

**Variação e divergência entre *Snappers* (Lutjaninae – Perciformes) do Atlântico sul
occidental: região controle mitocondrial para diagnose de pressão pesqueira ou novo
Barcode para peixes?**

**Variation and divergence between Snappers (Lutjaninae – Perciformes) of the western
south Atlantic: mitochondrial Control Region for diagnosis of fishing pressure or new
Barcode for fish?**

**Variación y divergencia entre pargos (Lutjaninae – Perciformes) del Atlántico sur
occidental: Región Control mitocondrial para diagnóstico de presión de pesca o nuevo
código de barras para pescado?**

Recebido: 09/09/2020 | Revisado: 12/09/2020 | Aceito: 14/09/2020 | Publicado: 14/09/2020

Grazielle Evangelista-Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8898-0311>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: graziellefeg@gmail.com

Joiciane Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0496-7510>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: joiciane.mpeg@gmail.com

Josy Miranda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0124-1298>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: josy.abb@gmail.com

Ítalo Lutz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8664-6440>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: italofreitas91@hotmail.com

Ivana Veneza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3528-1290>

Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil

E-mail: ivanaveneza@gmail.com

Raimundo da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3003-7272>;

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: yelrad37@yahoo.com.br

Danillo Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6248-4253>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: danilloufpa@gmail.com

Kely Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6148-3630>

Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil

E-mail: kelymartins2010@yahoo.com.br

Iracilda Sampaio

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2137-4656>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: ira@ufpa.br

Resumo

Snappers, como os Lutjanidae são conhecidos, estão amplamente distribuídos ao longo do Atlântico Ocidental, especialmente espécies do gênero *Lutjanus*, o mais abundante para esta região. Representam importantes recursos pesqueiros, sendo bastante capturados pela pesca comercial. Para a costa do Brasil, Atlântico Sul Ocidental, as espécies mais capturadas são *L. purpureus*, *L. analis*, *L. synagris*, *O. chrysurus* e o *L. vivanus*. Este último é comumente capturado em conjunto com o pargo *L. purpureus*. O objetivo do trabalho foi reunir dados da Região Controle mitocondrial para essas cinco espécies a fim de discutir aspectos da estrutura genética de suas populações e testar sua eficiência como marcador espécie-específico. Analisamos uma região de 390 pb da porção 5' para 827 *snappers*, sendo 107 da espécie *L. analis*, 240 de *L. purpureus*, 272 de *L. synagris*, 56 de *L. vivanus* e 152 de *O. chrysurus*. Observamos diferentes níveis de diversidade genética para as cinco espécies, além do intenso compartilhamento de haplótipos em cada uma, sugerindo ampla conectividade genética para a costa do Brasil. Acreditamos que os diferentes padrões de variação observados estão relacionados a história evolutiva das espécies, aliados as peculiaridades bioecológicas de cada uma, sendo um produto de eventos históricos. Por isso, acreditamos que a RC é bastante adequada para a detecção de perda de diversidade resultante de gargalos populacionais históricos, não sendo adequada para a diagnose de sobrepesca. Além disso, comprovamos sua

utilidade como marcador espécie-específico, representando uma nova possibilidade de *Barcode* para Lutjanidae.

Palavras-chave: Região controle; lutjanidae; *snappers*; Atlântico sul ocidental.

Abstract

Snappers, as the Lutjanidae are known, are widely distributed across the Western Atlantic, especially species of the genus *Lutjanus*, the most abundant for this region. They represent important fishing resources, being quite caught by commercial fishing. To the coast of Brazil, Western South Atlantic, the most captured species are *L. purpureus*, *L. analis*, *L. synagris*, *O. chrysurus* e o *L. vivanus*. The latter is commonly caught together with snapper *L. purpureus*.

The objective of the work was to gather data of the Mitochondrial Control Region for these five species in order to discuss aspects of the genetic structure of their populations and test its efficiency as a species-specific marker. We analyzed a region of 390 bp of 5' portion for 827 snappers, being 107 of the species *L. analis*, 240 of *L. purpureus*, 272 of *L. synagris*, 56 of *L. vivanus* and 152 of *O. chrysurus*. We observed different levels of genetic diversity for the five species, in addition to the intense sharing of haplotypes in each, suggesting extensive genetic connectivity to the coast of Brazil. We believe that the different patterns of variation observed are related to the evolutionary history of species, allied with the bioecological peculiarities of each, being a product of historical events. That is why, we believe that CR is quite suitable for detecting loss of diversity resulting from historical population bottlenecks, not suitable for the diagnosis of overfishing. Besides that, we proved its usefulness as a species-specific marker, representing a new Barcode possibility for Lutjanidae.

Keywords: Control region; lutjanidae; snappers; Western south atlantic.

Resumen

Pargos, como se conoce a los Lutjanidae, están ampliamente distribuidos por el Atlántico occidental, especialmente especies del género *Lutjanus*, el más abundante para esta región. Representan importantes recursos pesqueros, estar bastante atrapado por la pesca comercial. A la costa de Brasil, Atlántico sur occidental, las especies más capturadas son *L. purpureus*, *L. analis*, *L. synagris*, *O. chrysurus* y *L. vivanus*. Este último se captura comúnmente junto con el pargo *L. purpureus*. El objetivo del trabajo fue recopilar datos de la Región de Control Mitocondrial para estas cinco especies para discutir aspectos de la estructura genética de sus poblaciones y probar su eficacia como marcador de especies específicas. Analizamos una región de 390 pb de la porción de 5' para 827 pargos, 107 de la especie *L. analis*, 240 de *L.*

purpureus, 272 de *L. synagris*, 56 de *L. vivanus* y 152 de *O. chrysurus*. Observamos diferentes niveles de diversidad genética para las cinco especies, además del intenso intercambio de haplotipos en cada, sugiriendo una extensa conectividad genética a la costa de Brasil. Creemos que los diferentes patrones de variación observados están relacionados con la historia evolutiva de las especies, aliado con las peculiaridades bioecológicas de cada, producto de evento histórico. Por eso, creemos que CR es bastante adecuado para detectar pérdida de diversidad como resultado de cuellos de botella históricos de población, no apto para el diagnóstico de sobrepesca. Además, probamos su utilidad como marcador específico de especie, representando una nueva posibilidad de código de barras para Lutjanidae.

Palabras clave: Región de control; lutjanidae; pargos; Atlántico sur occidental.

1. Introdução

Pargos ou *Snappers*, como muitos Lutjanidae são chamados, ocorrem amplamente em águas tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico (Allen, 1985; Allen, *et al.*, 2013; Nelson *et al.*, 2016). São espécies que possuem de médio a grande porte, e excelente aceitação no mercado, sendo por isso, alvos da pesca em escala artesanal e industrial, além da pesca recreativa (Pinheiro & Frédou, 2004; IBAMA, 2000-2007; MPA, 2008-2011).

Em águas do Atlântico Ocidental ocorre a predominância de membros da subfamília Lutjaninae, com abundância expressiva para muitos táxons, especialmente o gênero *Lutjanus*, detentor do maior número de espécies da família (Cervigón, 1993; Allen, 1985; Moura & Lindeman, 2007; Nelson *et al.*, 2016), inclusive, dados moleculares recentes do nosso grupo apoiam a proposição de que os monotípicos *Ocyurus* e *Rhomboplites* representam sinonímias de *Lutjanus* (Veneza *et al.*, 2019).

Para o Atlântico Sul Ocidental, especialmente a costa do Brasil, mesmo sem dados atuais de estatística pesqueira, valores publicados nos últimos anos refletem a participação preocupante e sempre regular e expressiva de *snappers* nas capturas da pesca extrativa comercial. Espécies com relevância econômica acentuada compondo listas de táxons ameaçados e/ou vulneráveis, inclusive com registros pela *Red List of Threatened Species*, IUCN (Dias-Neto *et al.*, 1996; Paiva, 1997; Souza, 2002; Cervigón, 1993; Cervigón *et al.*, 1993; Rezende, 2008; IBAMA, 2000-2008; MPA, 2010).

As mais comumente exploradas pertencem a seis categorias principais, pargo (*Lutjanus purpureus*, *Lutjanus spp*), cioba (*Lutjanus analis*, *Lutjanus synagris*), guaiúba

(*Ocyurus chrysurus*), ariacó (*Lutjanus synagris*), caranha (*Lutjanus spp*, *Rhomboplites aurorubens*) e dentão (*Lutjanus jocu*) (IBAMA, 2000-2008; MPA, 2010). Apesar da ausência de dados oficiais, possivelmente representam populações intensamente capturadas, acima de sua capacidade máxima sustentável e sem gerenciamento efetivo, que poderão em pouco tempo entrar em colapso, dizimando a atividade pesqueira por conta de extinções inicialmente locais, como já é possível observar empiricamente para algumas espécies, como *L. purpureus*.

Expedições nossas realizadas ao longo da costa nordeste do Brasil nos últimos anos para coleta de pargo, não obtiveram sucesso, apesar do esforço empregado, com visitas as empresas de pesca, embarcações, portos de desembarque, mercados e feiras livres. Aparentemente, esta espécie não possui mais a abundância de décadas atrás, quando sua exploração pela pesca teve início (Polovina & Ralston, 1987) e sua captura vem ficando cada vez mais dificultada ao longo do nordeste brasileiro. Paiva (1997) fez um breve histórico das flutuações nas capturas do pargo ao longo dos anos, desde o início da década de 1960 e pode demonstrar a migração da frota ao longo da costa do Brasil, sentido norte, onde o estoque ainda é relativamente abundante.

Por se tratar de um grupo emblemático, com presença marcante nos cenários pesqueiro e econômico, nosso grupo já vem investigando aspectos da genética populacional e acumulando informações acerca dessas espécies há mais de uma década (Gomes *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2012; da Silva *et al.*, 2015; da Silva *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018; Martins, 2018; Veneza *et al.*, 2019; da Silva *et al.*, 2020).

Nosso alvo primário tem sido a Região Controle do DNA mitocondrial, por conta de sua taxa evolutiva mais acelerada, ideal para inferências populacionais, além da facilidade de acesso e análise (Brown, 2008). Apesar da explosão de dados genômicos com as Plataformas de Sequenciamento de Nova Geração e emprego muito eficiente na ictiofauna (Pedraza-Marrón, *et al.*, 2019), o uso do DNA mitocondrial para abordagens genético-populacionais se mantém expressivo, com inúmeros trabalhos avaliando conectividade, fluxo gênico, migração, divergência e até mesmo especiação com membros da ictiofauna marinha (Garber *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2006; Silva-Oliveira *et al.*, 2008; von der Heyden *et al.*, 2010; da Silva *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018)

O objetivo do presente trabalho, foi agrupar dados gerados com a Região Controle para cinco espécies de *snappers* do Atlântico Sul Ocidental, costa brasileira (*L. purpureus*, *L. synagris*, *L. analis*, *L. vivanus*, *O. chrysurus*), de forma que possibilitasse uma discussão ampla relacionada a padrões observados para esta região, considerando tanto aspectos de conectividade genética, como níveis de polimorfismo e divergência entre as espécies.

Realizamos também uma pequena reflexão sobre os limites de eficiência deste marcador, tanto para abordagens populacionais na ictiofauna marinha, incluindo a diagnose de sobrepesca, como para a possibilidade de utilização como marcador espécie-específico em *snappers* para futura autenticação molecular de produtos processados.

2. Metodologia

Para a geração dos dados do presente trabalho, aplicou-se um conjunto de métodos peculiar as análises de Biologia Molecular, utilizando sequências de DNA, classificados como métodos quantitativos, de acordo com os conceitos abordados em Pereira et al (2018).

Construção das Bases de Dados

Foram incluídas nas análises, sequências correspondendo a mesma porção de 390 pares de bases (pb) da Região Controle (RC) para 827 *snappers*, sendo 107 da espécie *L. analis*, 240 de *L. purpureus*, 272 de *L. synagris*, 56 de *L. vivanus* e 152 de *O. chrysurus*. Este fragmento está localizado na primeira metade da RC, porção 5' e antecede uma das regiões Hipervariáveis do marcador (Garber *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2012). A ideia também foi demonstrar que esta pequena porção da RC pode ser considerada hipervariável para *snappers*, sendo útil tanto para abordagens filogeográficas/populacionais, como também para a discriminação dos táxons.

Como já mencionado, o presente trabalho traz uma grande coletânea de dados, reunindo a maior base para *snappers* do Atlântico Sul Ocidental, representando muito do que nosso grupo já publicou para estas espécies (*L. purpureus* - Gomes *et al.*, 2012; da Silva *et al.*, 2016; *L. synagris* - Silva *et al.*, 2018; *O. chrysurus* - da Silva *et al.*, 2015), com a inclusão de alguns dados novos, como para *L. vivanus* e *L. analis*, e outras sequências inéditas de trabalhos em fase final de publicação, como para *L. alexandrei*, espécie utilizada para as análises de identificação molecular da família. A única espécie, onde os dados não foram em sua totalidade gerados por nós, foi *L. analis*. Para este táxon estamos utilizando as sequências disponíveis no banco público Genbank (JQ727916 – JQ727995; Dias-Junior, 2012).

Para todas as espécies, temos representatividade ao longo de suas áreas de distribuição na costa do Brasil (Tabela 1). Foram diversas estratégias de amostragem ao longo de uma década de coletas em pontos distintos da costa, localidades denominadas de: Amapá, Pará, Maranhão (costa Norte do Brasil – CNB), Ceará, Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Rio Grande do Norte, Bahia (Nordeste) e Espírito Santo (Sudeste). A maioria dos exemplares foi

obtida através de desembarque comercial, das pescarias industrial e artesanal. Outros foram coletados diretamente de pescadores artesanais, em estuários, além de mercados e feiras de cidades alvos, pontos de desembarque e comercialização.

Para identificação morfológica, realizou-se uma triagem prévia, ainda em campo, com auxílio de literatura especializada (Cervigón, *et al.*, 1993; Cervigón, 1993, Menezes & Figueiredo, 1980; Allen, 1985; Nelson *et al.*, 2016) já que a maioria dos indivíduos não pôde ser transportada ao Laboratório.

Após o tombamento, amostras de tecidos biológicos foram retiradas, armazenadas em álcool 70% e acondicionadas em freezers como parte do banco de tecidos da Família Lutjanidae no Laboratório de Genética Aplicada (LAGA), Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Bragança. Alguns espécimes, utilizados como testemunhos, encontram-se preservados, integrando a Coleção Zoológica do LAGA. Foram fixados com formalina 10% e em seguida conservados em álcool 70%, adaptando o protocolo de Martins (1994).

Posteriormente todos os exemplares foram identificados utilizando-se a ferramenta molecular com marcadores mitocondriais (Citocromo C Oxidase, subunidade I e Citocromo B) para a confirmação da identificação morfológica.

Isolamento do Material Genético, Amplificação e Sequenciamento

O isolamento do material genético foi realizado através do protocolo adaptado que utiliza enzimas degradativas (RNase/Proteinase K) e fenol, clorofórmio e álcool isoamílico, descrito por Sambrook & Russell (2001). Após extração do DNA, o produto foi submetido à corrida eletroforética em gel de agarose (1%) corado com o *Gel red* e visualizado sob luz ultravioleta para avaliação qualitativa das amostras.

Para o isolamento e amplificação da RC, foi realizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). As condições de amplificação foram as seguintes: desnaturação inicial a 94°C por três minutos, seguidos de 35 ciclos de desnaturação à 94°C por um minuto, hibridização por um minuto e extensão de dois minutos a 72°C, além de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. As temperaturas de hibridização foram de 65°C para *L. analis* e *L. vivanus*, e 55°C para as demais espécies. Os iniciadores utilizados foram os descritos por Lee *et al.* (1995), Dloop A e Dloop G.

O volume final da reação de PCR foi de 25 µL, sendo: 4 µL de DNTP (1,25 mM); 2,5 µL de tampão 10X (Tris - HCl e KCl, pH=7,8); 1 µL de MgCl₂ (50mM); 0,25 µL de cada iniciador (200 ng/µL); 0,2 µL de Taq DNA polimerase (5U/µL); aproximadamente 100ng de

DNA total; e água purificada para completar o volume final da reação. As amostras positivas foram purificadas com PEG (Polietileno Glicol) de acordo com o protocolo de Paithankar & Prasad (1991).

Em seguida, as amostras foram submetidas à reação de sequenciamento, realizado através do método didesoxiterminal (Sanger *et al.*, 1977), com reagentes do Kit Big Dye (*ABI Prism™ Dye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction – PE Applied Biosystems*). O produto precipitado foi submetido à eletroforese no sequenciador automático de capilar ABI 3500 (*Thermo Fisher Scientific*).

Bancos de Dados, Diversidade e Divergência Genética

As sequências obtidas foram inspecionadas e editadas no programa BIOEDIT (Hall, 1999), e então submetidas ao alinhamento múltiplo de forma automática através do aplicativo CLUSTAL X (Thompson *et al.*, 1997) implementado no BIOEDIT (Hall, 1999). Posteriormente, foram criados bancos de sequências no formato FASTA para cada espécie analisada, representando a mesma porção da RC, de 390pb.

Para identificar os Haplótipos, a distribuição e frequência dos mesmos, considerando as localidades e espécies, utilizou-se o programa DNAsp (Librado & Rozas, 2009). Os índices de Diversidade Genética foram diversidade Haplótica (h) e nucleotídica (π), obtidos para todas as localidades/espécies, utilizando o programa ARLEQUIN v.3.5. (Excoffier & Lischer, 2010). Os níveis de divergência genética entre os haplótipos e espécies utilizando a distância não corrigida (p), foram calculados no programa MEGA X (kumar *et al.*, 2018), onde também identificamos os sítios polimórficos e aqueles candidatos a mutações espécie-específicas (sítios forensicamente informativos).

Utilizamos as informações de número de haplótipos e posições mutacionais no alinhamento para gerar um gráfico a fim de auxiliar a visualização dos níveis de polimorfismo em cada espécie. Além disso, incluímos gráficos de Entropia, também gerados com o auxílio do Excel Microsoft, utilizando as informações disponibilizadas pelo Programa BIOEDIT (Hall, 1999), para analisar o grau de variabilidade das sequencias em cada espécie, assim como as regiões mais polimórficas do alinhamento.

Estrutura Populacional

Os níveis de conectividade genética entre as populações foram estimados através da Análise de Variância Molecular (AMOVA) conduzida no programa ARLEQUIN v.3.5. (Excoffier & Lischer, 2010), com base em 10.000 permutações. Esta análise busca avaliar a

distribuição dos componentes de variação, obtida considerando todas as localidades em um único grupo. Também no ARLEQUIN v.3.5. (Excoffier & Lischer, 2010) foram obtidos os valores de F_{ST} “*par-a-par*” (Weir & Hill, 2002). A fim de corroborar o padrão de estruturação populacional, foram geradas redes de haplótipos para cada espécie, no intuito de possibilitar a visualização gráfica da organização espacial de distribuição e frequência dos haplótipos. As redes foram construídas utilizando o programa Network (Bandelt *et al.* 1999).

Análises Filogenéticas e Identificação Molecular

Para avaliar as relações entre as espécies e inferir também sobre o potencial como marcador espécie-específico, foi construída uma árvore de Máxima Verossimilhança, utilizando-se o programa PHYML (*Phylogenetics Maximum Likelihood*) v 3.0 (Guindon *et al.*, 2010), com 1000 pseudoréplicas de *Bootstrap* (Felsenstein, 1985). O modelo evolucionário HKY+I+G foi selecionado como melhor para explicar a variação presente nos dados, obtido através do programa JModeltest v 2.1.7 (Darriba *et al.*, 2012). Utilizou-se também o programa MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) para gerar uma árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ), com o modelo K2P (Kimura, 1980) e 1.000 pseudoréplicas de *Bootstrap* (Felsenstein, 1985), parâmetros geralmente aplicados para análises com DNA Barcode.

Além dos *snappers* analisados, incluímos na árvore, haplótipos de mais três espécies de Lutjaninae do Atlântico Sul Ocidental, *Lutjanus jocu*, *Lutjanus alexandrei* e *Rhomboplites aurorubens*, para avaliar o padrão de separação entre os táxons com a RC. Estas espécies não foram incluídas nas análises populacionais, porque os artigos onde apresentamos a estrutura genética das populações ainda estão em fase final de elaboração. Para cada espécie, incluímos no mínimo quatro indivíduos representantes.

Para o enraizamento da árvore, utilizamos três exemplares da espécie *Pristipomoides multidens*, um Lutjanidae membro da subfamília Etelinae, obtidos do banco público (AF192863; 2854; 2864). As árvores foram visualizadas e editadas com o auxílio do FigTree v 1.4.3 (Rambaut, 2016).

Espera-se que um bom marcador para identificação de espécies consiga discriminar os táxons através dos níveis de divergência genética, onde os valores máximos de distância intraespecíficas serão sempre inferiores aos valores mínimos de distância interespecíficas, assumindo as premissas do conceito de *Barcode Gap* (Puillandre *et al.*, 2012). Para conseguir visualizar o *Barcode Gap*, utilizamos os valores médios de distância intra e interespecífica plotados em um gráfico para cada uma das cinco espécies utilizadas nas inferências populacionais.

3. Resultados

Caracterização das Bases de Dados e Variação Haplótipica

Foram analisadas sequências da RC de 827 indivíduos, fragmentadas em cinco bases de dados, correspondendo a cada espécie avaliada (*L. purpureus*, *L. synagris*, *L. analis*, *L. vivanus* e *O. chrysurus*).

Para o Pargo *L. purpureus*, foram analisados 240 espécimes, com 120 amostras da costa do Estado Pará, 49 do Maranhão, 43 do Estado do Ceará e 28 da Bahia. Registramos 150 sítios polimórficos, cerca de 40% do fragmento total, o que resultou em 183 haplótipos, a maioria únicos e diferenciados por poucas mutações. Apenas 30 foram compartilhados entre dois ou mais indivíduos.

Para o Ariacó *L. synagris*, um total de 272 sequências foi analisado, sendo 34 amostras coletados na costa do Amapá, 67 do Pará, 15 do Maranhão, 24 do Ceará, 61 do Rio Grande do Norte, 55 da Bahia e 16 do Espírito Santo. Somente 37 haplótipos foram recuperados, resultantes dos 35 sítios polimórficos. O haplótipo mais frequente foi compartilhado por 203 indivíduos, os demais foram únicos ou presentes em poucos espécimes.

Das 107 sequências analisadas para Cioba *L. analis*, 31 representam indivíduos coletados na costa do estado do Ceará, 28 do Rio Grande do Norte, um de Pernambuco, quatro de Sergipe, 35 da Bahia e oito do Espírito Santo. Foram observados 101 sítios polimórficos que geraram 83 haplótipos, destes, somente 14 foram compartilhados por dois ou mais indivíduos.

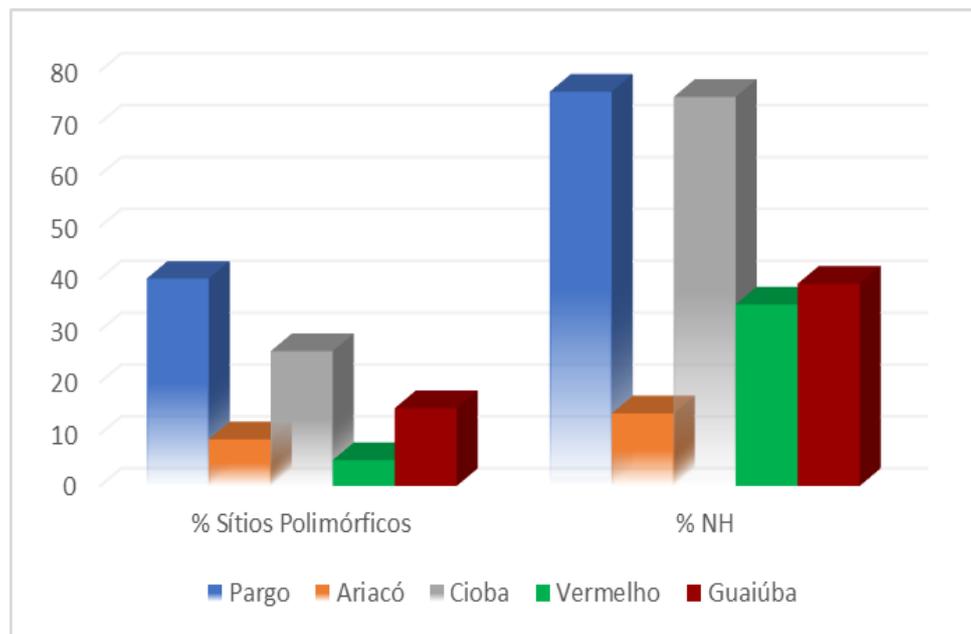
Para o Vermelho *L. vivanus*, o banco de dados foi constituído por 57 sequências, sendo uma da costa do Pará, três do Ceará, nove do Rio Grande do Norte, 15 de Pernambuco, 24 de Sergipe e quatro da Bahia. Dos 20 haplótipos obtidos, produtos de 21 sítios polimórficos, observou-se um mais frequente, sendo compartilhando por aproximadamente 30% do total de indivíduos sequenciados.

Para a Guaiúba *O. chrysurus*, o banco de dados foi composto por 152 sequências, sendo 30 da costa do Pará, 11 do Maranhão, 31 do Ceará, 21 da Paraíba, 22 do Rio Grande do Norte, 22 do Pernambuco, oito da Bahia e sete do Espírito Santo. Os 57 sítios variáveis resultaram em um total de 60 haplótipos.

No gráfico da Figura 1A podemos visualizar uma comparação entre as diferentes espécies considerando quantidade de sítio mutacionais e número de haplótipos, demonstrando claramente que as espécies com a RC mais variável são o pargo *L. purpureus* e a Cioba *L.*

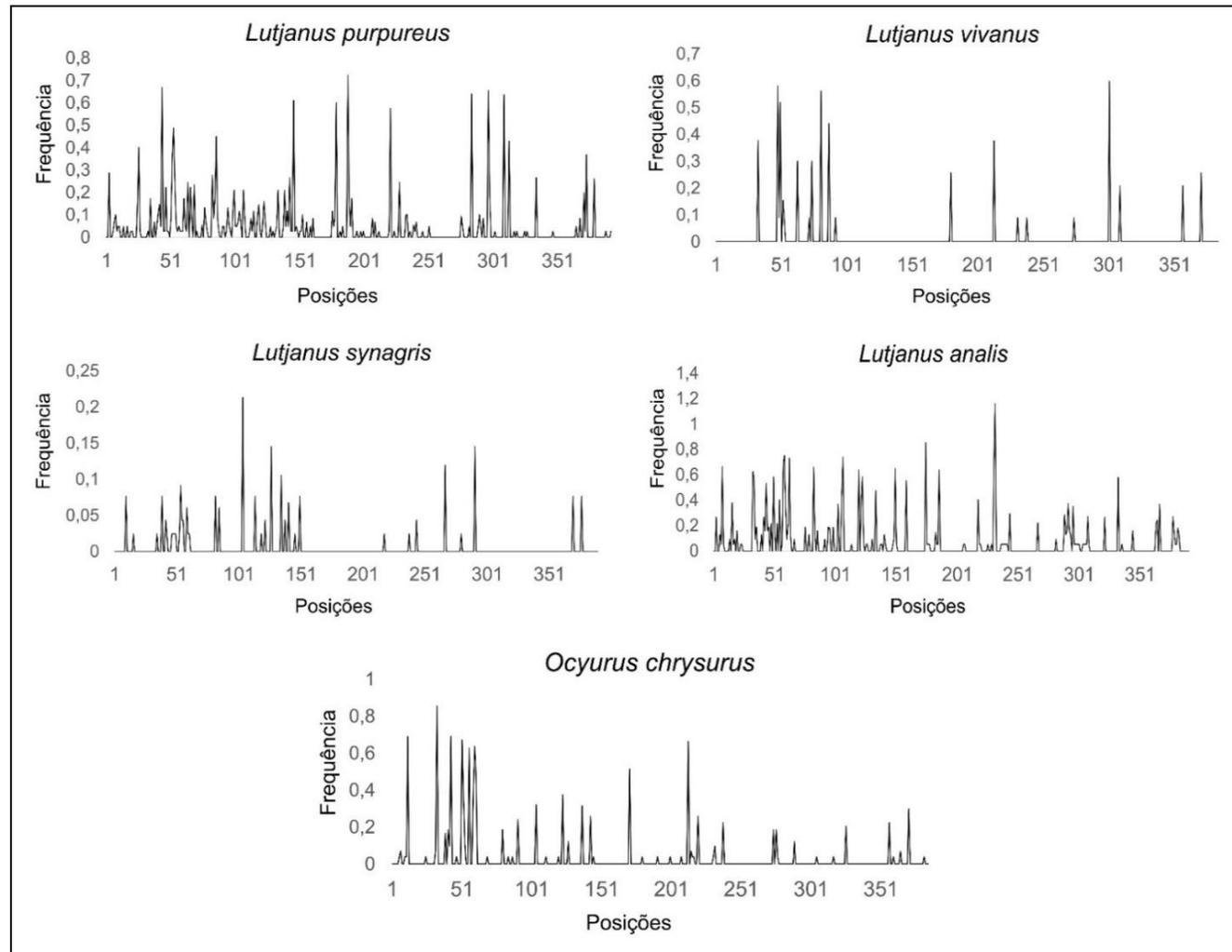
analis. Esse resultado foi apoiado pelo padrão observado nos gráficos de Entropia da Figura 1B, além de mostrar a porção inicial de cerca de 150pb, como sendo a mais polimórfica do fragmento analisado, estabelecendo uma região hipervariável para *Snappers*.

Figura 1A. Gráfico dos sítios polimórficos (%) e número de haplótipo (%) para as espécies analisadas no presente trabalho. Pargo (*L. purpureus*); Ariacó (*L. synagris*); Cioba (*L. analis*); Vermelho (*L. vivanus*); e Guaiúba (*O. chrysurus*).



Fonte: Autores.

Figura 1B. Gráficos de Entropia gerados para as espécies *L. purpureus*, *L. vivanus*, *L. synagris*, *L. analis* e *O. chrysurus*, a partir de 390pb da região controle do DNA mitocondrial.



Fonte: Autores.

Diversidade, Conectividade e Divergência Genética

Os maiores valores para os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica foram observados para as espécies *L. purpureus* e *L. analis*, apesar do pequeno tamanho amostral desta última. Para todas as localidades, os valores de diversidade haplotípica foram iguais ou superiores a 0,9, como já indicava a distribuição da frequência dos haplótipos. A diversidade nucleotídica mostrou valores superiores a 2%, inclusive com registros de localidades com valores acima de 4% para *L. analis* (Tabela 1).

A espécie *L. synagris* foi a que apresentou os níveis mais reduzidos de variabilidade. Observamos valores de diversidade haplotípica iguais ou inferiores a 0,5 e diversidade nucleotídica sempre inferior a 0,3%. Já *L. vivanus* apresentou um padrão diferenciado, onde os valores de diversidade haplotípica se mantiveram mais elevados, de 0,8 a 1, enquanto a diversidade nucleotídica esteve bastante variável, com localidades apresentando valores de 0,5%, 0,8% e até 1,2%, mas sempre reduzida, em comparação ao pargo e cioba

Já a guaiúba *O. chrysurus*, apresentou-se similar ao já descrito para o pargo, com valores elevados de diversidade haplotípica e diversidade nucleotídica um pouco mais inferior, variando de 1,5% a 2%.

Em relação a estrutura das populações, os resultados em conjunto indicaram ampla conectividade genética para todas as espécies ao longo da costa do Brasil, provavelmente com intenso fluxo gênico. Todos os testes de AMOVA, realizado com a mesma estrutura, todas as localidades em um único grupo, mostraram que a maior variância está dentro das populações e não entre elas, com valores de F/Φ_{ST} baixos e não significativos, como mostra a Tabela 2. Este padrão de intensa mistura foi apoiado pelos valores de F_{ST} nas comparações par a par, todos baixos e não significativos (dados não mostrados), além das redes de haplótipos, que apresentaram um padrão tipo estrela, amplo compartilhamento entre as localidades, com muitos haplótipos de baixa frequência e separados por poucas mutações, especialmente para *L. purpureus* e *L. analis* (Figura 2A). As demais espécies, por conta do polimorfismo menor e maior frequência de alguns haplótipos, apresentaram um padrão diferente, mostrando sempre um haplótipo mais frequente, provavelmente ancestral, compartilhado por muitos indivíduos, principalmente em *L. synagris* (Figura 2B).

Em relação a divergência genética, os resultados foram característicos de comparações dentro de cada espécie e entre espécies, com exceção da dupla *L. purpureus* e *L. vivanus*, onde os valores observados foram os mais inferiores, em média 5%. Dentro das localidades, em cada espécie, a distância variou de 0,1%, em *L. synagris* a 3,8%, em *L. analis*. Cioba e

pargo foram os que apresentaram as maiores divergências médias entre os haplótipos nas localidades. Nas comparações entre as espécies, os níveis de distância foram mais elevados, como já era de se esperar, com valores de até 14%, entre *L. purpureus* e *O. chrysurus* (Figura 3).

Tabela 1. Índices de diversidade genética obtidos para as espécies ***Lutjanus purpureus***, ***Lutjanus analis***, ***Lutjanus synagris***, ***Lutjanus vivanus*** e ***Ocyurus chrysurus*** para cada localidade. N°= número de amostras coletadas por localidade; Nh= número de haplótipos; h= diversidade haplotípica; e π = diversidade genética.

Espécie	Localidade	N°	Nh	h	π (%)
<i>L. purpureus</i>	Pará	120	100	0.9952	2,4
	Maranhão	49	47	0.9983	2,5
	Ceará	43	38	0.9945	2,6
	Bahia	28	25	0.9921	2,5
	Total	240	181	0.9959	2,5
<i>L. analis</i>	Ceará	31	27	0.9914	4
	Rio Grande do Norte	28	27	0.9974	3,3
	Pernambuco	1	1	1	-
	Sergipe	4	4	1	3,6
	Bahia	35	29	0.9866	4,2
	Espírito Santo	8	8	1	2,8
	Total	107	83	0.9926	3,7
<i>L. synagris</i>	Amapá	34	9	0.4207	0,28
	Pará	67	16	0.4668	0,2
	Maranhão	15	3	0.2571	0,06
	Ceará	24	6	0.5000	0,18
	Rio Grande do Norte	61	14	0.4574	0,26
	Bahia	55	13	0.4976	0,15
	Espírito Santo	16	3	0.2417	0,09
	Total	272	37	0.4417	0,2
<i>L. vivanus</i>	Pará	1	1	1	-
	Ceará	3	3	1	0,52
	Rio grande do Norte	9	7	0.9167	0,99

	Pernambuco	15	10	0.9238	0,98
	Sergipe	24	10	0.8587	0,81
	Bahia	4	4	1	1,2
	Total	56	20	0.8838	0,88
<i>O. chrysurus</i>	Pará	30	19	0.9034	1,68
	Maranhão	11	7	0.8182	1,6
	Ceará	31	20	0.9613	2,13
	Paraíba	21	14	0.9190	1,84
	Rio Grande do Norte	22	16	0.9091	1,79
	Pernambuco	22	11	0.7965	1,54
	Bahia	8	6	0.9286	1,72
	Espírito Santo	7	7	1	2,3
	Total	152	60	0.9036	1,79

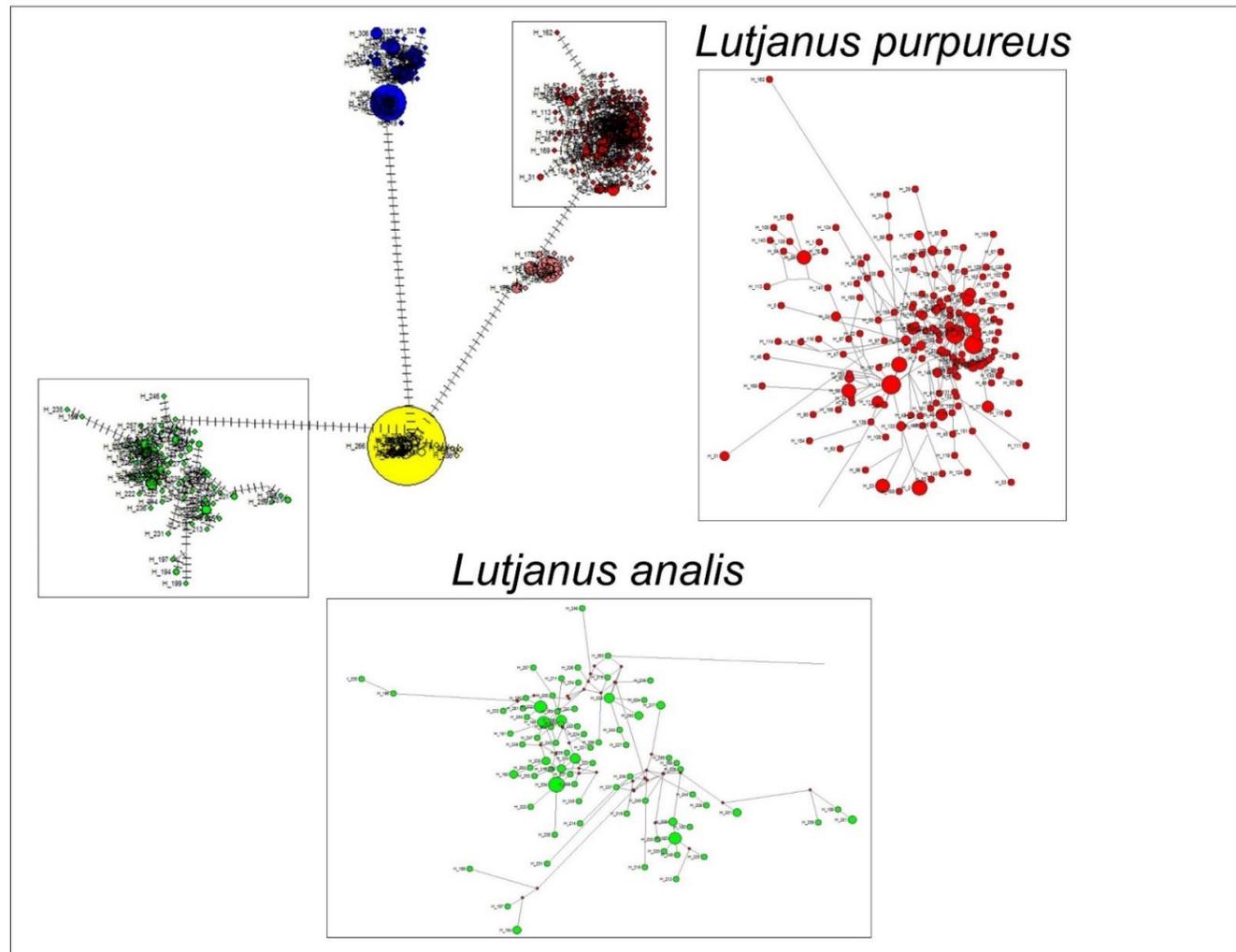
Fonte: Autores.

Tabela 2. Análise de Variância Molecular (AMOVA) realizada a partir de 390pb da região controle mitocondrial para cada espécie. (A) *L. purpureus*, (B) *L. analis*, (C) *L. synagris*, (D) *L. vivanus* e (E) *O. chrysurus*. A hipótese testada abrigou todas as populações em um único grupo.

A. <i>Lutjanus purpureus</i>	% da Variação	F/φ
Entre as Populações	0.10	F/ φ _{ST} = 0,00097 ^{ns}
Dentro das Populações	99,9	
B. <i>Lutjanus analis</i>	% da Variação	F/φ
Entre as Populações	-1,27	F/ φ _{ST} = -0,0127 ^{ns}
Dentro das Populações	101,27	
C. <i>Lutjanus synagris</i>	% da Variação	F/φ
Entre as Populações	-0,62	F/ φ _{ST} = -0,00623 ^{ns}
Dentro das Populações	100,62	
D. <i>Lutjanus vivanus</i>	% da Variação	F/φ
Entre as Populações	-3,71	F/ φ _{ST} = -0,03711 ^{ns}
Dentro das Populações	103,71	
E. <i>Ocyurus chrysurus</i>	% da Variação	F/φ
Entre as Populações	-1,27	F/ φ _{ST} = -0,0127 ^{ns}
Dentro das Populações	101,27	

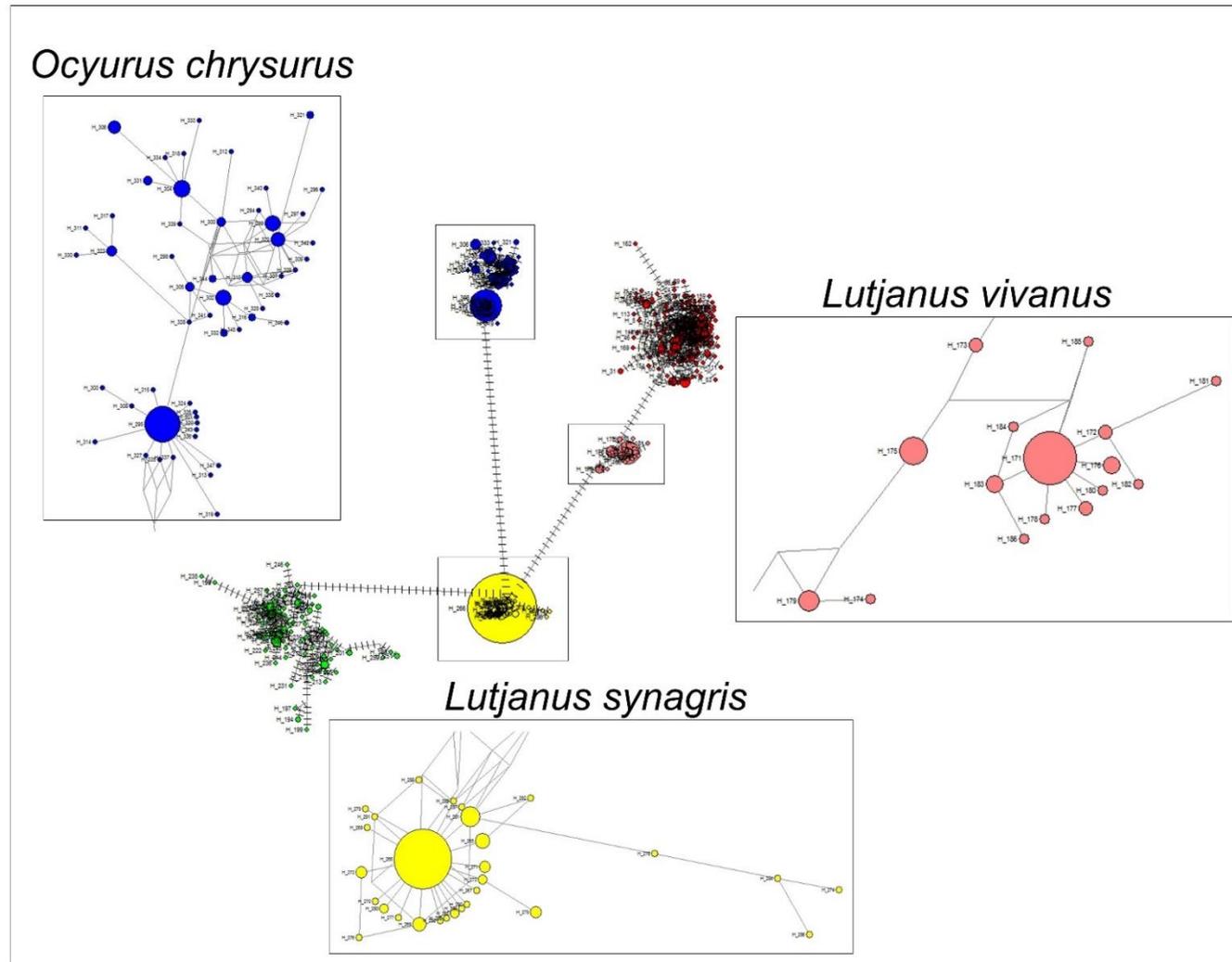
Fonte: Autores.

Figura 2A. Rede de haplótipos dos lutjanídeos avaliados no presente trabalho, com ênfase nas espécies com padrão pargo: *L. purpureus* e *L. analis*.



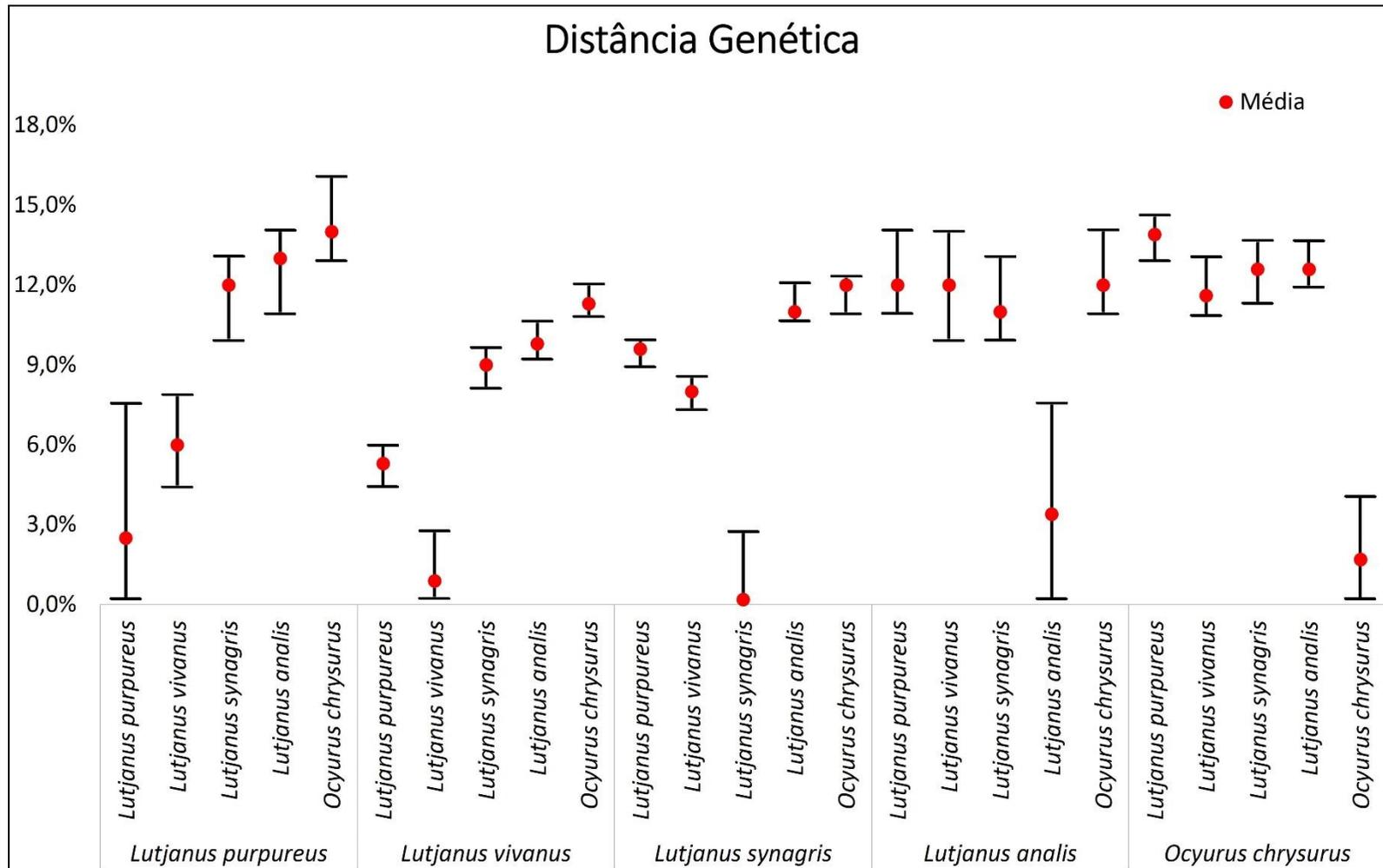
Fonte: Autores.

Figura 2B. Rede de haplótipos dos lutjanídeos avaliados no presente trabalho, com ênfase nas espécies com padrão ariacó: *L. synagris* e *L. vivanus* e com padrão guaiúba, *O. chrysurus*.



Fonte: Autores.

Figura 3. Gráfico da distância genética intra e interespecífica considerando as cinco espécies avaliadas. Valores mínimos, máximos e a média (círculo vermelho).



Fonte: Autores.

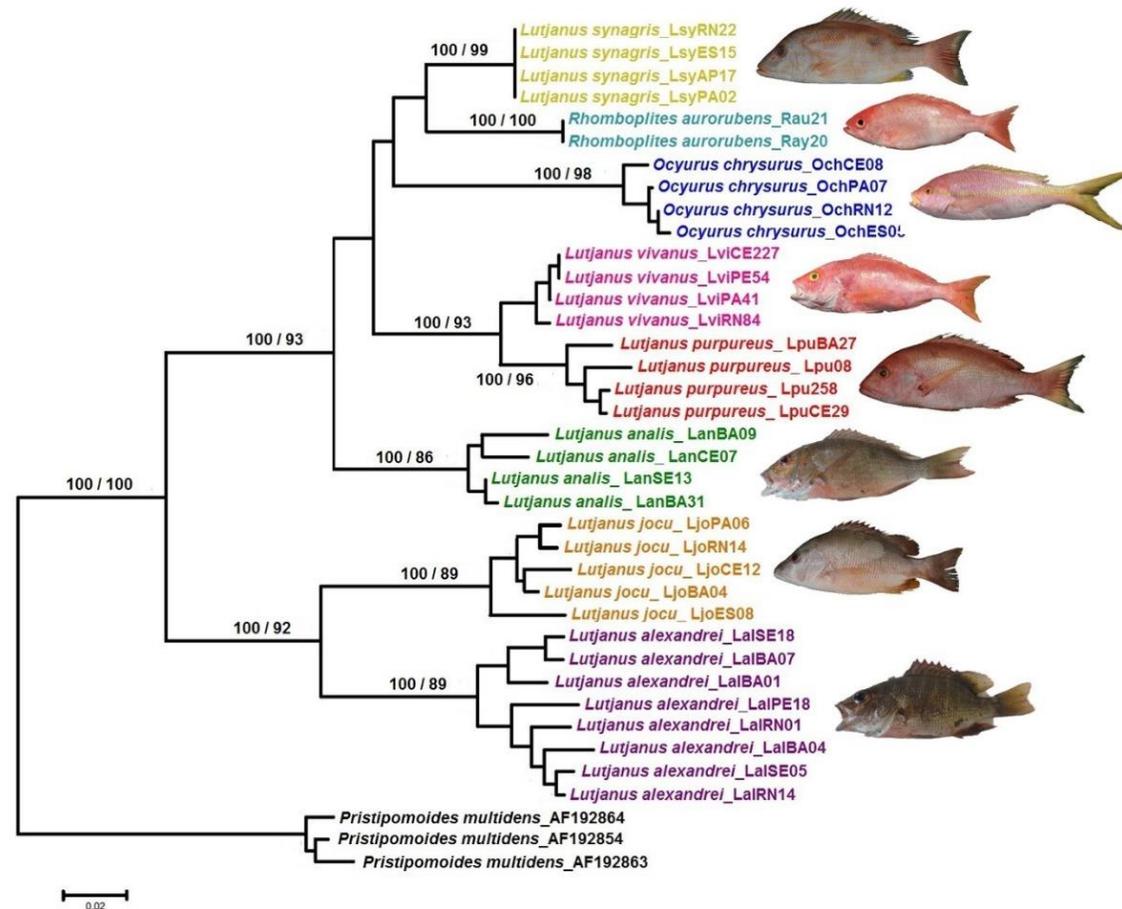
Potencial Barcode: Região Controle como marcador espécie-específico?

Os diferentes métodos de reconstrução filogenética utilizados, geraram topologias bastante similares. Optamos por apresentar a árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ), comumente utilizada em inferências de identificação molecular, mencionando os valores de suporte estatístico obtidos com a ML.

O padrão observado na árvore, mostra clara separação entre as espécies, todas constituindo grupos reciprocamente monofiléticos e bem suportados. Os oito *snappers* (Lutjaninae) abordados constituíram um arranjo monofilético, com dois clados principais, **A**, reunindo os vermelhos *L. purpureus*, *L. vivanus*, *L. analis*, *L. synagris* e os monotípicos *Ocyurus* e *Rhomboplites*, e o clado **B**, com os pargos cinza, *L. jocu* e *L. alexandrei*. Os mais proximamente relacionados foram os vermelhos *L. purpureus* e *L. vivanus*, espécies irmãs na árvore (Figura 4).

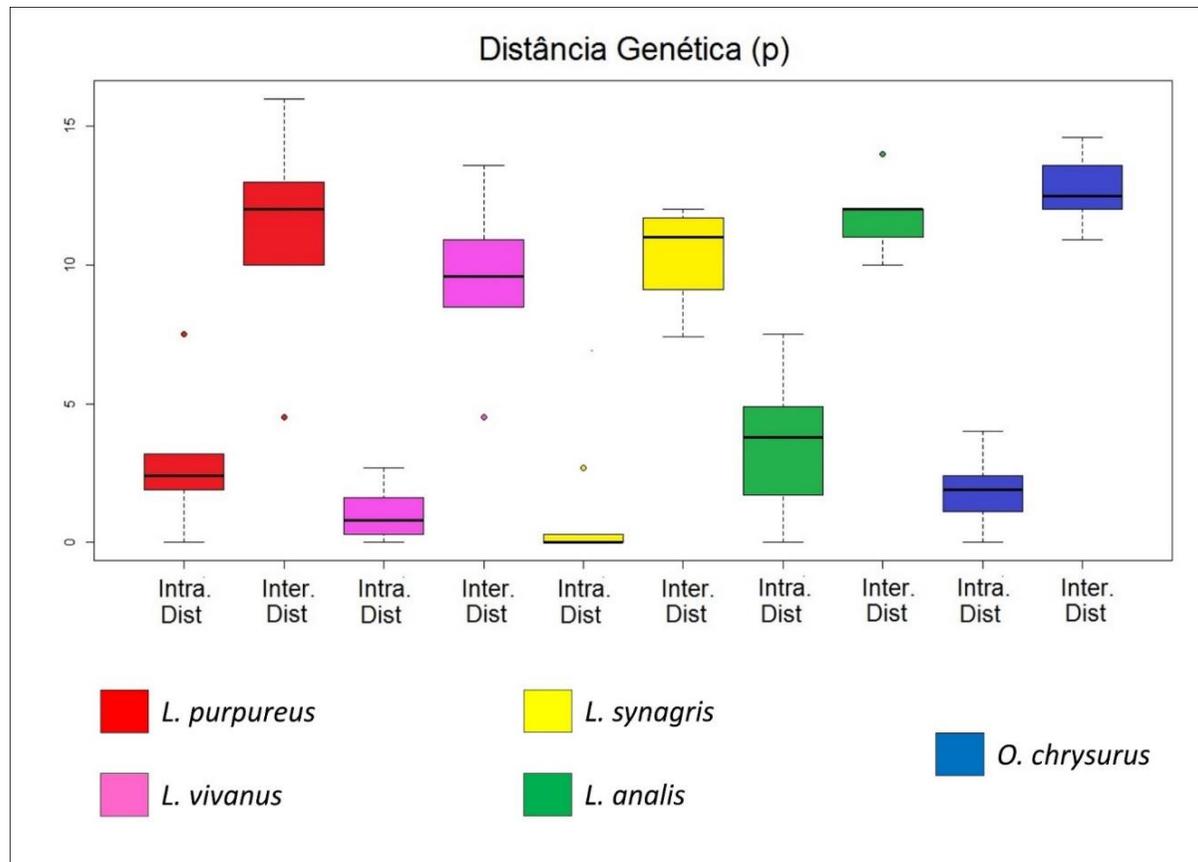
A discriminação dos *snappers* na árvore é apoiada pelos valores de divergência genética observados, sempre característicos de comparações interespecíficas, sustentando os limites entre os táxons e demonstrando o potencial da RC para identificar Lutjaninae do Atlântico, com sítios mutacionais ao longo do fragmento considerados forensicamente informativos. Os valores máximos de distância intraespecífica, foram sempre inferiores aos valores mínimos de distância interespecífica, demonstrando a presença de *Barcode Gap*, como mostra a Figura 5.

Figura 4. Árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ) a partir de 390pb da região controle mitocondrial para as espécies de Lutjanidae do Atlântico Sul Ocidental, incluídas na análise. Suporte estatístico dos nós baseado em teste de *Bootstrap*, sendo os valores a esquerda referentes a análise de Agrupamento de Vizinhos (NJ) e a direita, Máxima Verossimilhança (ML).



Fonte: Autores. **Imagens Peixes:** Acervo de imagens do Laboratório de Genética Aplicada (LAGA)/Instituto de Estudos Costeiros (IECOS)/Universidade Federal do Pará (UFPA).

Figura 5. Gráfico BoxPlot da distância genética intra e interespecífica, revelando a presença do *Barcode gap* para os lutjanídeos avaliados no presente trabalho.



Fonte: Autores.

4. Discussão

Pela primeira vez para Lutjanídeos do Atlântico Sul Ocidental, conseguimos agregar dados de cerca de 800 indivíduos coletados em diferentes localidades ao longo da costa do Brasil, representando cinco espécies (*L. purpureus*, *L. analis*, *L. vivanus*, *L. synagris* e *O. chrysurus*), das mais relevantes para a economia e pesca do país (Paiva, 1997; Souza, 2002; Cervigón, 1993; Cervigón *et al.*, 1993; Rezende, 2008; IBAMA, 2000-2008; MPA, 2010) e utilizando uma região genômica mitocondrial, RC, que apesar da herança genética uniparental, é capaz de responder a inúmeras questões relacionadas a estrutura das populações desses táxons, informações que devem ser consideradas para um ordenamento pesqueiro efetivo.

Tem-se uma região genômica com bastante polimorfismo, o que já é bem documentado na literatura, mas que para *Snappers*, apresenta padrões diferenciados, que oscilam entre níveis de elevada diversidade a níveis bastante rasos de variação. Por outro lado, os resultados em conjunto sugerem um cenário de ampla conectividade genética para as populações das diferentes espécies, provavelmente padrões associados a história evolutiva, hábitos e características bioecológicas de cada uma. Além disso, com este marcador foi possível discriminar todas as oito espécies de Lutjaninae inseridas na análise filogenética, indicando um potencial novo *Barcode* para Lutjanidae.

Região Controle para avaliar Diversidade e Diagnosticar Pressão Pesqueira?

A Diversidade genética e a forma como se distribui entre e dentro das populações constitui o padrão de estrutura populacional presente em cada espécie (Templenton, 2006), sendo fundamental para garantir a adaptabilidade diante das flutuações ambientais e a consequente permanência das populações em ambiente natural (Frankham *et al.*, 2008).

Aqui, utilizamos uma porção de 390 pb da RC do genoma mitocondrial para discutir, entre outras questões, os padrões de variabilidade genética observados em *Snappers* do Atlântico Sul Ocidental. A RC, há muito já se sabe, possui uma elevada taxa mutacional, bastante adequada para inferências populacionais e que, apesar das limitações por conta do tipo de herança genética, continua sendo bastante empregada em diferentes abordagens com a ictiofauna (Brown, 2008; Frankham *et al.*, 2008; Henriques *et al.*, 2014; Freitas *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2018).

Geralmente nos trabalhos com este marcador não se observa muita ênfase para a avaliação da variação genética e sua relação com os diferentes tipos de pressão sofridos pela

população. É esperado que a diversidade genética seja gradativamente reduzida em populações de peixes que são amplamente capturados pela pesca, sem nenhum gerenciamento, como reportado para *Merluccius paradoxus* (Von der Heyden *et al.*, 2010). No entanto, os resultados que vem sendo gerados, com a RC, não necessariamente evidenciam este cenário, indicando que com esse marcador não é possível essa diagnose (Gomes *et al.*, 2012).

Os *snappers* aqui avaliados apresentaram diferentes padrões relacionados aos níveis de variação genética, que não parecem ter nenhuma relação direta com o grau de intensidade com que são explorados pela pesca, como mencionado acima. Por exemplo, *L. purpureus* e *L. analis* foram as espécies que apresentaram os maiores níveis de variação, sendo os lutjanídeos mais intensamente capturados pela pesca comercial no Atlântico Sul Ocidental (Paiva, 1997; IBAMA, 2000-2008; MPA, 2010; Pinheiro & Frédou, 2004). *O. chrysurus* apresentou níveis intermediários de polimorfismo, enquanto *L. vivanus* e *L. synagris*, foram os que apresentaram os menores níveis de diversidade, especialmente este último. São espécies que vivem em simpatria na costa do Brasil (Allen, 1985), mas que apresentam particularidades em seus hábitos e bioecologia (Cervigón, 1993; Cervigón *et al.*, 1993; Sousa, 2002), resultando em histórias evolutivas distintas (da Silva *et al.*, 2015; da Silva *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018).

Conseguimos agregar as espécies em três padrões, que chamaremos na discussão a seguir de Padrão Pargo, reunindo *L. purpureus* e *L. analis*, Padrão Guaiuba, com *O. chrysurus* e Padrão Ariacó, com *L. vivanus* e *L. synagris*. No padrão pargo, observamos um cenário de elevada diversidade genética, com a grande maioria dos haplótipos estando presentes em apenas um indivíduo e diferenciados entre si por poucas mutações, o que deixou as redes de haplótipos com formato tipo estrela, devido também ao amplo compartilhamento entre as localidades, além de valores de diversidade nucleotídica superiores a 4%, como em *L. analis*, por exemplo.

Este é um padrão que já vem sendo observado em outros lutjanídeos que também possuem histórico de exploração pela pesca, como *L. campechanus* (Garber *et al.*, 2004) e *Lutjanus erythropterus* (Zhang *et al.*, 2006), *Lutjanus jocu* (Martins, 2018), *Lutjanus alexandrei* (Veneza, 2019), *Lutjanus sebae* (Van Herwerden *et al.*, 2009), *Lutjanus carponotatus* (Evans *et al.*, 2010), e outros teleósteos, como o Clupeidae *Sardina pilchardus* (Atarhouch *et al.* 2006), além de *Bostrychus sinensis* (Qiu *et al.*, 2015), *Gymnocypris dobula* (Chan *et al.*, 2016); *Plectropomus maculatus* (Evans *et al.*, 2010) e *Thamnaconus hypargyreus* (Wang *et al.*, 2016).

Possivelmente características bioecológicas estão influenciando a distribuição dessas espécies e o potencial de dispersão de suas larvas pelágicas, promovendo uma intensa mistura de haplótipos e gerando o cenário que vem sendo observado. De fato, os trabalhos vêm demonstrando forte evidência de conectividade genética entre as localidades avaliadas (Gomes *et al.*, 2012; da Silva *et al.* 2016; Martins, 2018; Veneza, 2019)

Rodrigues *et al.* (2008) em suas análises com a pescada amarela *Cynoscion acoupa*, já haviam discutido os altos índices de variabilidade genética observados em espécies alvo da pesca predatória, utilizando a RC. Segundo estes autores, este resultado pode ocasionar confusões no momento da interpretação dos dados, induzindo a uma conclusão equivocada de que a pesca não estaria afetando negativamente a composição dos estoques. Seria esperado que espécies intensamente exploradas, com alta longevidade e crescimento lento, apresentassem baixos níveis de variabilidade genética devido à intensa retirada de indivíduos de suas populações, no entanto, os resultados que estão sendo gerados, a partir da região controle, mostram um padrão elevado de variação (Veneza, 2019; da Silva *et al.*, 2016; Gomes *et al.*, 2012; Garber *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006), utilizando como parâmetro a classificação de Grant & Bowen (1998).

Uma explicação possível para este cenário seria que mesmo com altos índices de exploração, a população ainda conseguiria manter um tamanho efetivo mínimo, com variação suficiente para permanecer adaptada ao meio onde está. Além disso, os valores pretéritos de diversidade destes estoques não são conhecidos, possivelmente existiam grandes populações ancestrais com polimorfismo ainda mais elevado. No caso de *L. purpureus*, a grande quantidade de haplótipos únicos encontrados no estoque pode ser um indicativo de que a pesca está comprometendo seus níveis de variação, por serem na sua maioria únicos na amostragem possivelmente apresentam baixa frequência na população natural, logo, poderão ser facilmente perdidos com a retirada intensa de indivíduos.

Além disso, a pesca é considerada uma atividade recente, não havendo tempo suficiente para deixar sua assinatura no DNA mitocondrial, uma molécula que apesar de ser mais variável que parte do genoma nuclear (Brown, 2008), não consegue retratar eventos contemporâneos (Silva *et al.*, 2018; da Silva *et al.*, 2015).

Outro fato a ser considerado é a elevada taxa mutacional que a RC possui, que deve se apresentar mais intensa em algumas espécies, como certamente está ocorrendo em *L. purpureus* e *L. analis*, o que pode estar influenciando no padrão de frequência haplotípica observado. Isso faz com que este fragmento se mostre bastante polimórfico, tanto na porção

hipervariável já descrita na literatura (Garber, 2001; Garber *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2012), como em regiões ditas menos variáveis, podendo mascarar a situação real do estoque.

No caso dessa porção de 390 pb da primeira metade da RC, observamos um segmento inicial de cerca de 150 pb, presente em todas espécies, que exibiu níveis de variação bastante elevados, evidenciado tanto pelo percentual de sítios polimórficos, como pelos gráficos de entropia, indicando que para os *Snappers* do Atlântico Sul Ocidental, a primeira metade da RC também pode ser considerada hipervariável, corroborando o apresentado por Lee *et al.* (1995) para outros teleósteos.

O Padrão Cioba, observado nas espécies *L. vivanus* e *L. synagris*, mostrou um cenário diferenciado, com poucos haplótipos, sendo alguns apresentando frequência elevada, certamente haplótipos ancestrais, além de valores de diversidade nucleotídica bastante reduzidos, principalmente em *L. synagris*. No gráfico de entropia, podemos visualizar um alinhamento com pouco ou nenhum polimorfismo, em alguns trechos.

Analisando-se a distribuição das diferenças entre os pares de haplótipos no gráfico *Mismatch* de *L. synagris*, observa-se uma distribuição próxima a zero, sugerindo um gargalo populacional histórico (Silva *et al.* 2018), similar ao reportado para *M. paradoxus* (Von der Heyden *et al.*, 2010); *Lutjanus carponotatus*, *Plectropomus maculatus* (Evan *et al.*, 2010) e *C. acoupa* (Rodrigues *et al.*, 2008).

L. synagris é a espécie que possui ocorrência em águas mais rasas, com distribuição mais costeira, por isso apresenta-se mais vulnerável, podendo ser capturada tanto pela frota industrial como artesanal (Fredou & Ferreira, 2005; Ferreira *et al.*, 2004), recebendo o status de sobreexplorada já em várias regiões da costa brasileira (Costa *et al.*, 2005; Fredou *et al.*, 2009). Além disso, as capturas de *L. purpureus* no litoral brasileiro vem diminuindo, com esta espécie sendo gradativamente substituída por outros lutjanídeos, com destaque para *L. synagris* (Rezende *et al.*, 2003; IBAMA 2005; 2006; 2007).

Karlsson *et al* (2009), analisando populações de *L. synagris* do Golfo do México e costa da Flórida já haviam detectado reduzidos níveis de diversidade genética, inclusive com a presença de variação espacial entre as localidades amostradas e um padrão de frequência e distribuição de alelos similar ao observado na presente análise. Os autores observaram a ocorrência de dois grupos, um chamado Ocidental, incluindo as populações do interior do Golfo do México e outro Oriental com as populações da Flórida e propuseram que ambos experimentaram um declínio histórico no tamanho efetivo populacional, como detectado para a costa do Brasil.

O padrão de baixa variação genética de *L. synagris* é semelhante ao que vem sendo observado em vários outros peixes alvos da pesca predatória, como *C. acoupa* (Rodrigues *et al.* 2008) e *Epinephelus itajara* (Silva-Oliveira *et al.* 2008), este último classificado por muitos anos como “Criticamente Ameaçado” na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas (IUCN, 2018). Uma característica que estes peixes compartilham é o comportamento mais costeiro, com permanência nos estuários durante fases de sua ontogenia (Cervigón, 1993; Cervigón *et al.* 1993; Allen, 1985; Menezes e Figueiredo, 1980; Szpilman, 2000), o que pode estar influenciando o padrão de dispersão dos indivíduos e conseqüentemente a composição genética das populações. Além disso, como habitam águas mais rasas estão mais suscetíveis a alterações em fatores abióticos, produto de mudanças climáticas, como a temperatura, questão já levantada para outros peixes como *Pagellus bogaraveo* (Stockley *et al.* 2005). É muito provável então que as constantes mudanças climáticas ocorridas no passado, inclusive com expansão e recuo do nível do mar, tenham provocado acentuadas reduções no tamanho efetivo populacional dessas espécies, como já sugerido por Silva *et al.* (2018).

Outro fator que devemos considerar refere-se a taxa mutacional diferenciada, relacionada ao tempo de geração de cada espécie. Por conta da carência de dados de biologia reprodutiva para os outros *snappers*, tomemos como exemplo o pargo e o ariacó. O elevado polimorfismo de *L. purpureus* seria decorrente de um tempo de geração menor que *L. synagris*. Entretanto, os dados de Souza (2002) mostram que 50% das fêmeas de *L. purpureus* precisam de cinco anos para iniciar a reprodução, com tamanho de 43 a 46 cm de comprimento total. Por sua vez, a idade da primeira reprodução de *L. synagris* é de apenas dois anos (Manickchand-Dass, 1987), com um tamanho variando de 19 a 23 cm (Ferreira *et al.* 2004; Sousa-Júnior *et al.*, 2008). Portanto, a maior variabilidade em *L. purpureus* não pode ser explicada por taxas mutacionais diferenciadas entre as duas espécies.

Temos dois extremos de variação genética nos *Snappers* do Atlântico Sul, com foco central da discussão em *L. purpureus* e *L. synagris*, já que representam os lutjanídeos mais amplamente capturados e declarados pela estatística pesqueira (MPA, 2008 – 2010), que apesar de defasada, com ausência de dados nos últimos anos, deve refletir o mesmo cenário, já que observações diretas nos portos de desembarque e pontos de comercialização ao longo da costa brasileira, revelam a mesma situação. A espécie *O. chrysurus*, mesmo com algumas localidades apresentando valores mais reduzidos de diversidade, ainda se apresenta mais próxima ao padrão mencionado para *L. purpureus*, que para *L. synagris*. O mais provável é que a discrepância entre os níveis de variação genética aqui registrados seja originalmente decorrente de fatores históricos.

Os elevados níveis de variação no padrão pargo, entretanto, não significam que estes estoques não estão sendo impactados pela pesca predatória. Basta observar as reduções nas capturas de *L. purpureus* (indícios de sobrepesca), principalmente no Nordeste do Brasil, onde era bastante abundante (Paiva, 1977; IBAMA, 2008; MPA, 2010). Entretanto, como a atividade pesqueira na costa brasileira é razoavelmente recente, aproximadamente 60 anos (Paiva, 1977; Fonteles-Filho, 1972), acreditamos que o tamanho efetivo populacional de *L. purpureus* não permite que se visualize em cerca de 12 gerações os reflexos da pressão pesqueira da mesma forma que se observa em cerca de 30 gerações de *L. synagris*, já que para esta última, eventos históricos de redução no tamanho efetivo contribuíram para a baixa diversidade (Silva *et al.*, 2018).

De acordo com Grant & Bowen (1998), o padrão pargo sugere grandes populações estáveis com longa história evolucionária, no entanto, quando comparamos as estatísticas de neutralidade e parâmetros demográficos das espécies que compartilham este padrão (da Silva *et al.*, 2016; Martins, 2018), observamos um cenário similar, com significativos desvios da Neutralidade, possivelmente provocados por mutações recentes e alelos com baixa frequência (Fu, 1997; Tajima, 1989) e indícios de expansão populacional. Já o padrão Ariacó, para Grant & Bowen (1998) reflete populações que sofreram redução no seu tamanho efetivo, provocada por gargalos ou efeito fundador, com perda drástica de diversidade. Geralmente observa-se um ou poucos alelos mais comuns, que existiam em alta frequência nas populações ancestrais antes dos gargalos.

Portanto, estes diferentes cenários detectados indicam histórias demográficas distintas, influenciados por uma combinação de características bioecológicas e evolucionárias de cada espécie, traduzindo-se em um marcador genético que não deve ser utilizado para diagnosticar pressão pesqueira.

Como estes lutjanídeos representam espécies mais vulneráveis a pesca, devido principalmente à elevada longevidade associada ao crescimento lento (Allen, 1985), e com grande importância econômica nas áreas onde ocorrem, planos efetivos de gerenciamento pesqueiro devem ser implementados para garantir a manutenção de seus potenciais reprodutivo e adaptativo, e dessa forma impedir a ocorrência de colapsos populacionais como já relatados para outras espécies super-exploradas.

Padrão de Conectividade Genética para Snappers da Costa Brasileira

Todos os nossos resultados, incluindo as cinco espécies analisadas, demonstraram fortes indícios de conectividade genética para a costa do Brasil, com amplo compartilhamento

de haplótipos entre as localidades, redes sem nenhum indício de subestruturação filogeográfica, valores de F_{st} nas comparações entre os pares de populações baixos e não significativos, além da AMOVA, com a maior parte da variância observada dentro das populações e não entre elas. Esse cenário de homogeneidade já vem sendo relatado inclusive com outros marcadores, incluindo regiões de íntrons de genes nucleares (da Silva *et al.*, 2015; da Silva *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018), reforçando o registrado aqui. Da mesma forma como observado para outros *Snappers*, *L. jocu* e *L. alexandrei* (Martins, 2018; Veneza, 2019).

Acreditamos que esta possível conectividade genética esteja diretamente relacionada a traços da história de vida dessas espécies, que passam uma parte de seu ciclo como formas larvais pelágicas, aproximadamente 30 dias, além da estratégia reprodutiva, com um padrão ovulíparo gonocórico, apesar dos registros de adultos de *snappers* com pouca migração (Claro & Lindeman, 2008).

Alguns trabalhos sugerem que o tempo de duração das formas larvais pelágicas em Lutjanidae de 25 a 45 dias é suficiente para homogeneizar as populações em longas distâncias geográficas (Gaither *et al.*, 2011; Shulzitski *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2012; da Silva *et al.*, 2015; da Silva *et al.*, 2016), indicando que outros fatores, como correntes oceânicas e características do ambiente, podem não ter tanta importância para o padrão de estrutura genética em espécies de Lutjanidae na costa do Brasil.

Mesmos para aqueles *snappers* mais costeiros, com ocorrência nos estuários, como *L. synagris*, *L. jocu* e *L. alexandrei*, temos resgatado um cenário de provável panmixia (Silva *et al.*, 2018; Martins, 2018; Veneza, 2019), associado as características bioecológicas das espécies, particularmente, a movimentação horizontal nas fases iniciais de vida. Além disso, associando-se a esta característica de fase larval pelágica longa (Claro & Lindeman, 2008), temos provavelmente em *snappers*, populações com grandes tamanhos efetivos, com ocorrência de eventos de expansão populacional, o que deve influenciar de forma efetiva na ampla conectividade dessas espécies (Silva *et al.*, 2018; da Silva *et al.*, 2016).

Novo Barcode para Snappers do Atlântico Sul Ocidental

A possibilidade de identificação de táxons com acurácia e robustez, de forma segura e inequívoca, tem ficado cada vez mais acessível, especialmente para peixes e utilizando o genoma mitocondrial, além de necessária, já que muitos grupos possuem morfologia bastante similar, o que dificulta a identificação morfológica precisa (Cervigón, *et al.*, 1993; Allen, 1985), ou para aqueles indivíduos nos primeiros estágios de vida. Eleger um marcador que possa ter aplicabilidade e eficiência para esta tarefa não é tão simples, pois na maioria das

vezes, acreditamos que os sítios mutacionais encontrados no alinhamento, são de fato sítios espécie-específicos, quando não são, acabam sendo compartilhados por várias espécies, o que limita o potencial do marcador para posterior autenticação de produtos pesqueiros processados, onde precisamos de uma região de fato específica.

Uma observação rápida na literatura é capaz de revelar a amplitude dessa questão, com os inúmeros trabalhos hoje que abordam a identificação molecular de espécies, que desde a introdução do conceito DNA *Barcode*, por Herbet *et al.*, (2003) e Ward *et al.* (2005) com peixes, tem se popularizado cada vez mais.

No caso dos *Snappers* do Atlântico Sul Ocidental, nossa primeira contribuição para essa temática (Veneza *et al.*, 2014), comprovou a eficiência do gene Citocromo Oxidase – subunidade I (COI) para a discriminação segura das espécies, corroborando o sugerido por Ward *et al.* (2005), que propunham que esta região serviria como um código de barras para os diferentes grupos de peixes, de Teleósteos a Elasmobrânquios.

Na verdade, em se tratando de peixes, não somente a COI pode ser utilizada com êxito, diversas regiões do genoma mitocondrial podem ser aplicadas para este fim. Em nosso trabalho mais recente com filogenia de Lutjaninae (Veneza *et al.* 2019), onde apresentamos uma proposta para espécies do Atlântico agregando *Ocyurus* e *Rhomboplites* como sinônimos de *Lutjanus*, construímos uma base de dados, que além de regiões nucleares, reuniu as seguintes mitocondriais: gene rDNA 16S (16S), COI, Citocromo B (Cytb) e NADH desidrogenase, subunidade 4 (ND4). Além das inferências filogenéticas, pudemos constatar o potencial das regiões do genoma mitocondrial para identificação de Lutjanidae, principalmente o 16S e Cytb. Os genes mitocondriais que codificam a síntese de RNAs ribossomais (16S e 12S) vem sendo bastante utilizados para identificação de ictiofauna, inclusive para fins forenses de autenticação (Quraishia *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2014; Gil, 2007; Palmeira *et al.*, 2013).

A necessidade de ser ter diferentes opções de marcador molecular para grupos da ictiofauna de interesse econômico, principalmente se possuir espécies comercializadas na forma processada, é a possibilidade de utilizar o marcador para protocolos forenses de identificação rápida. Como se trata de técnicas de difícil otimização e padronização, que muitas vezes dependem de sítios forenses informativos (Veneza *et al.*, 2017), é extremamente vantajoso possuir várias opções de marcador com perfil código de barras.

Por isso, na presente análise, resolvemos testar o desempenho da RC para discriminar *snappers*, já que se trata de uma região com acentuado polimorfismo, capaz de diferenciar populações. Nossos resultados, em conjunto, mostraram que esta porção de apenas

390 pb pode ser utilizada com sucesso para esta finalidade. A árvore filogenética mostrou todos os indivíduos das diferentes espécies formando clados reciprocamente monofiléticos. A elevada variação observada esteve refletida ao longo do alinhamento com inúmeros sítios polimórficos, muitos dos quais, específicos e forensicamente informativos, o que gerou uma listagem de haplótipos ampla, especialmente para *L. purpureus* e *L. analis*, as espécies com maior variação dos *snappers* avaliados. Mesmo para os menos variáveis, *L. synagris*, por exemplo, foi possível observar mutações específicas.

Quando transformamos os valores de distância dentro e entre as espécies em imagem gráfica, a presença do *Barcode Gap* foi visualmente expressiva, demonstrando a eficiência da RC para estabelecer os limites entre as espécies, característica que se deseja em um marcador código de barras, confirmando a excelência do genoma mitocondrial para identificação de táxons da família Lutjanidae (Veneza *et al.*, 2014; Veneza *et al.*, 2019) e a RC como promessa para futuros trabalhos de autenticação e protocolos forenses rápidos de identificação para certificar produtos processados dessas espécies, o que para nossa região é imprescindível, uma vez que já temos registros de fraude na comercialização de filés de pargo (Veneza *et al.* 2018) e outras espécies, como a Gurijuba (Gomes *et al.*, 2019).

5. Considerações Finais

Reunir dados da RC mitocondrial para cerca de 800 *snappers* do Atlântico Sul Ocidental, representando cinco espécies, nos permitiu discutir alguns aspectos importantes da arquitetura genética dessas populações e da própria natureza do marcador, destacando suas principais resoluções e limitações, possivelmente capazes de serem extrapoladas para muitos outros Teleósteos marinhos.

A RC se mostrou bastante eficiente para avaliação de diversidade genética histórica, excelente para demonstrar perda passada, produto de drásticas reduções no tamanho efetivo populacional, como claramente ocorreu com *L. synagris*, não sendo, portanto, um marcador adequado para a diagnose de pressão pesqueira intensa, já que a pesca retrata uma condição mais contemporânea. Para essas questões, recomenda-se a utilização de regiões mais variáveis do genoma nuclear, como microssatélites e/ou Polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs), possivelmente eficientes para resgatar assinaturas de eventos recentes.

Consideramos também que foi extremamente útil para sugerir conectividade genética, demonstrando intenso compartilhamento de haplótipos ao longo da distribuição geográfica das espécies. Para os Lutjaninae do Atlântico Sul Ocidental, os dados em conjunto

sugerem forte indício de panmixia, como resultado dos padrões bioecológicos e traços de vida de cada espécie, principalmente do tempo de duração da fase larval pelágica, capaz de promover intensa mistura entre os indivíduos da mesma espécie a longas distâncias.

Por fim, não menos importante, foi possível mensurar o nível de eficiência deste marcador para identificação molecular de *snappers*, comprovando seu potencial como nova região *Barcode* para Lutjanídeos, uma alternativa importante para análises de Certificação Molecular, incluindo geração de protocolos rápidos de autenticação. A RC apresentou para todas as espécies testadas, sítios mutacionais forensicamente informativos, separando em clados reciprocamente monofiléticos todas as espécies nas árvores filogenéticas geradas pelos diferentes métodos, com a presença de *Barcode gap* expressivo para todas.

Com uma nova possibilidade de marcador *Barcode* para Lutjanidae, será possível, em trabalhos futuros, testar a eficiência dessa região genômica para a geração de protocolos forenses, para identificação rápida das espécies, podendo ser usados para autenticação molecular de produtos pesqueiros processados.

Agradecimentos

Esta pesquisa teve o apoio do Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio da bolsa de Doutorado de Joiciane Nascimento Oliveira, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo auxílio financeiro (Grants 306233/2009-6 to IS, 306233/2009-6 to HS).

Referências

- Allen, G. R. (1985). *Snappers of the World. An annotated and illustrated catalogue of Lutjanid species known to date*. Vol 6 ed. Rome: FAO. 208 p.
- Allen, G. R., White, W. T., Erdmann, M. V. (2013). Two new species of snappers (Pisces: Lutjanidae: *Lutjanus*) from the Indo-west Pacific. *Journal of the Ocean Science Foundation*, 6;33-51.
- Atarhouch, T., Rüber, L., Gonzalez, E. G., Albert, E. M., Rami, M., Dakkak, A., Zardoya, R. (2006). Signature of an early genetic bottleneck in a population of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(2); 373–383.

Bandelt, H. J., Forster, P., Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, Chicago, 16/1;37-48.

Brown, K. H. (2008). Fish mitochondrial genomics: sequence, inheritance and functional variation. *Journal of Fish Biology*, 72/2;355-374.

Cervigón, F. *et al.* (1993). *FAO species identification sheets for fishery purpose. Field Guide to the commercial marine and Brackish-water resources of the northern coast of south America*. Rome: FAO, p. 513.

Cervigón, F. (1993). *Los peces marinhos de Venezuela*. 2. ed. Caracas, Venezuela: Fundacion Científica Los Roques, v. II.

Chan, J., Li, W., Hu, X., Liu, Y., Xu, Q. (2016). Genetic diversity and population structure analysis of Qinghai-Tibetan plateau schizothoracine fish (*Gymnocypris dobula*) based on mtDNA D-loop sequences. *Biochemical Systematics and Ecology*, 69; 152-160.

Costa, P. A. S., Martins, A. S., Olavo, G. (2005). *Pesca e Potenciais de Exploração de Recursos Vivos na Região Central da Zona Econômica Exclusiva Brasileira*. Museu Nacional, Rio de Janeiro. Série Livros, Documentos REVIZEE-Score-Central, 247p.

da Silva, R., Veneza, I., Sampaio, I., Araripe, J., Schneider, H., Gomes, G. (2015). High levels of genetic connectivity among populations of yellowtail snapper, *Ocyurus chrysurus* (Lutjanidae - Perciformes), in the Western South Tlantic revealed through multilocus analysis. *PloS One*, 13; 1 – 19.

da Silva, R., Sampaio, I., Schneider, H., Gomes, G. (2016). Lack of spatial subdivision for the snapper *Lutjanus purpureus* (Lutjanidae – Perciformes) from southwest Atlantic based on multi-locus analyses. *Plos one*, 24; 1 – 17.

da Silva, R., Pedraza-Marrón, C., Sampaio, I., Betancur-R, R., Gomes, G., Schneider, H. (2020). New insights about species delimitation in red snappers (*Lutjanus purpureus* and *L. campechanus*) using multilocus data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 147; 106780.

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9; 772.

Dias-Junior, E. A. (2012). *Estrutura genética populacional de Lutjanus analis – cioba e Lutjanus jocu – dentão (Lutjanidae) ao longo do litoral brasileiro*. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. UFRN.

Dias-Neto, J., Dornelles, L., Drumond, C. (1996). *Diagnóstico da pesca marítima do Brasil*. Brasília: Ibama.

Evans, R. D. *et al.* (2010). Strong genetic but not spatial subdivision of two reef fish species targeted by fishers on the great barrier reef. *Fisheries Research*, 102; 16-25.

Excoffier, L., Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite v 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10/3; 564-567.

Felsenstein, J. (1985). *Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap*. *Evolution*, 39; 783-791.

Ferreira, B. P. *et al.* IN: Lessa, R. P., Nóbrega, M. F., Bezerra Junior, J. L. (2004). *Dinâmica de Populações e Avaliação dos Estoques dos Recursos Pesqueiros da Região Nordeste. REVIZEE (Programa de Avaliação Sustentável dos Recursos Vivos da Zona Econômica Exclusiva do Brasil)*. Recife, 246p.

Fonteles-Filho, A. A. (1972). Importância do pargo, *Lutjanus purpureus* Poey, como recurso pesqueiro do Nordeste brasileiro. *Equipisca jornal*. caderno 8, p.43.

Frankham, R., Ballou, J. D., Briscoe, D.A. (2008). *Fundamentos de Genética da Conservação*. Editora: SBG. Ribeirão Preto - São Paulo.

Frédou, T. & Ferreira, B. P. (2005). Bathymetric trends of northeastern Brazilian snappers (Pisces, Lutjanidae): implications for the reef fishery dynamic. *Braz. arch. biol. Technol.*, 48/5; 787 - 800.

Frédou, T., Ferreira, B. P. (2009). Letourneur, Y. Assessing the stocks of the primary snappers caught in Northeastern Brazilian reef systems. 1: Traditional modelling approaches. *Fisheries Research*, 99/2; 90–96.

Freitas, A. S., da Silva, R., Sampaio, I., Schneider, H. (2017). The mitochondrial control region reveals genetic structure in Southern kingcroaker populations on the coast of the Southwestern Atlantic. *Fisheries Research*, 191; 87-94.

Fu, Y. X. (1997). Statistical methods of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147; 915-925.

Gaither, M. R. (2011). Phylogeography of the reef fish *Cephalopholis argus* (Epinephelidae) indicates Pleistocene isolation across the Indo-Pacific barrier with contemporary overlap in the coral triangle. *BMC Evolutionary Biology* volume. 11, Article number: 189.

Garber, A. F. (2001). *Utilization of a hypervariable region as a molecular marker for red snapper, Lutjanus campechanus, stock enhancement*. M.Sc. Thesis. University of Southern Mississippi, Hattiesburg.

Garber, A. F., Tringali, M. D., Stuck, K. C. (2004). Population structure and variation in red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico and Atlantic coast of Florida as determined from mitochondrial DNA control region sequence. *Marine Biotechnology*, 6; 175-185.

Gil, L. A. (2007). PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Food Science & Technology*, 18; 558-566.

Gomes, G., Sampaio, I., Schneider, H. (2012). Population structure of *Lutjanus purpureus* (Lutjanidae - Perciformes) on the Brazilian coast: further existence evidence of a single species of red snapper in the western Atlantic. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84/4; 979–999.

Gomes, G., Santos, S., Vallinoto, M., Schneider, H., Orti, G., Sampaio, I. (2008). Can *Lutjanus purpureus* (South red snapper) be “legally” considered a red snapper (*Lutjanus campechanus*)?. *Genetics and Molecular Biology*, 31; 372 - 376.

Grant, W. A. S., Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89/5; 415–426.

Guindon, S., et al. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol.*,59/3; 307-321.

HALL, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nuc. Ac. Symp.*, 41; 95-98.

Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., DE Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270.

Henriques, R. *et al.* (2014). Population connectivity and phylogeography of a coastal fish, *Atractoscion aequidens* (Sciaenidae), across the Benguela current region: evidence of an ancient vicariant event. *Plos One*.

IBAMA; Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. (2000 – 2008). Estatística da pesca no Brasil: Grandes regiões e unidades da federação. <<https://www.ibama.gov.br/phocadownload/biodiversidade/biodiversidade-aquatica/gestao-pesqueira/estatistica-pesqueira/2005-ibama-estatisticada-quicultura-e-pesca-no-brasil.pdf>>. Acesso em: agosto de 2019.

Karlsson, S., Saillant, E., Gold, J. R. (2009). Population Structure and Genetic Variation of Lane Snapper (*Lutjanus synagris*) in the Northern Gulf of Mexico. *Marine Biology*, 156; 1841 – 1855.

- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16; 111e120
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). Mega X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35/6; 1547 – 1549.
- Lee, W. J., Conroy, J., Howell, W. H., Kocher, T. D. (1995). Structure and Evolution of Teleost Mitochondrial Control Regions. *J Mol Evol.*, 41; 54–66.
- Librado, P., Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25/11; 1451-1452.
- Manickchand-Dass, S. (1987). Reproduction, age and growth of the lane snapper, *Lutjanus synagris* (Linnaeus), in Trinidad, West Indies. *Bulletin of Marine Science*, 40/1; 22-28.
- Martins, K. (2018). *Filogeografia e Estrutura Genética Populacional do Dentão Lutjanus jocu (Bloch & Schneider, 1801) (Lutjanidae) do Atlântico Ocidental*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança.
- Martins, U. R. (1994). A Coleção Taxonômica. In: PAPAVERO, Nelson. (Org). *Fundamentos Práticos de Taxonomia Zoológica: Coleções, Bibliografia, Nomenclatura*. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, p.19-43.
- Menezes, N. A., Figueiredo, J. L. (1980). Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil: IV. Teleostei (3). São Paulo: *Museu de Zoologia-Universidade de São Paulo*, p.96.
- Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). *Boletim estatístico da pesca e aquicultura Brasil 2008–2009*. 2010. Disponível em: http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/estatistica/est_2008_09_nac_pesca.pdf. Acesso em: julho de 2018.

Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). *Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil 2010.* 2012. Disponível em: http://www.uesc.br/cursos/pos_graduacao/mestrado/animal/bibliografia2013/luis_art4_rousseff.pdf. Acesso em: julho de 2018.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). *Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil 2011.* 2013. Disponível em: http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/estatistica/est_2011_bol__bra.pdf. Acesso em: julho de 2018.

Moura, R. L. & Lindeman, K. C. (2007). A new species of snapper (Perciformes: Lutjanidae) from Brazil, with comments on the distribution of *Lutjanus griseus* and *L. apodus*. *Zootaxa*, 1422; 31-43.

Nelson, J. S., Grande, T. C., Wilson, M. V. H. (2016). *Fishes of the world*. 5th. ed. 752p.

Paithankar, K. R., Prasad, K. S. (1991). Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. *Nucleic acids research*, 19/6; 1346.

Paiva, M. P. (1997). *Recursos pesqueiros estuarinos e marinhos do Brasil*. UFC. Edições, Fortaleza, 278.

Palmeira, C. A. M., Rodrigues-Filho, L. F. S., Sales, J. B. L., Vallinoto, M., Schneider, H., Sampaio, I. (2013). Commercialization of a critically endangered species large tooth sawfish, *Pristis perotteti* in fish markets of northern Brazil: authenticity by DNA analysis. *Food Control*, 34; 249-252.

Pedraza-Marrón, *et al.* (2019). Genomics overrules mitochondrial DNA, siding with morphology on a controversial case of species delimitation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286; 20182924.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da Pesquisa Científica*. 1 Ed. UAB/NTE/UFSM. Santa Maria/RS. 119p.

- Pinheiro, L. A., Frédou, F. L. (2004). Caracterização geral da pesca industrial desembarcada no estado do Pará. *Rev Cien UFPA*, 4/1; 16.
- Polovina, J. J. & Ralston, S. (1987). Tropical snappers and groupers: biology and fisheries management. Westview Press, *Oceans Resources and Marine.*, 659 p.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., Achaz, G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21; 1864-1877.
- Qiu, F. *et al.* (2015). Phylogeography of the inshore fish, *Bostrychus sinensis*, along the Pacific coastline of China. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 1 – 12.
- Quraishia, S. F. *et al.* (2015). Molecular characterization of Malaysian marine fish species using partial sequence of mitochondrial DNA 12S and 16S rRNA markers. *Sains Malaysiana*, 44/8; 1119-1123.
- Rambaut, A. (2016). Edit. *FigTree Version 1.4.3*. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em: janeiro de 2018.
- Rezende, S. M. (2008). *Evolução das capturas, idade, crescimento e recrutamento de espécies de Lutjanidae do nordeste do Brasil*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia.
- Rodrigues, R. *et al.* (2008). 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. *Genetics and Molecular Biology*, 31; 487-492.
- Sambrook, J. & Russel, D. W. (2001). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Vol. 1. 3^a Ed. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. New York. 21p.
- Sanger, F. *et al.* (1977). DNA Sequencing with Chain- Termination Inhibitors. *Proceeding of the National Academy of Science of the USA*, 74; 5463-5468.

Santos, S. et al. (2006). Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology*, 15/14; 4361-4373.

Shulzitski, K., McCartney, M. A., Burton, M. L. (2009). Population connectivity among Dry Tortugas, Florida, and Caribbean populations of mutton snapper (*Lutjanus analis*), inferred from multiple microsatellite loci. *Fishery Bulletin*, 107; 501-509.

Silva, D. et al. (2018). Genetic differentiation in populations e lane snapper (*Lutjanus synagris* – Lutjanidae) from western Atlantic as revealed by multilocus analysis. *Fisheries Research*, 198; 138 – 149.

Silva-Oliveira, G. C. et al. (2008). Genetic characterisation of populations of the critically endangered goliath grouper (*Epinephelus itajara*, Serranidae) from the Northern Brazilian coast through analyses of mtDNA. *Genetic and Molecular Biology*, 31/4; 988-994.

Sousa-Júnior, V. B., Silva, J. R. F. Salles, R. (2008). Análise ovariana do ariacó, *Lutjanus synagris* (Actinopterygii: lutjanidae), e considerações sobre sua reprodução no estado do ceará. *Arquivos de Ciências do Mar*. 41/1; 1- 10.

Souza, R. (2002). *Dinâmica Populacional do pargo, Lutjanus purpureus Poey, 1875 (Pisces: Lutjanidae) na Plataforma Norte do Brasil*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará.

Stockley, B., Menezes, G., Pinho, M. R., Rogers, A. D. (2005). Genetic population structure in the black-spot sea bream (*Pagellus bogaraveo* Brünnich, 1768) from the NE Atlantic. *Marine Biology*, 146/4; 793-804.

Szpilman, M. (2000). *Peixes marinhos do Brasil: guia prático de identificação*. Rio de Janeiro: Mauad. 288p.

Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123; 585–595.

Templeton, A. R. (2006). *Population Genetics and Microevolutionary Theory*. John Wiley & Sons, Inc, New Jersey. 162p.

Thompson, J. D. *et al.* (1997). The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24; 4876-4882.

Van Herwerden, L. *et al.* (2009). A comparison of the population genetics of *Lethrinus miniatus* and *Lutjanus sebae* from the east and west coasts of Australia: Evidence for panmixia and isolation. *Fisheries Research*, 100; 148-155.

Veneza, I. *et al.* (2019). Multiloci analyses suggest synonymy among *Rhomboplites*, *Ocyurus* and *Lutjanus* and reveal the phylogenetic position of *Lutjanus alexandrei* (Lutjanidae: Perciformes). *Neotropical Ichthyology*, 17/1; 1 – 12.

Veneza, I. (2019). *Filogenia Molecular de Lutjaninae e análise filogeográfica de Lutjanus alexandrei (Lutjanidae - Perciformes) do Atlântico ocidental*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Pará. Programa de Pós-Graduação em Biologia Ambiental. 111p.

Veneza, I., da Silva, R., Sampaio, I., Schneider, H., Gomes, G. (2017). Molecular Protocol for authentication of snappers (Lutjanidae - Perciformes) based on multiplex PCR. *Food Chemistry*, 232; 36 – 42.

Veneza, I., Felipe, B., Oliveira, J., Silva, R., Sampaio, I., Schneider, H., Gomes, G. (2014). A barcode for the authentication of the snappers (Lutjanidae) of the western Atlantic: rDNA 5S or mitochondrial COI?. *Food Control*, 38; 116-23.

Von der heyden, S., Lipinski, M., Matthee, C. A. (2010). Remarkably low mtDNA control region diversity in an abundant demersal fish. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 55; 1183-1188.

Wang, Z. *et al.* (2016). Shallow mitochondrial phylogeographical pattern and high levels of genetic connectivity of *Thamnaconus hypargyreus* in the south China sea and the east China sea. *Biochemical Systematics and Ecology*, 67; 110-118.

Ward, Robert D. *et al.* (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360/1462; 1847-1857.

Weir, B. S. & Hill, W. G. (2002). *Estimating F-statistics*. *Annual Review of Genetics*, 36; 721-750.

Yang, L. *et al.* (2014). Species identification through mitochondrial rRNA genetic analysis. *Scientific Reports*, 4; 4089.

Zhang, J., Cai, Z., Huang, L. (2006). Population genetic structure of crimson snapper *Lutjanus erythropterus* in east Asia, revealed by analysis of the mitochondrial control region. *Journal of Marine Science*, 63; 693-704.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Grazielle Evangelista-Gomes – 40%

Joiciane Oliveira – 5%

Josy Miranda – 5%

Ítalo Lutz – 5%

Ivana Veneza – 10%

Raimundo da Silva – 5%

Danillo Silva – 5%

Kely Martins – 5%

Iracilda Sampaio – 20%