UNIVERSIDADE ESTADUAL DA REGIÃO TOCANTINA DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS, NATURAIS E TECNOLÓGICAS – CCENT
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA

DHÁLLYTH ZAÍNNY PEREIRA SILVA

ANÁLISE GENÉTICA POPULACIONAL A PARTIR DA REGIÃO CONTROLE DO DNA MITOCONDRIAL DA ANCHOVETA *Cetengraulis edentulus* (CUVIER, 1829) DA COSTA ATLÂNTICA MARANHENSE

IMPERATRIZ – MA
2022

DHÁLLYTH ZAÍNNY PEREIRA SILVA

ANÁLISE GENÉTICA POPULACIONAL A PARTIR DA REGIÃO CONTROLE DO DNA MITOCONDRIAL DA ANCHOVETA *Cetengraulis edentulus* (CUVIER, 1829) DA COSTA ATLÂNTICA MARANHENSE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas Naturais e Tecnológicas da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, como pré-requisito para obtenção do título de graduação em Ciências Biológicas Licenciatura.

Orientadora: Profa. Dra. Cleonilde Queiroz.

IMPERATRIZ – MA
2022

S586d

Silva, Dhállyth Zaínny Pereira

Análise genética populacional a partir da região controle do DNA mitocondrial da anchoveta *Cetengraulis edentulus* (Cuvier, 1829) da costa atlântica maranhense / Dhállyth Zaínny Pereira Silva. – Imperatriz, MA, 2022.

40 f. ; il.

Monografia (Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, Imperatriz, MA, 2022.

1. Genética populacional. 2. *D-loop* mitocondrial. 3. *Cetengraulis edentulus*. I. Título.

CDU 597.2/.5

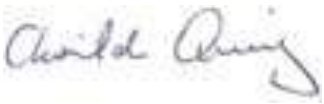
Ficha elaborada pelo Bibliotecário: **Raniere Nunes da Silva CRB13/729**

DHÁLLYTH ZAÍNNY PEREIRA SILVA

ANÁLISE GENÉTICA POPULACIONAL A PARTIR DA REGIÃO CONTROLE DO DNA MITOCONDRIAL DA ANCHOVETA *Cetengraulis edentulus* (CUVIER, 1829) DA COSTA ATLÂNTICA MARANHENSE

Aprovada em: 29/09/2022

Banca Examinadora:



Profa. Dra**.** CLEONILDE QUEIROZ, Orientadora

Doutora

Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas - CCENT/Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

LETÍCIA ALMEIDA BARBOSA, Membro 1

Mestranda em Ciência Animal

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

DIEGO CARVALHO VIANA, Membro 2

Doutor

Centro de Ciências Agrárias – CCA/ Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

Assim como toda a minha vida, o ar que eu respiro e cada batida do meu coração, este trabalho é dedicado ao único e verdadeiro Deus.

YHWH, minha eterna devoção a Ti.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, eu agradeço ao meu amado e querido Deus pelo dom da vida, por me dar a oportunidade de fazer o que eu mais amo, por estar comigo nos melhores e piores dias, e por me encher de cuidado e proteção em todo o tempo. Ele sabe o quanto eu sou apaixonada por quem Ele é, e por mais que eu não consiga retribuir tudo o que me foi concedido desde o meu nascimento, eu entrego todos os meus dias a Ti e dou a minha sincera adoração e rendição.

Agradeço à minha mãe Jucineide Freitas Pereira Silva que é a mulher da minha vida, meu maior exemplo, minha melhor amiga e a culpada (no melhor sentido da palavra, claro) por eu estar me formando em Ciências Biológicas. Mamãe, muito obrigada do fundo do meu coração por isso e por sempre, por me ajudar em tudo o que eu preciso, por concordar com as minhas ideias e abraçar os meus sonhos. Já disse pra mim mesma que vou levar o seu nome por onde quer que eu vá. Isso já fica estampado em mim mesma, pois eu tenho muito da sua personalidade e por isso a gente combina tanto. Eu te amo muito, meu amorzinho.

Agradeço demais aos meus avós Raimunda do Nascimento Freitas Pereira e José da Cruz Carlos Pereira por todo o suporte, cuidado e apoio. Eu sou extremamente grata por ter vocês em minha vida e, sinceramente, o que seria de mim sem vocês dois (?). Eu amo muito vocês, e obrigada por sempre demonstrarem interesse no que eu faço e por me darem a liberdade de escolher meu caminho. Sou doidinha por vocês e, mãezinha, muito obrigada pelas suas orações, elas foram cura para a minha alma e calmaria para o meu coração.

Também agradeço a todos da minha família, em especial aos meus irmãos Breno, Thallita, Larissa e Enzo. Por mais que vocês sejam insuportáveis, eu agradeço por todo o apoio e auxílio que me foi prestado nesses anos de graduação. Obrigada por serem mais que especiais em minha vida, eu amo cada um de vocês para sempre, além de amar meu presentinho do ano Léia, ou Santi, como eu prefiro. Agradeço ao meu padrasto Paulo Silva, por cuidar da minha mãe, que é o meu bem mais precioso, dos meus irmãos e por me ajudar sempre que precisei. Obrigada família!!!

Aos meus amigos do Laboratório de Genética e Biologia Molecular, meus sinceros agradecimentos. Foram anos de muito aprendizado e vocês se tornaram grande parte de mim e contribuíram para o meu crescimento. Minha linda Miziane Carvalho, obrigada por me ensinar as técnicas com paciência e zelo, você é uma meta de paciência para mim. Letícia Almeida, uma quase “mamãe” dos bolsistas, muito obrigada por ser uma irmã e parceira incrível, e por tolerar meus estresses diários. No final, você sabe que eu te amo e tudo volta ao normal.

Aos meus irmãos e melhores amigos Jair Miranda e Ariane Oliveira. Vocês me fizeram “pagar a língua” quando eu entrei no curso dizendo que não queria saber de amizade. Vocês foram as melhores surpresas que Deus pôde me proporcionar, e fico muito grata e feliz em ver que tudo o que foi construído entre a gente só cresce e fica fortalecido. Amo muito vocês dois e por mais que eu escreva, não é possível dimensionar esse amor que eu sinto.

Agradeço a todos os meus colegas de turma por esses anos compartilhados, aos servidores da UEMASUL, à direção do curso de Ciências Biológicas, e a todo o corpo docente, em especial a professor Iane Paula, que me ensinou como é possível que uma relação de amizade possa ultrapassar as barreiras da Universidade, obrigada por tudo o que a senhora fez por mim. Sou sua fã e vou guardar tudo em meu coração. Agradeço também ao professor Guimarães por todo o carinho e ensinamentos, eu espero ter, nem que seja um pouco, da sua alegria e sinceridade que tanto me encantam.

Quero agradecer também a todos os órgãos de fomento que me forneceram condições para me manter estudando, por meio de bolsas. Agradeço à UEMASUL, não só o lugar me faz sentir em casa, mas as pessoas que estão na direção sempre trabalhando para oferecer o melhor para cada estudante. Agradeço, ainda, à FAPEMA e ao CNPq.

Agradeço aos meus amigos de vida Gildean e Wanderson. Vocês são exemplos e inspiração para mim. Sou grata por todas as risadas, comidas e bagunças que fizemos nessa casa haha. Gildean, você é uma pessoa de coração muito bom, que nunca mediu esforços para me ver bem e rindo sempre. Eu te amo muito.

Por fim, mas nunca menos importante, todo o meu sincero agradecimento à minha mamãe científica Cleonilde Queiroz. Obrigada por todos esses anos me permitindo crescer em um ambiente com cheirinho de peixe haha. Eu lhe agradeço pelo cuidado que teve comigo nas minhas viagens, que só foram possíveis porque desenvolvemos projetos em sua orientação. Agradeço por cuidar de mim como filha mesmo, sua preocupação com tudo, os seus conselhos para me fazerem evoluir, tudo isso está marcado em mim e eu não tenho como agradecer, na verdade. Eu espero que muita gente possa ter a honra de trabalhar e dividir uma bancada com a senhora. Eu lhe tenho como uma musa inspiradora, o seu conhecimento e inteligência me deixam boba e sempre com vontade de me dedicar e aprender mais. Muito obrigada pela confiança, e por me confiar também trabalhar com o baby ceten (apelido carinhoso do meu peixe). Era o que nós queríamos para mim, trabalhar com um peixe marinho, embora aqui nem tenha mar haha. Mas obrigada mesmo, prof. Eu lhe amo e desejo lhe encher de orgulho.

“O passado não pode ser ignorado para o entendimento do presente e previsão do futuro em sistemas biológicos sujeitos a mudanças evolutivas.”

Alan R. Templeton

RESUMO

Cetengraulis edentulus é uma espécie de peixe da família Engraulidae, que apresenta elevado valor comercial, capacidade de tolerar alterações ambientais e que desempenha papéis importantes no contexto ecológico. Assim como os demais indivíduos da ordem Clupeiformes, a anchoveta atlântica *C. edentulus* passou por mudanças ambientais no que se refere aos ocorridos no Período Quaternário. Desse modo, seu padrão populacional é crucial para a elucidação dos acontecimentos que proporcionaram sua manutenção e sobrevivência frente aos eventos de seleção. Além disso, a caracterização da estrutura genética de uma população é de suma importância para fornecer informações acerca da variabilidade morfológica e padrões de fluxo gênico entre os indivíduos, além das questões adaptativas em determinado local. Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a genética populacional de *Cetengraulis edentulus* presente na região costeira de Raposa, Maranhão. Para tanto, utilizou-se marcadores moleculares para a região controle do DNA mitocondrial que forneceram um fragmento de 570 pares de bases, necessário para fornecer informações pertinentes acerca da população. Esse trabalho pioneiro para o Estado do Maranhão pôde revelar que a população de *C. edentulus* apresenta expansão demográfica, alta variabilidade genética entre os indivíduos e baixa diferenciação, ou seja, uma população não estruturada geneticamente.

Palavras-chave: *Cetengraulis edentulus. D-loop* mitocondrial. Genética populacional.

ABSTRACT

Cetengraulis edentulus is a fish species of the Engraulidae family, which has high commercial value, is able to tolerate environmental changes and plays important roles in the ecological context. Like the other individuals of the Clupeiformes order, the Atlantic bluefish *C. edentulus* underwent environmental changes in relation to those that occurred in the Quaternary Period. Thus, its population pattern is crucial for the elucidation of the events that provided its maintenance and survival in the face of selection events. Furthermore, the characterization of the genetic structure of a population is of paramount importance to provide information about morphological variability and patterns of gene flow among individuals, in addition to adaptive issues in a given location. Thus, the present work aimed to analyze the population genetics of Cetengraulis edentulus present in the coastal region of Raposa, Maranhão. For that, molecular markers were used for the control region of the mitochondrial DNA that provided a fragment of 570 base pairs, necessary to provide pertinent information about the population. This pioneering work for the State of Maranhão revealed that the population of C. edentulus presents demographic expansion, high genetic variability among individuals and low differentiation, that is, a population that is not genetically structured.

Key words: *Cetengraulis edentulus.* Mitochondrial *D-loop.* Population genetics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Porção do istmo recoberto pela membrana branquial em *Cetengraulis*.....18
Figura 2 – Espécime de *Cetengraulis edentulus*.....19
Figura 3 – Região *D-loop* do DNA mitocondrial de vertebrados.....21
Figura 4 – Rede de haplótipos de *C. edentulus* a partir da alça D do mtDNA.....29

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 – Diversidade genética de *C. edentulus* baseada em 570 pb da região *D-loop* **(H=** número de haplótipos; ***h*=** diversidade haplotípica; **π=** diversidade nucleotídica).....26

Tabela 2 – Teste de Neutralidade (***Fs*=** valor teste de Fu; **P*Fs*=** p-value de teste de Fu; ***D*=** valor teste de Tajima; **P*D*=** p-value de teste de Tajima).…….....27

Tabela 3 – Parâmetros da distribuição *mismatch* para *Cetengraulis edentulus* (**τ=** parâmetro de expansão; Θ0= parâmetro de mutação antes da expansão populacional; Θ1= parâmetro de mutação após expansão populacional; SSD (PSSD) = Soma dos Desvios dos Quadrados; Rg (PRg) = Índice de *Raggedness*).....27

Tabela 4 – Resultados obtidos da AMOVA. (CV = Componente de variação; V%= Porcentagem de variação; Fct= Diferença genética entre grupos; Fsc= Diferença genética entre amostra dentro dos grupos; Fst= Diferença genética dentro das amostras).…….....28

Gráfico 1 – Composição nucleotídica estimada para a população de *C. edentulus*.....25

Gráfico 2 – Representação gráfica das diferenças par a par das sequências do gene mitocondrial *D-loop* para a população de *Cetengraulis edentulus* amostradas em Raposa-MA.....28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....14

2. REVISÃO DE LITERATURA.....16

2.1. Aparato geral da ordem Clupeiformes.....16

2.2. Família Engraulidae.....17

2.3. A importância das análises genéticas em populações de peixes.....19

2.4. DNA mitocondrial (mtDNA).....20

3. OBJETIVOS.....22

3.1. Geral.....22

3.2. Específicos.....22

4. MATERIAL E MÉTODOS.....23

4.1. Extração de DNA a partir do músculo de peixes.....23

4.2. Amplificação e sequenciamento do DNA.....23

4.3. Análise genética.....24

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....25

6. CONCLUSÃO.....32

REFERÊNCIAS.....33

1. INTRODUÇÃO

O litoral do Maranhão apresenta 640 km de linha de costa contribuindo para o seu importante papel na produção pesqueira no Brasil (CUTRIM, 2018). Como abrange um sistema estuarino e aberto, há elevada produtividade biológica que recebe influência de processos físicos, químicos e biológicos (NASCIMENTO *et al.,* 2020). Os fatores que influenciam no elevado volume de produtividade são: grande quantidade de rios que nutrem o mar, de modo a manter a cadeia trófica, presença de reentrâncias, ampla área estuarina relacionada às amplitudes de marés e extensa plataforma continental (XIMENES, 2021).

Por exercer papel tão importante no cenário pesqueiro, torna-se válido o conhecimento das espécies de peixes para promover a manutenção dos recursos e reduzir os riscos de sobrepesca (FREITAS *et al.,* 2016). Nesse segmento os dados genéticos podem auxiliar, seja pela identificação molecular para evitar a pesca ilegal, ou mesmo pelas análises de variabilidade em nível de população para fornecer subsídios de conservação da biodiversidade (SOUZA, 2011). Esses são apenas alguns dos exemplos que podem contribuir para a abordagem conservacionista de espécies importantes ecológica e evolutivamente (SANTOS, 2013).

É válido ressaltar que a variação morfológica é um produto da plasticidade fenotípica, ou variabilidade genética imposta por fatores ambientais discrepantes em dada área (CAVALCANTE, 2016). Em nível de população, um dos fatores que podem valer para tal variação são justamente os limites aplicados pelo impacto das pescarias. Elas determinam efeitos de seleção diferentes ao afetar a maturidade sexual dos indivíduos (CAVALCANTE *et al.*, 2020).

Além disso, os padrões populacionais de peixes marinhos apresentam forte interferência da relação passado/presente, por meio de processos demográficos, comportamentais, ecológicos e evolutivos. As mudanças climáticas ocorridas no período Quaternário, iniciado há 2,6 milhões de anos, estão diretamente relacionadas a esses padrões, já que ocasionaram flutuações globais relativas ao nível do mar (BIONDO DA COSTA *et al.,* 2019).

A variabilidade genética sitiada entre os organismos da mesma espécie, ou mesmo entre espécies diferentes, pode fornecer informações da dinâmica populacional, o próprio grau de estruturação geográfica, de diversidade genética e estudos filogeográficos e filogenéticos (GONÇALVES, 2018). Nesse viés que contempla importantes recursos pesqueiros marinhos, está a anchoveta atlântica *Cetengraulis edentulus*.

No Estado do Maranhão, *C. edentulus* se constitui como uma espécie abundante (LIMA, 2018) servindo, dessa forma, como importante recurso de pesca na região costeira do Brasil (LEMOS; VAGENAS; VAZ-DOS-SANTOS, 2018). Em seus estudos, Cavalcante (2016) reconheceu a variação geográfica de *C. edentulus* na costa maranhense após resultados de similaridade em relação às populações de Raposa e São José de Ribamar, afirmando haver manutenção do fluxo gênico das populações.

Ainda, esse mais recente achado acerca da espécie na região maranhense assinala que os métodos de ordenamento de pesca já estabelecidos assumem a ocorrência de unidades independentes de *C. edentulus* na costa do Brasil, e afirma a necessidade de estudos quanto à estrutura populacional da espécie pelo uso de métodos moleculares, até mesmo como maneira de complementar e preencher o espaço existente na elucidação genética de uma espécie tão importante no sentido ecológico, e de elevada complexidade no ciclo de vida.

Nesse sentido, este trabalho objetivou analisar, geneticamente, a população de *Cetengraulis edentulus* presente em Raposa-MA, de modo a somar com os dados existentes no que diz respeito à diferenciação geográfica da espécie. Além de acrescentar na história evolutiva da anchoveta atlântica quanto à origem e distribuição, as informações aqui obtidas poderão ser úteis para fins de conservação e manejo da espécie na região costeira do Maranhão.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aparato geral da ordem Clupeiformes

Os peixes popularmente conhecidos como sardinhas, apapás, arenques e manjubas são pertencentes à ordem Clupeiformes, importante componente da classe Actinopterygii (Teleostei). Os representantes de Clupeiformes estão distribuídos em ambientes marinhos, dulcícolas e estuarinos, aspecto fortemente favorecido por sua diadromia (BLOOM; LOVEJOY, 2014).

Os peixes dessa ordem são, em sua maioria, filtradores de plâncton e se constituem como espécies forrageiras na cadeia trófica. Além disso, apresentam disposição característica no que diz respeito à formação de cardumes, uma vez que seus movimentos são muito coordenados (LOEB, 2015). A mesma característica oferece às espécies a vantagem de dificultar a captura por predadores e facilitar o encontro de parceiros para acasalar (BLOOM; EGAN, 2018).

A ordem Clupeiformes engloba cinco famílias (Denticipitidae, Pristigasteridae, Engraulidae, Clupeidae e Chirocentridae), 84 gêneros e, aproximadamente, 400 espécies cosmopolitas, primitivamente adaptadas ao ambiente marinho (BONECKER, 2014). Seus corpos são fusiformes, o que favorece a hidrodinâmica, às vezes muito compridos e de porte pequeno a moderado, com comprimento padrão entre oito e 30 cm (OLIVEIRA, 2019). Nelson (1994) destaca a presença do *recessus lateralis* como característica exclusiva da ordem. É caracterizado como um componente da conexão otofísica em que os sensores estão fundidos no interior de uma câmara na parte ótica da caixa craniana.

A ordem Clupeiformes reúne um grupo altamente diversificado. Tal aspecto é revelado pela presença de espécies atuais localizadas em regiões que sofreram drásticas mudanças no ambiente, a exemplo das ocorridas na época pleistocena. Ainda, os fatores abióticos, como salinidade, oxigênio, temperatura e clorofila apresentaram atributos históricos relativos à filogenia, o que está associado às taxas de diversificação das espécies ao longo do tempo (AGUIRRE, 2014).

Em consonância com a assertiva da diversidade de Clupeiformes e suas recorrentes transições de hábitats, Bloom e Egan (2018) propuseram que os limites ecológicos dependentes da diversidade são evitados. Essa é uma suposição sustentada pelo caráter alopátrico da especiação em peixes, já que repetidas transições resultam em diversificação constante no decorrer do tempo.

Utilizando a abordagem a nível macroevolutivo e taxonômico, a ordem Clupeiformes é um grupo natural (LAVOUÉ *et al.*, 2013). De modo geral, Willey e Lieberman (2011) apontam que um grupo natural é o resultado da ação de processos naturais. Um importante exemplo de grupos naturais são os monofiléticos que, pela definição do entomólogo alemão Willi Hennig (1966), seguem o processo da ancestralidade comum carregando consigo a informação da história evolutiva (KLASSA; SANTOS, 2015).

As primeiras hipóteses filogenéticas para Clupeiformes partiram da publicação, em 1966, de Greenwood. Desde o ano de 2006, a classificação taxonômica abrange duas subordens para Clupeiformes: Denticipitoidei e Clupeoidei (NELSON, 2006; QUEIROZ *et al.*, 2020). Quando Lavoué *et al.* (2007) utilizaram técnicas moleculares para testar a monofilia e as relações superiores de Clupeiformes foi confirmada que a ordem é monofilética, isso apenas deu respaldo aos trabalhos desenvolvidos anteriormente tratando de tal questão (NELSON, 1970; GRANDE, 1985; DI DARIO; DE PINNA, 2006). O trabalho foi pioneiro no uso de dados moleculares, já que até a época os caracteres morfológicos davam sustentação à monofilia do táxon. Estes, por sua vez, compreendem a conexão ouvido-bexiga natatória, presença do recesso lateral e o esqueleto caudal, único de teleósteos.

2.2. Família Engraulidae

A família Engraulidae está representada por duas subfamílias (Engraulinae e Coilinae), 17 gêneros e 146 espécies costeiras abundantes, especialmente, na América do Sul e no Sudoeste asiático (MALABARBA; MALABARBA, 2020). Os engraulídeos, fazendo jus à ordem Clupeiformes, são peixes marinhos, porém existem cerca de 20 espécies de água doce (SILVA, 2010).

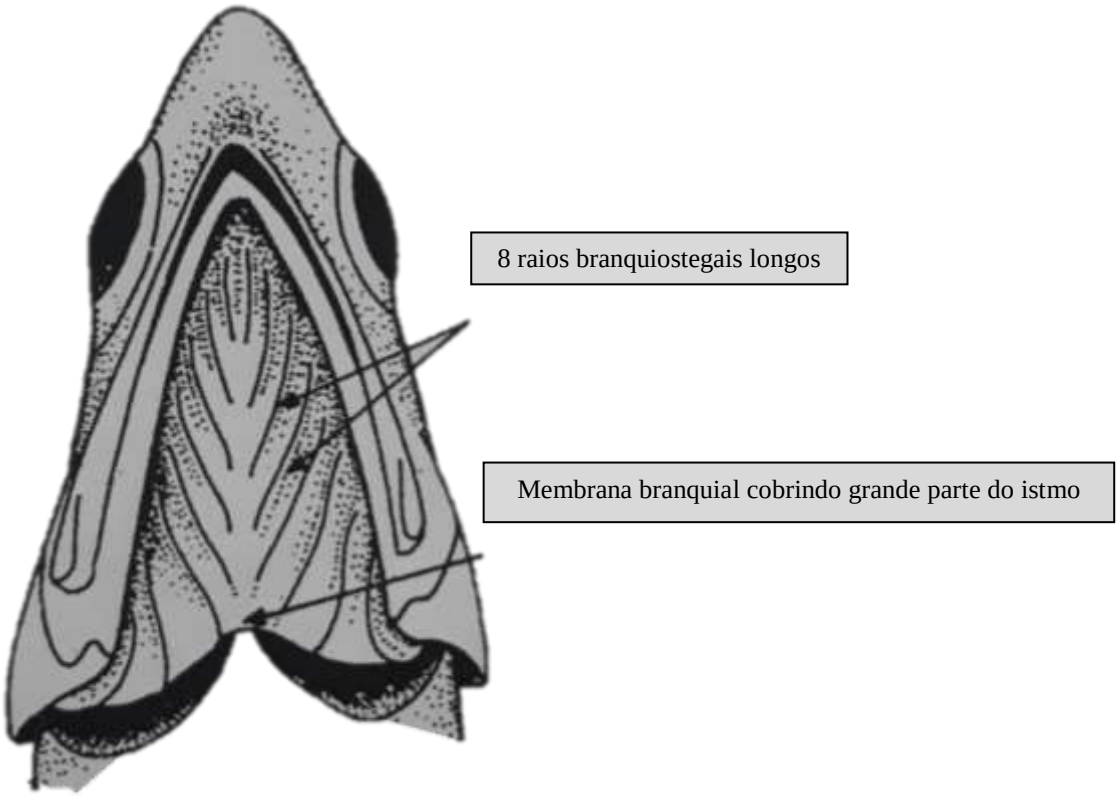
No Brasil, pelo menos oito espécies são compreendidas como exclusivas do ambiente dulcícola (NELSON; GRANDE; WILSON, 2016). Vicente *et al.* (2020) afirmam que, da produção mundial de pescado, cerca de 20% corresponde às espécies de engraulídeos. Dentre as espécies que assumem tal valor comercial, podem-se destacar *Engraulis ringens, Engraulis anchoita, Engraulis mordax, Cetengraulis edentulus, Anchoviella lepidentostole* e *Anchoa tricolor* (SILVA *et al.*, 2003).

O gênero *Cetengraulis* Günther, 1868 está entre os gêneros pertencentes ao hemisfério ocidental, também conhecido por Neotrópico (BLOOM; LOVEJOY, 2012). Apenas duas espécies são reconhecidas para o gênero: *C. mysticetus* (Günter, 1866), no Pacífico – Golfo da Califórnia ao Peru – e *C. edentulus* (Cuvier, 1829), no Atlântico – Caribe ao Brasil

(WHITEHEAD; NELSON; WONGRATANA, 1988). Acredita-se que a dicotomia do gênero seja decorrente do fechamento completo dos dois oceanos pelo Istmo do Panamá, já que até o Pleistoceno eles eram conectados (LOWE-MCCONNELL, 1999).

Dentre os caracteres diagnósticos de espécies do gênero *Cetengraulis*, elencam-se o tamanho moderado, 17 cm de comprimento padrão, focinho proeminente, maxila ponderada, sem dentes na maxila inferior, nadadeira dorsal na porção medial do corpo e barbatana anal moderada originada na base da nadadeira dorsal (WHITHEHEAD; NELSON; WONGRATANA, 1988), e a grande área superficial promovida pelos sulcos nas paredes intrínsecas do estômago faz com que o gênero seja ímpar no que cerne à família Engraulidae (KRUMME *et al.,* 2008). Whitehead, Nelson e Wongratana (1988) ainda apresentam uma característica morfológica que facilita a identificação de *Cetengraulis,* que é a presença da membrana branquial cobrindo grande parte do istmo (Figura 1).

Figura 1 – Porção do istmo recoberto pela membrana branquial em *Cetengraulis.*



Fonte: Modificado a partir de Whitehead, Nelson e Wongratana (1988, p. 381).

Cetengraulis edentulus (Figura 2) está presente em águas costeiras salobras na porção ocidental do Atlântico (KRUMME *et al.*, 2008). Sua morfologia abrange corpo comprimido, cabeça grande, focinho pontiagudo, maxila moderada de ponta romba, nadadeira dorsal

moderada com origem abaixo do último terço da base da nadadeira anal, região ventral convexa e uma faixa de cor prata ao longo do flanco que desaparece em aproximadamente 10 cm do comprimento padrão (WHITHEHEAD; NELSON; WONGRATANA, 1988). O aparelho filtrador da anchoveta atlântica *C. edentulus* é do tipo escova enriquecido de brânquias justapostas.

Figura 2 – Espécime de *Cetengraulis edentulus.*

Fonte: Modificado a partir de Vicente *et al.* (2020, p. 7).

Assim como as demais espécies da família Engraulidae, *Cetengraulis edentulus* realiza importante papel ecológico no que diz respeito à predação de zooplâncton, fator necessário para o fluxo energético na cadeia alimentar (GRANT; LECOMTE; BOWEN, 2010). Nesse sentido, Franco *et al.* (2014) afirmam a grande plasticidade fenotípica desses engraulídeos quando observam sua frequência em regiões de salinidade mais baixa, de alta temperatura e fitoplâncton abundante. Na cadeia alimentar, ainda é possível perceber a característica de forrageador não apenas de outras espécies de peixes, mas de aves marinhas (MONFORT *et al.*, 2009).

2.3. A importância das análises genéticas em populações de peixes

Uma população pode ser definida como um grupo de indivíduos da mesma espécie em uma dada área (ODUM; BARRET, 2007). A genética de populações se destina à análise das mudanças genéticas em populações no que diz respeito à quantidade e distribuição, além de nomear as forças controladoras de tais variações (GRIFFTHS *et al.*, 2016). A compreensão da variação genética dentro de uma população tem sido explorada para fins conservacionistas. Frankham *et al*. (2008) sugerem que conhecer a composição e a estruturação de uma espécie

dentro da população pode fornecer bases para manejo e conservação, e alegar se a estruturação é natural ou imposta por barreiras antrópicas.

Os estudos envolvendo a genética de populações de peixes, bem como de outros organismos, partem do uso de ferramentas moleculares capacitadas a acessar as variações genéticas e estabelecer relações com seus fatores causais (TORRES, MATOSO; ARTONI, 2004). Nesse ínterim, é importante saber que os níveis de variação genética são diretamente proporcionais ao poder que uma população tem no quesito resposta ao processo de seleção natural, além de contribuir em relação aos limites de distribuição visando sobreviver em diversos hábitats (KALINOWSKI, 2004).

Em termos de biodiversidade, a ictiofauna neotropical é a mais abundante (NELSON, GRANDE; WILSON, 2016). Essa informação abrange a história evolutiva, cuja elucidação pode responder perguntas persistentes sobre a origem e distribuição das espécies de peixes, além de contribuir para a taxonomia, ou mesmo separação de populações muito próximas (MARQUES, 2003).

Uma das mais requisitadas ferramentas moleculares são os marcadores genéticos, que correspondem a sequências de DNA que mostram polimorfismos entre indivíduos geneticamente referidos (HILSDORF, 2013). Dessa maneira, trabalhar com marcadores moleculares implica utilizar características hereditárias em organismos de uma mesma população, sendo que os marcadores ecoam disparidades nos segmentos de DNA (XIMENES, 2014). Os marcadores mitocondriais são importantes em análises populacionais. Eles têm alta taxa de mutação, em comparação aos nucleares, e são vulneráveis a processos demográficos devido ao tempo de coalescência (TURCHETTO-ZOLET *et al.*, 2013).

2.4. DNA mitocondrial (mtDNA)

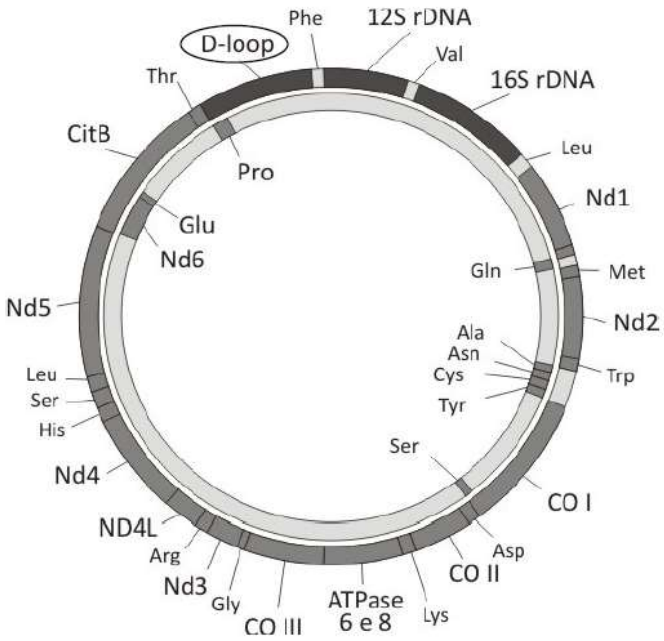
O DNA mitocondrial está situado na matriz da organela citoplasmática conhecida por mitocôndria. Ela está presente nas células eucarióticas e sua função primordial é a respiração celular, mais precisamente a produção da adenosina trifosfato – ATP (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). O mtDNA é dotado de 37 genes associados ao mecanismo de fosforilação oxidativa, dos quais 13 são capazes de codificar proteínas, 22 codificam as moléculas de RNA transportadoras (tRNA) e dois codificam RNAs ribossômicos (12S e 16S rRNA) (MEYER, 1993).

Por apresentarem alta taxa de mutação, os marcadores mitocondriais são úteis para estudos em nível de população (MANIGLIA, 2010). Característica também importante desses

marcadores diz respeito à herança exclusivamente materna, anulando a mistura sexual que poderia dificultar a origem de classes ancestrais específicas (DAWKINS, 2009).

O mtDNA ainda possui uma região não codificadora denominada região controle do DNA mitocondrial. É uma porção do DNA de mitocôndrias que acumula substituições de bases mais rápido que outras partes do mesmo material genético (WILKINSON; CHAPMAN, 1991). A região controle do mtDNA apresenta uma alça D, também denominada *D-loop* (Figura 3), responsável por controlar seus processos de replicação e transcrição. Como a herança é materna, é lugar comum o acúmulo de substituições, inserções, deleções e duplicações nas moléculas herdadas pela progênie da mesma mãe (SCHIMITT, 2005).

Figura 3 – Região *D-loop* do DNA mitocondrial de vertebrados.



Fonte: Souza (2011, p. 7).

D-loop também se constitui como a principal região não codificadora (NCR, do inglês *non-coding region*) de seres humanos com aproximadamente 1100 pares de bases (ARINI *et al.*, 2018). O arsenal de divergência na região, evidenciado nas sequências de bases de diferentes populações da mesma espécie, é crucial para a análise da estrutura populacional e aspecto evolutivo dos organismos (AVISE, 1994).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Realizar a análise genética da população de *Cetengraulis edentulus* presente em Raposa-Maranhão utilizando a genética molecular como ferramenta.

3.2. Específicos

- Investigar, geneticamente, a população de *C. edentulus* a partir das sequências da região controle do DNA mitocondrial;
- Delimitar o nível da estrutura populacional de *C. edentulus* presentes na região de Raposa-Maranhão;
- Estimar a variabilidade intrapopulacional.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de *C. edentulus* foram coletados na costa do Maranhão, Município de Raposa. Após o desembarque do pescado e identificação dos indivíduos, seguindo o guia de identificação morfológica proposto por Whitehead, Nelson e Wangratana (1988), uma fração de tecido foi coletado e conservado em etanol 70%. Em seguida, as amostras foram armazenadas a -20°C no Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LabGeM), da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL).

4.1. Extração de DNA a partir do músculo de peixes

O DNA foi obtido a partir de 50 mg de tecido das espécies de *Cetengraulis edentulus*. O DNA foi extraído com o uso do *Kit* comercial Invitrogen *by Thermo Fisher Scientific*, com sede em Waltham, Massachusetts, Estados Unidos da América, seguindo orientações do fabricante. A qualidade das amostras de DNA foi verificada a partir de eletroforese em gel de agarose a 1% corado com GelRed.

4.2. Amplificação e sequenciamento do DNA

A amplificação da região controle do DNA mitocondrial foi realizada por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando os iniciadores *forward Dloop* L1 5'-CCTAACTCCCAAAGCTAGGTATTC-3', *reverse* H2 5'-CCGGCAGCTCTTAGCTTTAACTA-3'. Cada reação de PCR teve um volume final de 25 µL: tampão de Taq polimerase (10X), $MgCl_2$ (25 mM), iniciadores (200 ng/µL), DNA genômico (200 ng/µL), 1,25 mM de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), Enzima Taq DNA polimerase (2 U/µL) e água pura.

O termociclador foi usado para amplificação do DNA obedecendo aos seguintes parâmetros: a desnaturação inicial foi de 94 °C por 3 minutos, seguindo 30 ciclos de desnaturação de 94 °C por 30 segundos, hibridização 57 °C por 1 minuto, extensão inicial de 2 minutos a 72 °C. A extensão final foi a 72 °C por 7 minutos. O produto de PCR foi submetido à análise de eletroforese a partir de gel de agarose 1% corado com GelRed.

Após o término das reações de PCR, 2,5 µL das amostras amplificadas foram purificadas e sequenciadas. Para a purificação, utilizou-se a enzima ExoSAP-IT (*Amersham Pharmacia Biotech Inc.*). Após esta etapa, as amostras foram submetidas à reação de sequenciamento em um sequenciador ABI 3500, a partir do método didesoxiterminal de

Sanger *et al.* (1977), com reagentes do *Kit ABI Prism TM Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Perkin Elmer)*.

4.3. Análise genética

As sequências nucleotídicas foram editadas no programa BIOEDIT 7.0.9 (HALL, 1999) e alinhadas utilizando o programa Clustal W (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994). A diversidade genética foi estimada a partir do Índice de Diversidade Haplotípica (*h* – probabilidade de que dois haplótipos selecionados aleatoriamente sejam diferentes entre os indivíduos) e Índice de Diversidade Nucleotídica (π – probabilidade de que dois nucleotídeos homólogos selecionados aleatoriamente sejam diferentes entre os indivíduos) (NEI, 1987) no programa DNASP 6.12.3 (ROZAS; LIBRADO, 2009).

Para o Teste de Neutralidade de Fu (*Fs*) (FU, 1997) e Tajima (*D*) (TAJIMA, 1989) foi utilizado o programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010), para verificar o desvio de neutralidade e inferir sobre a história demográfica das populações. Os valores de *D* e *Fs* significativamente diferentes de zero são indicativos de desvio de neutralidade. Quando há excesso de mutações recentes, os valores de *D* e *Fs* tendem a ser negativos, indicando desvios causados pelo crescimento populacional. Valores positivos indicam possível seleção balanceadora, subdivisão populacional ou efeito *bottleneck* (TAJIMA, 1989).

A história demográfica das populações foi inferida a partir da *mismatch distribution* (diferenças entre todos os pares de haplótipos da amostra) e na estimativa de parâmetros de expansão demográfica súbita (t, q0 e q1), usando o método dos mínimos quadrados como descrito em Schneider e Excoffier (1999). A validade dos modelos de expansão *stepwise* foi testada usando o *bootstrap* paramétrico, a partir dos valores de significância da soma dos desvios quadrados (*SSD*) e do índice de *Raggedness (Rg)* de Harpending (1994) no programa ARLEQUIN (EXCOFFIER; LISCHER, 2010).

Análise de Variância Molecular (AMOVA) foi calculada no programa ARLEQUIN (EXCOFFIER; LISCHER, 2010). A AMOVA é usada para testar a estruturação geográfica das populações em diferentes agrupamentos e para verificar a existência ou não de diferenciação intrapopulacional. Ela foi estimada com base nos valores de Fst *pairwise* para a população. A partir desta análise, foram estimadas a diversidade e a estruturação genética. O programa Network 5 (BANDELT; FOSTER; ROHL, 1999) também foi usado para construção da rede de haplótipos, e para verificar a distribuição e relacionamento dos haplótipos na população.

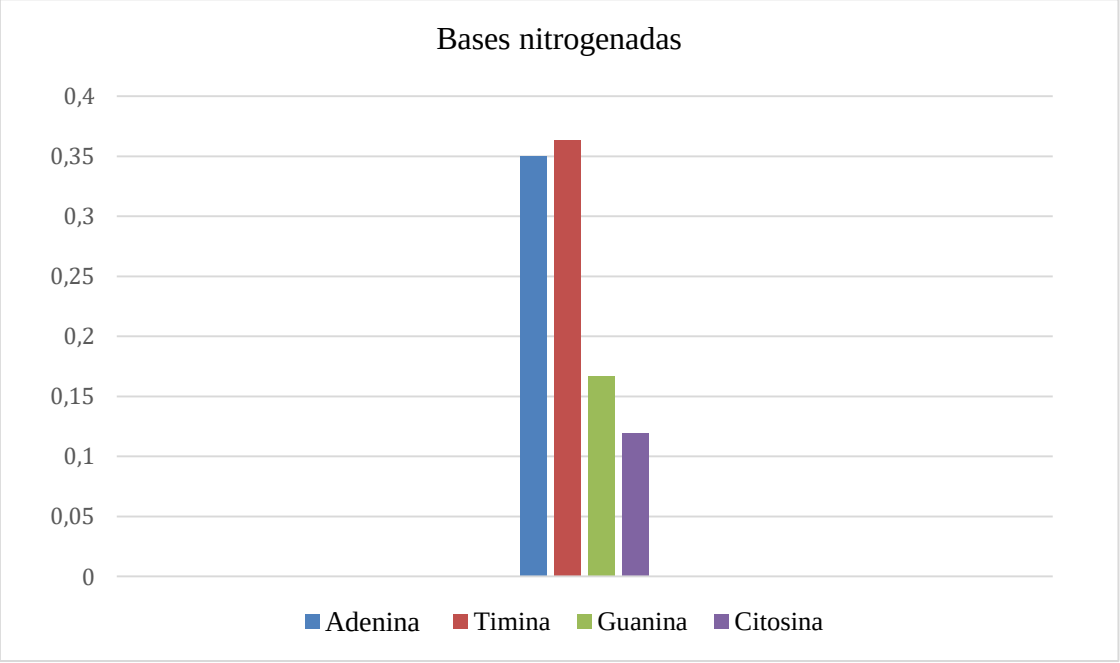
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O alinhamento das 22 sequências estudadas gerou um fragmento de 570 pares de bases (pb). Ainda, foram observados 30 sítios variáveis, dos quais 24 são *singleton* e seis, informativos de parcimônia. Os resultados também revelam a presença dos sítios polimórficos decorrentes de 42 substituições nucleotídicas, como transições (31) e transversões (11), enquanto substituições *indel* (inserção-deleção) não foram observadas. O número de sítios polimórficos se mostrou elevado, em um teor de 40, o que pode sustentar a elevada taxa mutacional do DNA mitocondrial (ALMEIDA, 2019).

Caldart *et al.* (2016) sinalizam para o fato de que é comum que mutações do tipo transição (entre duas purinas ou duas pirimidinas) apresentem números superiores em comparação às do tipo transversão (entre uma purina e uma pirimidina e vice-versa). No entanto, essa proporção é passível de alteração, uma vez que as transversões podem ser lentamente acumuladas e ultrapassar as transições (MEYER, 1993).

A composição nucleotídica média da população de *Cetengraulis edentulus* calculada foi de 11,93% para citosina, 36,33% para timina, 35,05% para adenina e 16,70% para guanina (Gráfico 1). Em relação a isso, é notório que a porcentagem de A/T é maior que o de G/C, fator já corroborado para a região controle do mtDNA (RESENDE, 2018).

Gráfico 1 – Composição nucleotídica estimada para a população de *C. edentulus.*



Fonte: Autora (2022).

O resultado apresentado pode ser um indício relacionado ao evento de separação do Istmo do Panamá, que foi o responsável pela dicotomia do gênero *Cetengraulis.* Nesse sentido, pode ser observado que cerca de 70% da composição é de A/T, que são bases ligadas

duas pontes de hidrogênio (ligações mais fracas em relação às que ocorrem entre G/C). A partir disso, é possível inferir que a especiação de *C. edentulus* é recente, neotropical e condiz com a afirmação levantada por Lowe-Mcconel (1999).

Das amostras sequenciadas foram observados 22 haplótipos, com uma diversidade haplotípica (*h*) de 1,0000, nucleotídica (π) de 0,01631 e o número médio de diferenças nucleotídicas (k) =8,0763 (Tabela 1). O conhecimento de tais parâmetros genéticos da região *D-loop* é importante para analisar a condição atual de uma população (MARIN, 2013). Desse modo, a população de *C. edentulus* em Raposa-MA apresenta alta diversidade haplotípica, que revela alta variabilidade, mas sua diversidade nucleotídica é baixa.

Tabela 1 – Diversidade genética de *C. edentulus* baseada em 570 pb da região *D-loop* **(H=** número de haplótipos; ***h*=** diversidade haplotípica; **π=** diversidade nucleotídica).

População	**H**	***h***	**π**
Raposa	22	1.0000	0.01631

Fonte: Autora (2022).

Os dados de Grant, Lecomte e Bowen (2010) sinalizam que alta diversidade haplotípica e baixa diversidade nucleotídica ficaram evidentes em seu trabalho, não apenas para *C. edentulus* (*h* =0,853; π =0,0046), mas para *C. mysticetus* (*h* =0,928; π =0,00143). Esse parâmetro resultante pode ser associado a uma população de ampla composição, em relação ao número de haplótipos relacionados, e que presenciou um cenário esperado após um evento demográfico recente resultante de expansão ou contração populacional recente.

Almeida *et al.* (2018) revelam que alta diversidade haplotípica e baixa diversidade nucleotídica são indicativos de acúmulo de mutações logo após um *bottleneck*, em que há redução do tamanho populacional em uma geração e depois um crescimento com variação genética reduzida.

Tal padrão de diversidade genética também foi encontrado para o *taxa* irmão de *Cetengraulis*, a anchova da Califórnia *Engraulis mordax* (*h* =0,776; π =0,003) (LEWIS; LEMA, 2019). Esse levantamento fornecido por Díaz-Viloria, Sánchez-Velasco e Peréz-Enríquez (2012) foi importante para sustentar a hipótese de continuidade genética entre as populações do Golfo Central e da região Sulista da Califórnia.

As análises estatísticas de *Fs* e *D* demonstraram valores negativos (Tabela 2) para a amostragem de Raposa. O valor de *Fs* se mostrou significativo ($p < 0.02$), bem como o de *D* ($p < 0.05$) (FU, 1997; TAJIMA, 1989). Desse modo, os testes de neutralidade corroboram para a hipótese de expansão populacional.

Tabela 2 – Testes de Neutralidade (***Fs*=** valor teste de Fu; **P*Fs*=** p-value de teste de Fu; ***D*=** valor teste de Tajima; **P*D*=** p-value de teste de Tajima).

População	***Fs***	**P*Fs***	***D***	**P*D***
Raposa	-21.14805	0.00000	-1.90365	0.01000

Fonte: Autora (2022).

Os dados apresentados que sinalizam a expansão populacional da anchoveta atlântica vão de encontro aos de Bennemann (2022), que afirma a diminuição em abundância, ou mesmo desaparecimento de anchovas (Engraulidae) por aspectos de mudanças na distribuição espacial das espécies. Por mais que Araújo *et al.* (2018) também revelem isso em análises de expansão populacional de clupeídeos pelágicos, para estimar os impactos das mudanças climáticas causados sobre as espécies presentes no Atlântico Sudoeste, o estudo não envolveu representantes do gênero *Cetengraulis.* As anchovas da Califórnia apresentaram o mesmo indicativo de expansão populacional recente a partir de ancestrais em pequeno número (GRANT; BOWEN, 1998; DÍAZ-VILORIA, SÁNCHEZ-VELASCO E PERÉZ-ENRÍQUEZ, 2012). Para eles, a expansão da população pode ter ocorrido no final do Pleistoceno até o momento da última glaciação (CLAYTON *et al.*, 2006).

Para validar o modelo da história demográfica estimada pelo teste de neutralidade apresentado, a distribuição *mismatch,* o índice de irregularidade (*raggedness* index) e a soma dos desvios quadrados (*SSD*) foram observados. Os valores disponíveis na Tabela 3, obtidos com 100 réplicas de *bootstrap* paramétrico, são baixos e não rejeitam a hipótese de expansão recente da população.

Tabela 3 – Parâmetros da distribuição *mismatch* para *Cetengraulis edentulus* (**τ=** parâmetro de expansão; Θ_0= parâmetro de mutação antes da expansão populacional; Θ_1= parâmetro de mutação após expansão populacional; SSD (PSSD) = Soma dos Desvios dos Quadrados; Rg (PRg) = Índice de *Raggedness*).

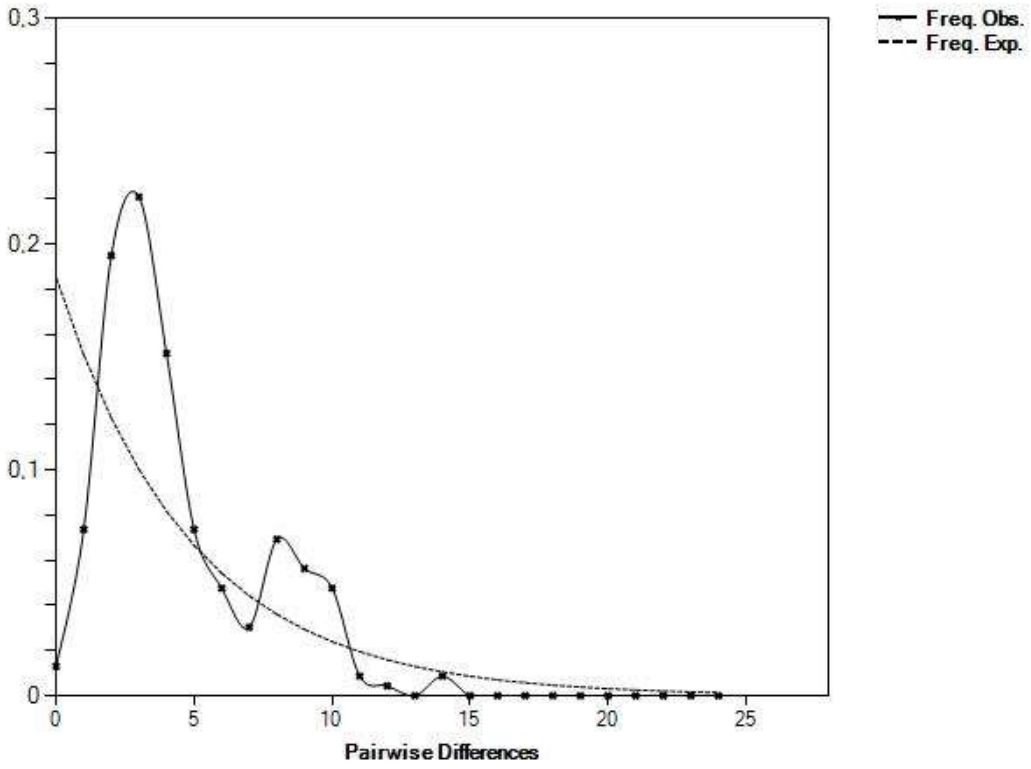
População	**τ**	**Θ_0**	**Θ_1**	**SSD (PSSD)**	**Rg (PRg)**
Raposa	3.273	0.000	1,0000	0.04506453 (0.03000000)	0.02278818 (0.74000000)

Fonte: Autora (2022).

Como bem sinaliza Evangelista-Gomes (2020), a forma como a diversidade genética se comporta dentro da população é elementar para padronizar a estrutura populacional de cada espécie, além de ser extremamente relevante para sustentar o mecanismo adaptativo frente às flutuações no ambiente, resultando na manutenção das populações em ambientes naturais. O ocorrido no Pleistoceno referente à penúltima regressão marinha (há cerca de 140 mil anos), que deixou exposta a plataforma continental marinha no Brasil, contribuiu para que houvesse a redução de ambientes naturais. Desse modo, é provável que um efeito gargalo tenha sido causado, e pode justificar o valor nulo de θ_0 (ROGERS, 1975).

Observa-se, ainda, que o valor de SSD indica equilíbrio demográfico ($p < 0.05$), enquanto que Rg indica expansão ($p > 0.05$). O gráfico da análise ilustra muito bem esse cenário, tendo em vista que a curva da frequência observada assume distribuição bimodal, validando a hipótese de expansão (Gráfico 2) (MACHADO, 2018).

Gráfico 2 – Representação gráfica das diferenças par a par das sequências do gene mitocondrial *D-loop* para a população de *Cetengraulis edentulus* amostradas em Raposa-MA.



Fonte: Autora (2022).

O padrão observado de distribuição bimodal, como bem defende Strasburg *et al.* (2007), pode ser uma representação de expansão populacional recente logo após uma redução e isso acaba influenciando nos achados dos índices de neutralidade que indicaram expansão. Além do Teste de Neutralidade, a Análise da Variância Molecular (AMOVA) foi observada para um agrupamento populacional baseado em indícios de estruturação apresentados pelos valores de Fst (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados obtidos da AMOVA. (CV = Componente de variação; V%= Porcentagem de variação; Fct= Diferença genética entre grupos; Fsc= Diferença genética entre amostra dentro dos grupos; Fst= Diferença genética dentro das amostras).

Fonte de variação	CV	V%	Estatística F	Valor p
Entre grupos	-0.08091	-2.91	Fct= -0.02908	0.33040

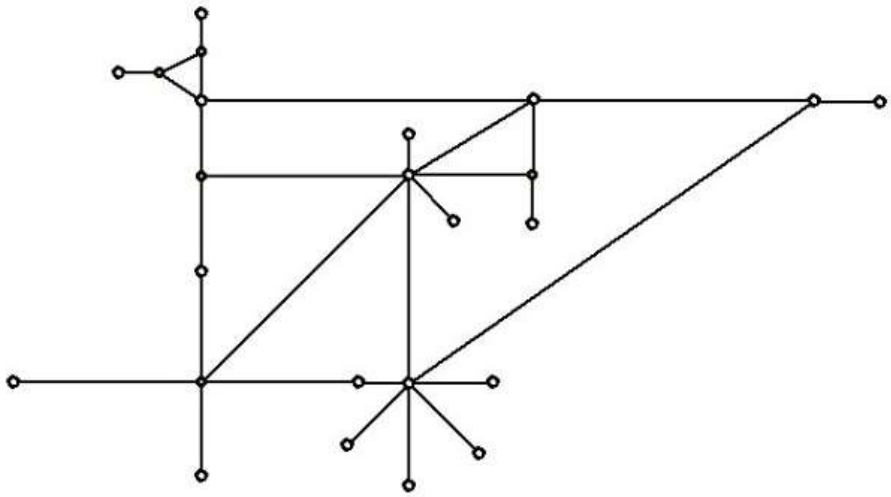
Entre amostras dentro dos grupos	0.04823	1.73	Fsc= 0.01685	0,01075
Dentro das amostras	**2.81485**	**101.17**	**Fst= -0.01175**	**0.00587**

Fonte: Autora (2022).

A AMOVA revelou que 101.17% da variância resultam da diferença genética dentro das amostras. Ainda, os indivíduos de *Cetengraulis edentulus* de Raposa apresentaram baixa diferenciação genética ($0 < Fst < 0,05$; $p < 0,05$), confirmando que se trata de uma única população. Isso demonstra que não há características genéticas marcadamente diferentes (CARVALHO *et al.*, 2016). Além disso, o valor de Fst não evidenciou estrutura genética para a população analisada, visto que ele é significativamente baixo (- 0,01175).

A rede haplotípica resultante concorda com o observado, já que é apresentado um padrão característico de população não estruturada (Figura 4) de baixa diferença genética entre os indivíduos.

Figura 4 – Rede de haplótipos de *C. edentulus* a partir da alça D do mtDNA.



Fonte: Autora (2022).

O alto fluxo gênico na população pode ser associado ao descrito por Cavalcante (2016) para a espécie de *C. edentulus* no Maranhão (Raposa e São José de Ribamar) que, pela morfologia, hipotetizou a ocorrência e manutenção de fluxo gênico entre os indivíduos. Uma das influências que o elevado fluxo gênico apresenta na população é a variabilidade genética. Ela é de extrema importância para sustentar a diversidade e o potencial evolutivo das espécies (BITTENCOURT *et al.*, 2019). Se perdida, a tendência de adaptação frente a mudanças no ambiente pode ser penalizada.

Ameaças antrópicas referentes à pescaria são sinalizadas como maneira insustentável de desequilíbrio ambiental (PESTANA *et al.,* 2020). Em se tratando dos ecossistemas marinhos e costeiros, a descaracterização e degradação ambiental são evidenciadas pela interferência humana na exploração de espécies com valor comercial elevado (CUTRIM, 2018). A renovação dos estoques pesqueiros também é afetada quando ocorre a captura dos indivíduos com tamanho inadequado (DINIZ *et al.,* 2020).

No Município de Raposa, a pesca é uma atividade referência, e já foi designada como uma das maiores comunidades pesqueiras do Estado (DINIZ, 2021). Os problemas relacionados a tal atividade são percebidos pelos próprios pescadores, que já afirmaram haver mudanças no tamanho e peso de captura (CANTANHÊDE, 2018). As espécies de *C. edentulus* são abundantes nas estações chuvosa e seca (PIORSKI; SERPA; NUNES, 2009), ocupam o primeiro lugar das capturas totais dentro da família Engraulidae e está entre as espécies mais capturadas ao longo do ano (AZEVEDO, 2017).

Cetengraulis edentulus é uma espécie marinha pelágica que apresenta variação geográfica na costa brasileira. Esse aspecto torna medidas de ordenamento de pesca necessárias à sustentabilidade das populações. Na mesma linha de raciocínio, a espécie é conhecida pela formação de cardumes e Martins *et al.* (2021) afirma que tais peixes podem ser significativamente capturados pelas embarcações que usam redes de cerco. Algumas artes de pesca são preocupantes para *C. edentulus*, como é o caso da zangaria usada, comumente, para a captura de camarões. Ela torna a espécie uma fauna acompanhante (*by catch*), e nos ecossistemas marinhos essa fauna se tornou um dos maiores desafios na conservação (AZEVEDO, 2017; DINIZ *et al.,* 2020).

Nesse viés, a anchoveta atlântica foi identificada como uma espécie que não apresenta medidas conservacionistas específicas na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional de Conservação da Natureza (IUCN) (MUNROE *et al.,* 2015), e é porque Verba (2019) a sinaliza como uma das espécies superexploradas na costa brasileira. Cenários como esse de superexploração pode afetar o período reprodutivo da espécie, especialmente quando não há conhecimento ou desrespeito ao período de defeso, estabelecido pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais – IBAMA (2022).

Oliveira (2020) afirma que *Cetengraulis edentulus* é flexível quanto ao ajuste do período reprodutivo em conformidade com as características ambientais de um determinado local. Torna-se perceptível que a ecologia da espécie reforça ainda mais a necessidade de conservação. Portanto, a união de fatores genéticos, evolutivos, ecológicos e comportamentais

de *Cetengraulis edentulus* na costa maranhense são esforços válidos para a conservação e sustentabilidade desse recurso pesqueiro altamente migratório (CESAR, 2022). As características exclusivas da espécie devem ser preservadas e servir como subsídio para que a história evolutiva das populações residentes no Brasil possa ser inferida e mais estudos sejam acrescentados em sua elucidação.

Por mais que a amostragem seja pequena se tornando um empecilho para discussões maciças sobre a caracterização genética da espécie na costa do Maranhão, é imprescindível que a análise genética da população aqui desenvolvida é pioneira para a região, além de se configurar como um ponto de partida para que outros estudos acerca da espécie *Cetengraulis edentulus* sejam desenvolvidos, e que estratégias de conservação sejam adotadas.

6. CONCLUSÃO

Com o cenário constante de degradação dos ecossistemas marinhos ameaçando a saúde da água, a sobrevivência da biodiversidade aquática e o continuísmo de espécies de alto valor comercial e ecológico, as análises genéticas apresentadas são urgentes para uma abordagem integrada de sustentabilidade e conservação. Desse modo, na comunidade pesqueira de Raposa, Maranhão, a população de *Cetengraulis edentulus* demonstrou expansão populacional. Além disso, apresentou ausência em relação à estrutura genética, uma vez que foi observada baixa diferenciação entre os indivíduos, e elevada variabilidade intrapopulacional.

REFERÊNCIAS

AGUIRRE, Cristian Braulio Canales. **Evaluando los factores ambientales que determinan la diversificación a escala microevolutiva y macroevolutiva: *Sprattus fuegensis,* gênero *Sprattus,* y Orden Clupeiformes como modelos de estudio**. 2014. 132 f. Tese (Doutorado) – Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Universidad de Concepción, Chile, 2014.

ALMEIDA, Fernanda de Sousa.; MORAES, Carolina Ofir.; FARIA, Fabíola Cristina Ribeiro. **Avaliação populacional e diversidade genética do camarão vermelho *Pleoticus muelleri* (BATE, 1888).** 2018. Disponível em: https://docplayer.com.br/85882635-Avaliacao-populacional-e-diversidade-genetica-do-camarao-vermelho-pleoticus-muelleri-bate-1888.html. Acesso em: 21 ago. 2022.

ALMEIDA, Talita Roberto Aleixo. **Análises genéticas e ações educativas direcionadas a *Amazona vinacea* (papagaio-de-peito-roxo):** contribuições à conservação da espécie no Parque Nacional das Araucárias. 2019. 121 f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2019.

ARAÚJO, Francisco Gerson. *et al.* Shifts in the abundance and distribution of shallow water fish fauna on the southeastern Brazilian coast: a response to climate change. **Hydrobiologia,** v. 814, n. 1, p. 205- 218, 2018.

ARINI, Rien Larasati *et al.* The use of species-specific primer targeting on D-loop mitochondrial for identification of wild boar meat in meatball formulation. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 5, n. 3, p. 361-368, 2018.

AVISE, John Charles. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Chapman and Hall, New York, 1994.

AZEVEDO, Bruna Rafaela Martins. **Composição da fauna acompanhante na pesca do camarão e biologia reprodutiva de Trichiurus lepturus (Trichiuridae, Teleostei) em Raposa, Maranhão, Brasil.** 2017. 98 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca)- Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2017.

BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; ROHL, A. A Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, p. 37-48, 1999.

BENNEMANN, Ana Beatriz Alves. **Conflitos de pesca em áreas marinhas protegidas:** revisão sistemática global e delimitação de estoques da sardinha-cascuda (*Harengula* sp.) alvo de conflito no Brasil Natal/RN. 2022. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

BIONDO DA COSTA, Ana Lucia. *et al.* Reconstituição paleoambiental do Quaternário no estuário do rio Santo Antônio, Ilha do Maranhão – Brasil. **Revista Geociências,** v. 38, n. 1, p. 117-130, 2019.

BITTENCOURT, Ricardo. *et al.* Diversidade e estrutura genética de populações de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. na floresta ombrófila mista em Santa Catarina. **Ci. Fl.,** Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 63-74, 2019.

BLOOM, Devin D.; EGAN, Joshua P. Systematics of Clupeiformes and testing for ecological limits on species richness in a trans-marine /freshwater clade. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 3, p. 1-18, 2018.

BLOOM, Devin D.; LOVEJOY, Nathan R. Molecular phylogenetics reveals a pattern of biome conservatism in New World anchovies (family Engraulidae). **Journal of Evolutionary Biology**, v. 25, p. 701-715, 2012.

BLOOM, Devin D.; LOVEJOY, Nathan R. The evolutionary origins of diadromy inferred from a time-calibrated phylogeny for Clupeiformes (herring and allies). **Proceedings of the Royal Society**, Kansas, v. 281, p. 1-8, 2014.

BONECKER, Ana *et al.* **Catálogo dos estágios iniciais de desenvolvimento dos peixes da bacia de Campos.** Sociedade Brasileira de Zoologia, p. 295, 2014.

CALDART, Eloiza Teles. *et al.* Análise filogenética: conceitos básicos e suas utilizações como ferramenta para virologia e epidemiologia molecular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1-20, 2016.

CANTANHÊDE, Lorrane Gabrielle. *et al.* Percepção ambiental de pescadores: uso e conservação dos recursos pesqueiros. **Biota Neotrop.,** v. 18, n. 4, 2018.

CARVALHO, Débora Araújo de. *et al.* Caracterização genética e estrutura populacional de galinhas crioulas Canela-Preta. **Pesq. agropec. bras.,** v. 51, n. 11, p.1899-1906, 2016.

CAVALCANTE, Adriana do Nascimento. **Variação morfométrica e alometria de *Cetengraulis edentulus* (Cuvier, 1829) (Osteichthyes, Engraulidae) na costa do Brasil**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2016.

CAVALCANTE, Geórgenes *et al.* Temporal streamflow reduction and impact on the salt dynamics of São Francisco River Estuary and adjacent coastal zone (NE/BRAZIL). **Regional Studies in Marine Science,** v. 38, 2020.

CESAR, Marina Faucon Figueiredo Fragoso. **Revisão da preferência alimentar do boto-cinza (*Sotalia guianesis*) ao longo da costa do Brasil**. 35 f. 2022. Dissertação (Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, São Vicente, 2022.

CLAYTON, L. *et al.* **Glaciation of Wisconsin**. 3. ed. Wisconsin Geological and Natural History Survey, Madison, Wisconsin, 2006.

CUTRIM, Allana Stéphanie Tavares. Composição e distribuição da macrofauna bêntica da região entremarés da Raposa, Maranhão, Brasil. 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2018.

DAWKINS, Richard. **A grande história da evolução**: na trilha dos nossos ancestrais. São Paulo: Companhia das Letras, 2009.

DÍAZ-VILORIA, Noé; SÁNCHEZ-VELASCO, Laura; PÉREZ-ENRÍQUEZ, Ricardo. Recent population expansion in the evolutionary history of the Californian anchovy Engraulis mordax. **Hidrobiológica,** v. 22, n. 3, p. 258-266, 2012.

DI DARIO, Fábio; DE PINNA, Mário C.C. The supratemporal system and the pattern of ramification of cephalic sensory canals in Denticeps clupeoides (Denticipitoidei, Teleostei): additional evidence for monophyly of Clupeiformes and Clupeoidei. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 46, p. 107-123, 2006.

DINIZ, Ana Luiza Caldas. *et al.* O uso múltiplo da pesca artesanal em Raposa, Maranhão/Brasil. **Braz. J. of Develop.,** Curitiba, v. 6, n. 2, p. 6999-7010, 2020.

DINIZ, Enio Oliveira. **Representação cultural dos pescadores artesanais do Município de Raposa.** 57 f. 2021. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

EVANGELISTA-GOMES, Grazielle. *et al.* Variação e divergência entre Snappers (Lutjaninae – Perciformes) do Atlântico sul ocidental: região controle mitocondrial para diagnose de pressão pesqueira ou novo Barcode para peixes?. **Research, Society and Development,** v. 9, n. 9, 2020.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources,** v. 10, p. 564–567, 2010.

FRANCO, Ana Clara Sampaio *et al.* Long-term (2002-2011) changes on *Cetengraulis edentulus* (Clupeiformes: Engraulidae) fisheries in Guanabara Bay, Brazil. **Rev. Biol. Trop**., v. 62, n. 3, p. 1019-1029, 2014.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. **Fundamentos da Genética da Conservação.** - . São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética – SBG, 2008.

FREITAS, Lucenilde Carvalho de. *et al.* Educação ambiental para o período do defeso da pesca: uma abordagem na escola e com familiares dos estudantes de uma comunidade pesqueira do Maranhão, Brasil. **Pesquisa em Foco**, v. 21, n. 1, p. 19-33. 2016.

FU YX. Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. **Genetics,** v. 147, n. 2, p. 915-925, 1997.

GONÇALVES, Felipe Aoki. **Padrões de Diversidade Genética e Filogeografia de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Smith (Bromeliaceae).** 2018. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Biodiversidade) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2018.

GRANDE, Lance. Recent and fossil Clupeomorph fishes with materials for revision of the groups of Clupeoids. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 181, p. 231-372, 1985.

GRANT, W.; BOWEN, B. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons of conservation. **Journal of Heredity** v. 89, p. 415-426, 1998.

GRANT, William S.; LECOMTE, Frédéric; BOWEN, Brian W. Biogeographical contingency and the evolution of tropical anchovies (genus *Cetengraulis*) from temperate anchovies (genus *Engraulis*). **Journal of Biogeography**, v. 37, p. 1352-1362, 2010.

GREENWOOD, Peter Humphry. **The fishes of Uganda**. Kampala: The Uganda Society, 1966.

GRIFFTHS, Anthony J.F. *et al.* **Introdução à Genética**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

HALL, T. A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Ácids Symposium. **Series,** v. 41, p. 95-98, 1999.

HARPENDING, H. C. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. **Human Biology**, v. 66, p. 591–600, 1994.

HENNING, Willi. **Phylogenetic Systematics**. 1. ed. Urbana: University of Illinois Press, 1966.

HILSDORF, Alexandre Wagner Silva. **Marcadores moleculares e a caracterização dos recursos genéticos de peixes: desenvolvimento sustentável da aquicultura e da pesca de espécies nativas de água doce no Brasil.** 2013. 159 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). **Defesos marinhos.** 2020. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/biodiversidade-aquatica/periodos-de-defeso/defesos-marinhos. Acesso em: 29 ago. 2022.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchôa; CARNEIRO, José. **Histologia básica**: Texto & Atlas. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KALINOWSKI, Steven T. Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. **Conserv Genet,** v. 5, p. 539-543, 2004.

KLASSA, Bruna; SANTOS, Charles Morphy D. 50 anos de sistemática filogenética: análise do livro "Filogenética, primeiros passos" e prospecções para o ensino de evolução. **Experiências em Ensino de Ciências**, v. 12, n.6, p. 22-34, 2015.

KRUMME, Uwe *et al.* Resuspended intertidal microphytobenthons as major diet component of planktivorous atlantic anchoveta *Cetengraulis edentulus* (Engraulidae) from equatorial mangrove creeks. **Ecotropica,** v. 14, p. 121-128, 2008.
LAVOUÉ, Sébastien *et al.* Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution,** v. 43, p. 1096-1105, 2007.

LAVOUÉ, Sébastien *et al.* Mitogenomic evidence for an Indo-West Pacific origin on the Clupeoidei (Clupeiformes). **PLos ONE**, v. 8, n.2, p. 1-15, 2013.

LEWIS, Olivia H.; LEMA, Sean C. Sequence and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome for the Northern Anchovy, Engraulis mordax (Engraulidae: Clupeiformes). **Mitochondrial DNA Part B**, v. 4, n. 1, p. 14-16, 2019.

LIMA, Louise Thuane Barreto de. **Distribuição espacial de peixes estuarinos no litoral amazônico brasileiro.** 2018. 57 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

LOEB, Marina Vianna. **Relações filogenéticas de Engraulidae e revisão do gênero *Anchoviella* Fowler, 1911 (Clupeiformes, Engraulidae).** 2015. 259 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Sistemática, Taxonomia Animal, Biodiversidade do Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

LOWE-MCCONNELL, R.H. **Estudos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999.

MALABARBA, Luiz Roberto; MALABARBA, Maria Claudia. Phylogeny and classification of Neotropical fishes. *In:* BALDISSEROTTO, Bernardo; URBINATI, Elisabeth Criscuolo; CYRINO, J.E.P. (Orgs.). **Biology and physiology of neotropical fish**. San Diego: Academic Press, 2020. p. 1-19.

MANIGLIA, Thiago Cintra. **Caracterização molecular de espécies de Potamotrygon (Potamotrygonidae, Myliobatiformes) da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil: variabilidade e diferenciação genética, hibridação e filogeografia**. 2010. 63 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

MARIN, Jorge Mori. **Análise da estrutura genética populacional de duas espécies de Characiformes (*Pygocentrus nattereri* e *Potamorhina latior*) na região da bacia do Rio Madeira, Rondônia.** 2013. 41 f. Dissertação (Mestre em Zoologia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

MARQUES, Débora Karla Silvestre. **Caracterização genética do pirarucu *Arapaima gigas* (Cuvier) (Teleostei, Osteoglossidae) da bacia Tocantins -Araguaia, Estado do Mato Grosso.** 2003. 80 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

MARTINS, Raquel Rennó Mascarenhas. *et al.* Diagnóstico da frota de cerco no Sudeste e Sul do Brasil: acesso formal e oferta de matéria-prima ao mercado. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 38, n. 3, 2021.

MEYER, A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. **Biochemistry and molecular biology of fishes**, v. 2, p. 1-38, 1993.

MONFORT, Karla Cibele Fragoso *et al.* Ocorrência de *Livoneca desterroensis* (Isopoda, Cymothoidae), parasita de sardinha – *Cetengraulis edentulus* (Cuvier, 1828) (Engraulidae, Clupeiforme), capturadas na região do nordeste paraense, Brasil. **B. Inst. Pesca,** São Paulo, v, 35, n.4, p. 657-662, 2009.

MUNROE, T. *et al. Cetengraulis edentulus.* **The IUCN Red List of Threatened Species** 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20154.RLTS.T190383A16510482.en. Acesso em: 29 ago. 2022.

NASCIMENTO, José Elias Ferreira do. *et al.* Variação sazonal de parâmetros físico-químicos na porção estuarina do município de Raposa – MA. **Interfaces Científicas,** v. 8, n. 2, p. 257-271, 2020.

NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics.** University Press, New York, p. 176-207, 1987.

NELSON, Gareth J. The hyobranchial apparatus of teleostean fishes of the families Engraulidae and Chirocentridae. **American Museum of Natural History,** v. 24, n. 10, p. 1-30, 1970.

NELSON, Joseph S. **Fishes of the word**. Jonh Wiley and Inc, New York, 1994.

NELSON, Joseph S. **Fishes of the world.** Hoboken, New Jersen: John Wiley & Sons, 2006.

NELSON, Joseph S.; GRANDE, Terry C.; WILSON, Mark V.H. **Fishes of the world**. 5. ed. Weinheim: Wiley, 2016.

ODUM, Eugene P.; BARRET, Gary W. **Fundamentos de Ecologia.** 5. ed. Stamford: Cenearg Learning, 2007.

OLIVEIRA, Fábio. **Ocorrência de parasitose em peixe manjuba boca torta (*Cetengraulis edentulus*) – Relato de caso.** 2020. 33 f. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2020.

OLIVEIRA, Mylca Costa de. **Filogeografia molecular do apapá branco *Pellona flavipinnis* (PRISTIGASTERIDAE, CLUPEIFORME) da bacia amazônica.** 2019. 33 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) –Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Imperatriz, 2019.

PESTANA, Samantha Silva. *et al.* Comparaçao entre a produção pesqueira do camarão branco e a fauna de siris do gênero *Callinectes* na pesca de zangaria no Município de Raposa, Maranhão-Brasil. **Braz. J. of Develop.** , v. 6, n.2, p. 7732-7749, 2020.

QUEIROZ, Cleonilde da Conceição Silva *et al.* Molecular phylogeny of Clupeiformes and the placement of some Western Atlantic and Amazonian Taxa. **Biota Amazônia,** Macapá, v. 10, n. 2, p. 14-19, 2020.

RESENDE, Snaydia Viegas. **Estrutura e diversidade genética em populações de *Brycon nattereri* GÜNTHER, 1864 (Characiformes, Characidae).** 2018. 50 f. Dissertação (Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2018.

ROGERS, J. S. **Measures of genetic similarity and genetic distance.** University of Texas Publication. v. 7, 1972.

ROZAS, J.; LIBRADO, P**.** DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polimorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1451-1452, 2009.

SANGER, F.; NICHLEN, S.; COULSON, A. R. DNA Sequencing with chain-termination inhibitors. **Proceeding of the National Academy Science of the USA**, v.74, p. 5463-5468, 1977.

SANTOS, Luiz Augusto Cauz dos. **Avaliação temporal da variabilidade genética da lagosta europeia (*Palinurus elephas*), no Mediterrâneo Ocidental da Espanha.** 2013. 62 f. Monografia (Bacharelado em Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2013.

SCHMITT, Renata. **Filogeografia de *Hypopygus lepturus* Hoedeman, 1962 (Gymnotiformes: Rhamphicthyidae) ao longo do médio Rio Negro, Amazônia.** 2005. 163 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2005.

SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. **Genetics,** v. 152, p. 1079–1089, 1999.

SILVA, Anailza Cristina Galdino da. **Caracterização do desenvolvimento ontogênico inicial de *Anchoviella vaillanti* (Steindachner, 1908).** 2010. 47 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SILVA, Márcio de Araújo. *et al.* Distribuição especial e temporal de *Cetengraulis edentulus* (Cuvier) (Actinopterygii, Engraulidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia,** v. 20, n. 4, p. 577-581, 2003.

SNUSTAD, Peter D.; SIMMONS, Michael J. **Fundamentos da Genética**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2020.

SOUZA, Allyson Santos. **Análise da estrutura genética populacional da piraúna (*Cephalopholis fulva:* SERRANIDAE) ao longo da costa e ilhas oceânicas brasileiras.** 2011. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

STRASBURG, Jared L. *et al.* Combining Phylogeography with Distribution Modeling: Multiple Pleistocene Range Expansions in a Parthenogenetic Gecko from the Australian Arid Zone. **PLoS ONE**, n. 2, v. 8, 2007.

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

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiples sequence alignments through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, p. 4673–4680, 1994.

TORRES, Rodrigo Augusto; MATOSO, Daniele Aparecida; ARTONI, Roberto Ferreira. Genética de peixes neotropicais. II. Biologia molecular de peixes neotropicais. **Publi. UEPG Ciências Biológicas Saúde**, Ponta Grossa, v. 10, n. 2, p. 27-37, 2004.

TURCHETTO-ZOLET, Andreia Carina *et al.* **Guia prático para estudos filogenéticos**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética – SBG, 2013.

VERBA, Julia Tovar. **Efeitos da paisagem marinha nas populações de peixes de interesse comercial.** 2019. 241 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

VICENTE, Fabiana *et al.* Integrative systematics unveils the controversial identity of Engraulidae fishing stocks in a Neotropical estuary, northeast Brazil. **Neotropical Ichthyology,** Maringá, v. 18, n. 4, p. 1-17, 2020.

WHITEHEAD, Peter J. P.; NELSON, Gareth J.; WONGRATANA, Thosaporn. Vol.7. Clupeoid fishes of the world (Suborder Clupeoidei): An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf-herrings Part 2 Engraulidae (suborder Clupeoidei). **FAO SPECIES CATALOGUE.** Rome IT: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1988.

WIKINSON, Gerald S.; CHAPMAN, Alyson M. Length and sequence variation in evening bat D-loop mtDNA. **Genetic Society of America,** v. 128, n. 2, p. 607-617, 1991.

WILEY, Edward Orlando; LIEBERMAN, Bruce S. **Phylogenetics:** Theory and practice of phylogenetic systematics. 2. ed. Hoboken, New Jersen: Wiley-Blackwell, 2011.

XIMENES, Aline Mourão. **Estruturação e dinâmica populacional de *Pellona castelnaena,* Valenciennes, 1847, e evidências de unidades evolutivas em *Pellona flavipinnis*** (Valeciennes, 1837) na bacia amazônica. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado) – INPA/UFAM, Manaus, 2014.

XIMENES, Luciano Feijão. Produção de pescado no Brasil e no nordeste brasileiro. **Caderno Setorial ETENE**, Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 5, n. 150, 2021. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/649/1/2021_CDS_150.pdf. Acesso em: 05 de maio de 2022.