Species**: e.T154640A115216247. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T154640A4595067>, 2010.

ANDRADE-TUBINO, M. F.; RIBEIRO, A. L. R.; VIANNA, M. Organização espaço-temporal das ictiocenoses demersais nos ecossistemas estuarinos brasileiros: uma síntese. **Oecol. Bras**: n. 12, p. 640-661, 2008.

ARAÚJO, F. G. Hábitos alimentares de três bagres marinhos (Aridae) no Estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. **Atlântica**. v. 7, n. 1, p. 43-67, 1984.

ARAÚJO, F. G.; Distribuição, abundância relativa e movimentos sazonais de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. **Revta bras. Zoo I**, v. 5, n. 4, p. 509-543, 1988.

AVIGLIANO, E.; LEISEN M.; ROMERO R.; CARVALHO B.; VELASCO G.; VIANNA M.; BARRA F & VOLPEDO A. V. Fluvio-marine travelers from South America: Cyclic amphidromy and freshwater residency, typical behaviors in *Genidens barbatus* inferred by otolith chemistry. **Fish Res.** v. 193, p. 184-194. Doi: 10.1016/j, 2017.

AVISE, J. C. Conservation genetics. In: Molecular Markers, Natural History and Evolution. **Springer, Boston, MA**. p. 361-398, 1994

AZEVEDO, J. S.; J. E. S. SARKIS.; M. A.; HORTELLANI & R.J. LADLE. Os bagres (Ariidae) são bioindicadores eficazes para Pb, Cd, Hg, Cu e Zn? **Water Air Soil Pollut**, v. 223, n. 7, p. 3911-3922, 2012.

AZEVEDO, M. C. C.; ARAÚJO, F. G.; FILHO, A. G. C.; SANTOS, A. C. A. Distribuição por tamanho de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) na baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Acta Biol. Leopold.**, v. 20, n. 2, p. 273 – 288, 1998.

AZEVEDO, M. C. C.; ARAÚJO, F. G.; CRUZ-FILHO, A. G.; GOMES, I. D. Pessanha ALM Variação espacial e temporal de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) na baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Rev Bras Biol** v. 59, n. 3, p. 443-454, 1999.

BARROS, K. E. M. variabilidade genética de *Stellifer rastrifer* (Jordan, 1889) NO litoral norte do espírito santo e sul da Bahia. **Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas**. Universidade Federal do Espírito Santo-UFES. São Mateus, p. 34, 2020.

BONI, T. A.; PARDIAL, A. A.; LUCIO, L. C.; MANIGLIA, T. C.; BIGNOTTO, T. S.; PANARARI-ANTUNES, R. S.; PRIOLI, R. A.; PRIOLO, A. J. Molecular differentiation of species of the genus *Zungaro* (Siluriformes, Pimelodidae) from the Amazon and Paraná-Paraguay River basins in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 2795–2805, 2011.

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente.**, Portaria MMA No 201, de 31 de Maio de 2017. 2017c. Institui Grupo de Trabalho para avaliar e recomendar ações de conservação e uso sustentável para as espécies listadas no Anexo I da Portaria 445, de 17 de dezembro Brasília, 2014.

BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOHFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: **Molecular genetic analyses of populations: A Practical Approach**. HOELZEL, A. R. (Ed.). Oxford. p. 225-269, 1992.

CADRIN, S. X.; KERR, L. A.; MARIANI, S. Stock identification methods: applications in fishery science. 2nd ed. London: **Elsevier/Academic Press**, 2014.

CERQUEIRA, N. N. C. D. Variabilidade genética de bagres marinhos dos gêneros *Cathorops* e *Genidens* (Siluriformes: Ariidae) no oceano Atlântico Ocidental. **repositorio.unesp.br**, 2022.

CHAO, L. H.; PEREIRA, L. E.; VIEIRA, J. P. Comunidade de peixes estuarinos dos Patos Lagoa, Brasil: um estudo de base. In: Yáñez-Arancibia A (ed) Comunidade de peixes ecologia em estuários e lagoas costeiras: rumo à integração ecossistêmica. **UNAM Press**, México, p. 429-450, 1985.

CHAVES, R. T. C. A incubação de ovos e larvas em *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriformes, Ariidae) da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revta bras. Zool.** v.11, n.4, p. 641-648, 1994.

CONAND, F.; CAMARA, S. B.; DOMAIN, F. Age and growth of three species of Ariidae (Siluriformes) in coastal waters of Guinea. **Bulletin of Marine Science**, v. 1, n. 56, p. 58-67, 1995.

DA SILVA CORTINHAS, M. C.; RALF, K.; MAÍRA, P.; CESTARI, D. F. C.; FERNANDO, D.; LACERDA, A. L. F.; PRATA, P. S.; MATOSO, D.A.; NOLETO, R.B.; RAMSDORF, W.; BONI, T. A.; PRIOLI, A. J; CESTARI, M. M. Genetic structuring among silverside fish (*Atherinella brasiliensis*) populations from different Brazilian regions. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 178, p. 148-157, 2016.

DA SILVEIRA, I. C. A.; SCHMIDT, A. C. K.; CAMPOS, E. J. D.; GODOI, S. S.; IKEDA, Y. A corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. **Rev. Bras. Ocean**, v. 48, n. 2, p. 171-183, 2000.

DE BIASI, J. B. et al. The effect of a mining dam failure on the genetic diversity and population resilience of marine fishes along the eastern Brazilian coast. **Regional Studies in Marine Science**, v. 68, p. 103239, 2023.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792–1797, 2004.

ELLIOTT, M.; WHITFIELD, A. K.; POTTER, I. C.; BLABER, S. J. M. CYRUS, D. P.; NORDLE, F. G.; HARRISON, T. D. The guild approach to categorizing estuarine fish assemblages: a global review. **Fish Fish**. p. 8, 241-268, 2007.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis Computational and Molecular Population. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, n.1, p. 47-50, 2005.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; AND QUATTRO, J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, n. 131, p. 479-491, 1992.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil. I. Teleostei (I)**. São Paulo: Museu de Zoologia, USP, 1978.

FRANCINI-FILHO, R. B. *et al.* Remote sensing, isotopic composition and metagenomics analyses revealed Doce River ore plume reached the southern Abrolhos Bank Reefs. **Science of The Total Environment**, v. 697, p. 134038, 2019.

FRIGERI, R. B. C. Relação entre raiz e parte aérea de plântulas de espécies arbóreas tropicais sob diferentes níveis de radiação solar. **Tese de Doutorado em Biologia Vegetal**, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, p.152, 2007.

FÁVARO, L. F; FREHSE, F. A.; OLIVEIRA, R. N.; SCHWARZ-JÚNIOR, R. Reprodução do bagre amarelo, *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), da baía de Pinheiro, região estuarina do litoral do Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Zool.** v. 22, n.4, p.1022-1029, 2005.

FU, Y.-X. Testes estatísticos de neutralidade de mutações contra o crescimento populacional, carona e seleção de fundo. **Genética**. n. 147, p. 915-925, 1997.

GARCIA, A. E.; VIEIRA, J. P.; BURNS, M. D. M. *Genidens genidens* (Cuvier) (Pisces, Ariidae), oral incubation of eggs. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, n. 1, v. 2, p. I, 2006.

GOMES, I. D. *et al.* Biologia reprodutiva dos bagres marinhos *Genidens genidens* (Valenciennes) e *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 171–180, 1999.

GOMES, I. D.; ARAÚJO, F. G. Reproductive biology of two marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba Bay, Brazil. **Revista de Biologia Tropical**. v, 52, n. 1, p.143-156, 2004.

GOUDET, J.; M. Raymond.; T. de Meeüs and F. Rousset. Testing differentiation in diploid populations. **Genetics**. n. 144, p. 1933-1940, 1996.

GURGEL, H.C.B.; ALBURQUEQUE, C.Q.; SOUZA, D.S.L. & BARBIERI, G. Aspectos da biologia pesqueira em fêmeas de *Cathorops spixii* do estuário do rio Potengi, Natal/RN, com ênfase nos índices biométricos. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p.503-505, 2000.

HIGUCHI, H.; REIS.; E. G.; ARAÚJO, F. G. Uma nova espécie de bagre marinho do litoral do Rio Grande do Sul e considerações sobre o gênero nominal *Netuma* Bleeker, 1958 no Atlântico Sul Ocidental (Siluriformes, Ariidae). **Atlântica**, v.5, n.2, p.1-15, 1982.

HUGHES, J.; HILLYER, M. J. Mitochondrial DNA and allozymes reveal high dispersal abilities and historical movement across drainage boundaries in two species of freshwater fishes from inland rivers in Queensland. **Journal of Fish Biology**, Australia. v. 68, p. 270–291, 1 jun, 2006.

JAMES, M. K.; ARMSWORTH, P. R.; The structure of reef fish metapopulations: modelling larval dispersal and retention patterns. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 269, n. 1505, p. 2079-2086, 2002.

JOHNSON, W. E.; EIZIRIK, E.; ROELKE-PARKER, M.; O'BRIEN, S. J. Applications of genetic concepts and molecular methods to carnivore conservation. In: GITTLEMAN, J.L., FUNK, S.M., MACDONALD, D., WAYNE, R.K. (eds) **Carnivore conservation**. Cambridge University Press, p. 335-358, 2001.

KEARSE M, Moir R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung M.; Sturrock S.; Buxton S.; Cooper A.; Markowitz S. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics** n. 28, p. 1647-1649, 2012.

KING MG. Fisheries biology, assessment and management (Biologia da pesca, avaliação e gerenciamento). **Oxford:Blackwell Science Ltd**, 1995.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA 5: Análise de Genética Evolutiva Molecular em Computação Plataformas. **Biologia Molecular e Evolução**, n. 35, p. 1547-1549, 2018.

LEIGH, Jessica W.; BRYANT, David. POPART: full-feature software for haplotype network construction. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 9, p. 1110-1116, 2015.

LIN HD, Hu KC, Shao KT, Chang YC, Wang IP, Lin CI, Chiang TV. Population structure and phylogeography of *Aphyocypris kikuchii* (Oshima) based on mitochondrial DNA variation. **J Fish Biol**. n. 72, p. 2011- 2025, 2008.

LAGASS, LOUGAN. Genética populacional do ariocó *Lutjanus synagris* (Linnaeus,1758) na costa brasileira. **Dissertação**. Universidade Federal do Espírito Santo. São Mateus. p. 26, 2016.

LOWERRE-BARBIERI S.; CRABTREE L.; SWITZER T.; BURNSWED SW.; GUNTHER C. Avaliação da resiliência reprodutiva: um exemplo com o pargo vermelho do Atlântico Sul *Lutjanus campechanus*. **Mar Ecol Prog Ser**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3354/meps11212>, n. 526, p. 125-41, 2015.

LOWERRE-BARBIERI S.; DECELLES G.; PEPIN P.; CATALÁN IA.; MUHLING B.; ERISMAN B.; CADRIN SX.; ALÓS J.; OSPINA-ALVAREZ A.; STACHURA MM.; TRINGALI MD.; BURNSWED SW.; PARIS CB. Reproductive resilience: a paradigm shift in understanding spawner-recruit systems in exploited marine fish (Resiliência reprodutiva: uma mudança de paradigma na compreensão dos sistemas de desova e recrutamento em peixes marinhos explorados). **FISH FISH**. v. 18, n. 2, p. 285, 2016.

MARCENIUK, A. P.; SICCHA-RAMIREZ R, BARTHEM, R. B.; WOSIACKI, W. B. Redescription of *Notarius grandicassis* and *Notarius parmocassis* (Siluriformes; Ariidae), with insights into morphological plasticity and evidence of incipient speciation. **Syst Biodivers**. v. 15, n. 3, p. 274-89, 2017. Doi: 10.1080/14772000.2016.1256916.

MOYLE, P. B. & CECH-JR, J. J. **Fishes – An Introduction to Ichthyology**. New Jersey, Englewood Cliffs. p. 559, 1998.

MORITZ, C.; FAITH, D. P. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 4, p. 419-429, 1998.

MARCENIUK, A. P & FERRARIS J. R. C. J. Family Ariidae (sea catfishes). In: Reis, R.E.; Ferraris Jr., C.J. & Kullander, S.E. (Eds.). **Checklist of the freshwater fishes of south and central América**. Edipucrs, Porto Alegre, p.447-455, 2003.

MAZZONI, R.; PETITO, J. & MIRANDA, J.C. Reproductive biology of *Genidens genidens*, a catfish from the Maricá lagoon, RJ. **Ciência e Cultura Journal of the Brazilian Association for Advancement of Science**. v. 52, n. 3, p.121-126, 2000.

MALABARBA, L. R. et al. **Guia de identificação dos peixes da bacia do rio Tramandaí**. Porto Alegre, RS: Via Sapiens, 2013.

MARCENIUK, A. P. Chave de identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da costa brasileira. **B Int Pesca** v. 31, n. 5, p. 89-101, 2005.

MARCENIUK, A. P.; OLIVEIRA, C.; FERRARIS, C. J. A new classification of the family Ariidae (Osteichthyes: Ostariophysi: Siluriformes) based on combined analyses of morphological and molecular data, **Zoological Journal of the Linnean Society**, 2023.

MARCENIUK, A. P.; BURLAMAQUI, T. C. T.; OLIVEIRA, C.; CARNEIRO, J, ELERES, B.; SALES, J. B. L. Incipient speciation, driven by distinct environmental conditions, in the marine catfishes of the genus *Aspistor* (Siluriformes, Ariidae), from the Atlantic coast of South America. **J Zool Syst Evol Res**. n. 57, p. 1-18, 2019a. Doi/full/10.1111/jzs.12261.

MARCENIUK, A. P. & MENEZES, N. A. Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), **with a redefinition of the genera**. *Zootaxa*, v. 1416, n. 10, p.1-126, 2007.

MARCENIUK, A. P. Redescrição de *Genidens barbatus* (Lacépède, 1803) e *Genidens machadoi* (Miranda-Ribeiro, 1918), bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) do Atlântico sul ocidental. **Papéis avulsos de Zoologia**, v. 45, n.11, p. 111-12, 2005.

MARTINELLI, M. M. Record of opportunist predation of marine catfish *Genidens genidens* valenciennes, 1839 (Siluriformes, Ariidae) by the crested-caracara *caracara plancus* miller, 1777 (Falconiformes, Falconidae) in estuary of jucu river, Espírito Santo, Brazil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 5, p. 162 – 165, 2010.

MCMANUS C, Paiva S. Corrêa PS **Estatísticas para descrever Genética de Populações**. 1–50, 2011.

MISHIMA, M.; TANJI S. Fatores ambientais relacionados à distribuição e abundância de bagres marinhos (Osteichthyes, Ariidae) no complexo estuarino lagunar de Cananéia (25°S, 48°W). **Bol Inst Pesca**, v. 10, n. 5, p. 17-27, 1981.

MUSCLE, R. E. C. multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Res** 32:1792–1797. doi: 10.1093/nar/gkh340, 2004.

MCNEELY, J. A.; MILLER, K. R.; REID, W. V.; MITTERMEIER, R. A.; WERNER, T. B. Conserving the world's biological diversity. **International Union for Conservation of Nature and Natural Resources**, 1990.

PAIVA IG.; Prestrelo L.; Anna KMS.; Vianna M. Dimorfismo biométrico sexual e ontogenético no bagre marinho *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae) em um estuário tropical. **Lat Am J Aquat Res**. v. 43, n. 5, p. 895-903, 2015.

PEREIRA, A. H. Impacto de usinas hidrelétricas e rompimento de barragem de rejeitos na estrutura genética populacional de peixes: um estudo com *Prochilodus costatus* no Rio Paraopeba. **repositorio.ufmg.br**, 2021.

RABITTO I. S.; ABILHÔA V. A alimentação do bagre *Genidens genidens* (valenciennes 1839) em um banco areno-lodoso da ilha do mel, Paraná, Brasil. **Unipar**. v. 2: n. 2, p. 143-153, 1999.

REIS, E. Reproduction and feeding habitats of the marine catfish netuma barba (siluriformes, ariidae) in the estuary of lagoa dos patos, **Brazil**. *Atlântica*, v. 8, p. 35 – 55, 1986.

RODNGUEZ-CEA, A.; ARIAS, A. R. L.; FARARIDEZ DE LA CAMPA, M. R.; MOREIRA, J. C.; SANZ-MEDEL, A.: Metal speciation of metallothionein in white sea catfish, *Netuma barba*, and pearl cichlid, *Geophagus brasiliensis*, by orthogonal liquid chromatography coupled to ICP-MS detection. **Talanta**, n. 69, p. 963-969, 2006.

RIO GRANDE DO SUL. Decreto nº 51.797, de 8 de setembro. Dispõe sobre as Espécies da Fauna Silvestre Ameaçadas de Extinção no Estado do Rio Grande do Sul. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, RS, 9 set. 2014.

RAYMOND M. and F. Rousset. An exact test for population differentiation. **Evolution** n. 49, p.1280-1283, 1995.

ROZAS, J. P.; LIBRADO, J. C.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, X.; MESSEGUER AND R. ROZAS. **DnaSP version 5.10. 1 (Self extracting file of 4.6 Mb)**. Universitat de Barcelona, 2010.

RODRIGUES.; Schneider H.; Santos S. Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (*Cynoscion acoupa*, Sciaenidae) from the Northern coast of Brazil. **Genet Mol Biol.** doi: 10.1590/S1415-47572008000300015. n. 492, p. 487–492, 2008.

SANTOS, B. S.; QUILANG, J. P. Genetic diversity analysis of *Arius manillensis* (Siluriformes: Ariidae) using the mitochondrial control region. **Mitochondrial DNA**, v. 23, n. 2, p. 45–52, 2012.

SAITO T. et al. High gene flow in *Girella punctata* (Perciformes, Kyphosidae) among the Japanese Islands inferred from partial sequence of the control region in mitochondrial DNA. **Fish Biol.** v. 73, n. 1, p. 1937-1945, 2008.

SCHMIDT, T. C. S., MARTINS, I. A., REIGADA, A. L. D., DIAS, J. F. Taxocenose de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da região estuarina de São Vicente, SP, Brasil. **Biota Neotropica**, n. 8, p. 73-81, 2008.

SILVA-JUNIOR, D. R., CARVALHO, D. M. T., VIANNA, M. The catfish *Genidens genidens* (Cuvier, 1829) as a potential sentinel species in Brazilian estuarine waters. **J. Appl. Ichthyol.** v. 29, n.1, p. 1297-1303, 2013.

SAZIMA, I. *Genidens genidens* (Cuvier, 1829): Guri sea catfish. **FishBase**. 2023 Disponível em: <https://www.fishbase.se/summary/Genidens-genidens.html>.

SUDEPE. Produção pesqueira do Estado do Rio Grande do Sul, pesca artesanal e industrial. **Superintendência do Desenvolvimento da Pesca**. Estado do Rio Grande do Sul Rio Grande, 1984.

TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A., & KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versão 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, v. 2725–2729, 2013.

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595, 1989.

TEODORO, S. DE S. A. Estrutura genética populacional do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967) nas costas sul e sudeste brasileira. **Tese de Doutorado em Ciências Biológicas**, Universidade Estadual Paulista- UNESP, p. 33, 2018.

VALERIN-SOLANO, G.A. Um estudo a longo prazo (1978 até 1998) de ecologia trófica (nicho trófico e hábitos alimentares) dos bagres (*Netuma barba* (Lacepède 1803)] *Netuma planifrons* (Higuchi, Reis & Araújo 1982) e *Genidens genidens* (Valenciennes 1833) da família Ariidae (Siluriformes) no estuário da Lagoa dos Patos- Rio Grande do Sul, Brasil. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Rio Grande, 1999.

WEIR, B.S. AND COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**. n. 38, p. 1358-1370, 1984.

WOOTTON R.J. Ecology of teleost fishes (Ecologia de peixes teleósteos). Nova York: **Chapman and Hall**; 1990.

