

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE TROPICAL  
MESTRADO EM BIODIVERSIDADE TROPICAL

ISABELA MAYARA CHEIDA

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE LUTJANUS JOCU  
(BLOCK & SHNEIDER, 1908) POR MEIO DE MARCADOR  
MITOCONDRIAL (mtDNA)

São Mateus, ES

Maio de 2014

Caracterização genética de populações de *Lutjanus jocu* (Block & Shneider, 1908) por meio de marcador mitocondrial (mtDNA)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ por:

\_\_\_\_\_  
Prof.  
Dr. Vander Calmon Tosta - Orientador, UFES

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Maurício Hostim Silva - UFES

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Fábio Foresti, UNESP - UNESP

## SUMÁRIO

Agradecimentos.....	3
Resumo.....	6
Abstract.....	7
Lista de Figuras.....	8
Lista de Tabelas.....	9
INTRODUÇÃO	
A família Lutjanidae.....	10
A pesca no Brasil e a sua importância para os Lutjanídeos.....	13
Biogeografia e a genética populacional - Lutjanidae.....	17
OBJETIVOS	
Objetivos específicos.....	22
MATERIAIS E MÉTODOS	
Área de estudo.....	23
Coleta de material biológico.....	23
Extração de DNA.....	26
Amplificação e sequenciamento.....	27
Processamento e análise de dados.....	28
RESULTADOS.....	29
DISCUSSÃO.....	36
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	40

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, ser onipresente, onipotente e onisciente que me deu forças e paciência do princípio ao fim e me concedeu a graça da vida. Em segundo lugar agradeço imensamente à meus pais, Maria Elisa Francisco Cheida e Décio José de Souza Cheida pelo esforço diário e intensivo em poder oferecer bons estudos à todos seus filhos, inclusive à mim, e de sempre me incentivar em toda e qualquer decisão tomada, além de é claro, pela compreensão e amor inesgotáveis. Agradeço à meus irmãos, Gabriela Caroline Cheida, Guilherme Francisco Cheida e Augusto Francisco Cheida por simplesmente serem meus irmãos e em especial o último pela compreensão e ajuda durante as fases finais de digitação do trabalho: Gutinho, não sei o que seria de mim sem você por aqui;

Agradeço às minhas duas funcionárias da pousada: Nega e Vera; e seu filho Rodvan, que tomaram conta da pousada como se fosse suas casas nas três semanas finais que antecederam à apresentação deste trabalho; à Jamile Beninca pelas coletas, corridas, comidas, pelo surf de cada dia e pela grande amizade que fizemos graças a este mestrado; à Leonardo Francisco Machado pelas coletas, caronas (muitas caronas), conversas e por toda ajuda oferecida de livre e espontânea vontade (e que ajuda); ao Júnio Damasceno por todo apoio técnico e moral quando eu mais precisava, à Sâmara Oliveira pela amizade e por me hospedar diversas vezes em sua casa durante as coletas, como se eu fosse parte da família; à Raphael Martins e João Mauira pela ajuda e compreensão, e por terem me dado todo o suporte necessário durante diferentes fases do meu trabalho; à todos os meus amigos e colegas de mestrado: Juliana Miranda, Michele Sequine, Arnaldo Zanetti, Mayke Blank, Geórgia Félix e Drienne Messa; à Rodrigo Araújo, ou melhor, Zuel, por todas as informações partilhadas ao longo do mestrado, pelo surf de cada dia e por ter me cedido sua dissertação quando precisei.

Agradeço à Universidade Federal do Espírito Santo e à Fapes pela oportunidade de estudo e pela bolsa concedida; ao meu orientador Vander Calmon Tosta pela orientação e por todos os apoios financeiros; ao Maurício Hostim por todo apoio e ajuda concedida; à Samuel Ferreira pelo apoio e incentivo a me mudar para o norte do ES; ao meus ex-orientadores de iniciação científica, Fábio Foresti e Daniela Ferreira pela oportunidade concedida de iniciar meus estudos em genética no Lagenpe; ao Samuel Paiva, que mesmo de longe, me ajudou e muito com as minhas análises e ao Gleison pelo suporte, ajuda e por me fazer sentir em casa entre os laboratórios do Cenargen/EMBRAPA;

Agradeço aos programas Estatística Pesqueira e Meros do Espírito Santo pela parceria e ajuda com as coletas e dados; À Associação de pescadores de Conceição da Barra, Barra Nova e de Guarapari e a todas peixarias onde foram realizadas coletas; além de todas as pessoas que estavam envolvidas direta ou indiretamente com o trabalho e que eu esqueci de mencionar, fica aqui o meu muito obrigado.

*"Não é possível refazer este país, democratizá-lo, humanizá-lo, torná-lo sério, com adolescentes brincando de matar gente, ofendendo a vida, destruindo o sonho, inviabilizando o amor. Se a educação sozinha não transformar a sociedade, sem ela tampouco a sociedade muda."*

*Paulo Freire*

## RESUMO

Os peixes se apresentam como os vertebrados mais diversificados e os de maior variação genética conhecida. A ordem Perciformes se caracteriza por ser a mais diversificada e mais numerosa ordem de peixes, na qual se destaca a espécie *Lutjanus jocu*, por ser um importante recurso econômico da pesca artesanal, de pequeno a médio porte no Brasil. Apesar dos importantes avanços da ciência, existe ainda acentuada escassez de informações sobre esta espécie em questão, principalmente tratando-se de suportes técnicos científicos para estabelecer programas de manejo e conservação. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo caracterizar geneticamente a estrutura da população de *Lutjanus jocu* utilizando o marcador mitocondrial da região hipervariável D-loop (região controle) em determinados pontos do litoral brasileiro. Ao todo 65 amostras tiveram seu DNA extraído, amplificado e sequenciado, gerando uma fita consenso de 420 pb. O índice  $F_{st}$  de Wright apresentado foi baixo e positivo, variando entre 0.023 e 0.076 ( $p = 0.95$ ). As análises de variância molecular corroboram os valores encontrados pelo índice de  $F_{st}$ , o qual apresentou valor baixo, porém positivo ( $V = 1.387$ ). Tais valores indicam que houve uma leve diferenciação genética entre as populações, evidenciada pelas árvores filogenéticas. Os valores encontrados para os testes de neutralidade de Tajima (Tajima, 1989) e  $F_s$  (Fu, 1997) foram negativos para ambos os testes ( $D = -0,9059$  e  $F_s = -2.901$ ;  $P > 0,05$  respectivamente) sugerindo expansão populacional. Estudos genéticos utilizando-se marcadores nucleares são necessários para maior compreensão da espécie e identificação de matrizes doadoras de genes, como alternativa para preservação e manutenção de estoques de *L.jocu*.

Palavras-chave: Conservação, estruturação genética, Lutjanidae, peixes recifais, pesca.

## ABSTRACT

Fish present themselves the most diverse vertebrate and most known by genetic variation. The Perciformes order is characterized by being more diverse and more numerous, which stresses *Lutjanus jocu*, for being an important economic resource of industrial fishing, from small to medium sized in Brazil . Despite major advances in science, there is acute shortage of information on this species in question, particularly in the case of scientific data and technical support to establish management and conservation programs. In this context, this work aimed to characterize genetically the population structure of *Lutjanus jocu* using the mitochondrial marker D-loop hypervariable region (control region) at certain points along the Brazilian coast. Altogether, 65 samples had their DNA extracted, amplified and sequenced, generating a 420 bp consensus tape. The Fst index Wright presented was low and positive, ranging between 0.023 and 0.076 ( $p = 0.95$ ). The analysis of molecular variance corroborate the values found the Fst index, which showed low value, but positive ( $V = 1.387$ ). These values indicate there was a slight genetic differentiation between populations, evidenced by phylogenetic trees. The values found tests of neutrality of Tajima (Tajima 1989) and Fu (Fu, 1997) were negative for both tests ( $D = -0.9059$  and  $F_s = -2901$ ,  $P > 0.05$  respectively) suggesting expansion population. Genetic studies using nuclear markers are needed to better understand the species and to identify donor arrays of genes, as an alternative to the preservation and maintenance of *L.jocu* stocks.

Keywords: Conservation, genetic structure, Lutjanidae, reef fish, fishing.

## LISTA DE FIGURAS

<b>1. Figura</b>	Mapa da distribuição espacial de <i>Lutjanus jocu</i> .	12
<b>2. Figura</b>	Exemplar de <i>Lutjanus jocu</i> .	13
<b>3. Figura</b>	Histórico da produção pesqueira marinha no Brasil nos últimos 50 anos. Fonte: IBAMA (2009).	15
<b>4. Figura</b>	Representação esquemática do genoma mitocondrial dos vertebrados mostrando em destaque, a região controle (Dloop).	20
<b>5. Figura</b>	Elucidação dos pontos de coleta distribuídos ao longo da costa brasileira.	23
<b>6. Figura</b>	Detalhe da armadilha e da coleta realizada em campo, evidenciando a coleta da nadadeira do peixe. Foto: arquivo pessoal.	24
<b>7. Figura</b>	<i>Lutjanus jocu</i> juvenil amostrado no estuário de Barra Nova, município de São Mateus, ES. Foto: arquivo pessoal.	25
<b>8. Figura</b>	Rede de haplótipos totais compartilhados.	31
<b>9. Figura</b>	Árvore de clados filogenéticos com base em teste de máxima verossimilhança com número máximo de 100 repetições por amostra. A numeração dos nodos indicam suportes de bootstrap.	34
<b>10. Figura</b>	Hipótese filogenética encontrada neste estudo para populações de <i>Lutjanus jocu</i> . A filogenia da árvore está enraizada na espécie <i>L. argentiventris</i> .	35

## LISTA DE TABELAS

<b>1. Tabela</b>	Lista da distribuição dos haplótipos por localidade de <i>Lutjanus jocu</i> .	30
<b>2. Tabela</b>	Características moleculares e de diversidade genética entre sequências da região controle da espécie <i>Lutjanus jocu</i> por localidade.	31
<b>3. Tabela</b>	Valores dos testes de neutralidade para <i>Lutjanus jocu</i> e seus respectivos p. valores.	32
<b>4. Tabela</b>	Diferenciação genética entre as populações de <i>Lutjanus jocu</i> a partir da estimativa de FST e seus respectivos p valores.	32
<b>5. Tabela</b>	AMOVA para as amostras de <i>Lutjanus jocu</i> baseado nos índices de FST.	33
<b>6. Tabela</b>	Amostras coletadas analisadas por região e seus respectivos códigos.	33

## I. INTRODUÇÃO

O Brasil abriga a biota mais diversa entre os 17 países megadiversos do planeta (Lewinsohn e Prado 2002), devido ao fato de o Brasil possuir cerca de 8.500 km de área costeira, totalizando 3,5 milhões de km<sup>2</sup> de ZEE (Zona Econômica Exclusiva), o qual se estende desde o Cabo Orange (5° N) até o Chuí (34° S) e encontra-se, em sua maior parte, em regiões tropicais e subtropicais (CNIO, 1998). A Zona Econômica Exclusiva brasileira (ZEE) é uma importante área de endemismo marinho e uma área prioritária para conservação da biodiversidade (McKenna & Allen 2002), entretanto, a região permanece insatisfatoriamente conhecida em relação a sua diversidade biológica (Couto et al. 2003, Amaral & Jablonski 2005).

Os peixes constituem o grupo mais diverso dos Craniata (grupo que inclui Vertebrata, além dos peixes bruxa), compreendendo pelo menos 25.000 espécies atuais. Peixes não representam um grupo natural, sendo na realidade uma “escada” filogenética, constituída pelos peixes-bruxa (Hyperotreti ou Myxini), as lampréias (Hyperoartia ou Petromyzontoidea), os tubarões, quimeras e raias (Chondrichthyes), os peixes com nadadeiras raiadas (Actinopterygii), os celacantos (Actinistia) e os peixes pulmonados (Dipnoi), além de numerosos grupos extintos (Janvier, 1996). A ordem Perciformes se caracteriza por ser a mais diversificada entre todas as ordens de peixes e também por ser a com maior número de espécies entre os vertebrados (Nelson, 2006), na qual se destaca a família Lutjanidae, com inúmeras espécies consideradas como importantes recursos pesqueiros em toda sua área de ocorrência.

### I.I A família Lutjanidae

A família inclui 105 espécies agrupadas em quatro subfamílias (Paradichthyinae, Etelinae, Lutjaninae e Apsilinae) e 17 gêneros (Nelson, 2006).

Lutjaninae é a maior subfamília e inclui cerca de 70 espécies, agrupadas em seis gêneros: *Lutjanus*, com 64 espécies, *Macolor* e *Pinjalo*, com duas espécies cada, e três gêneros monotípicos, *Hoplopagrus*, *Ocyurus* e *Rhomboplites* (Nelson, 2006). Apesar do elevado número de espécies e sua distribuição em todo o mundo, a família tem sido pouco investigada e resultados contraditórios foram obtidos sobre as relações filogenéticas e do status taxonômico de alguns de seus gêneros e espécies. Por exemplo, a validade do gênero *Ocyurus* foi amplamente debatida (Anderson, 1967; Davis & Birdsong, 1973; Domeier & Clarke, 1992; Chow & Walsh, 1992; Loftus, 1992), o que levou alguns autores a propor a sinonimização de *Ocyurus* com o gênero *Lutjanus* (Loftus, 1992; Clarke *et al.*, 1997). São popularmente conhecidos como vermelhos, pargos, ciobas ou caranhas. Os Lutjanídeos são caracterizados por apresentarem crescimento lento ( $K < 1,5$ ) e longevidade média a alta (vinte a trinta anos) o que torna estas espécies altamente vulneráveis à sobrepesca (Magalhães *et al.*, 2003). Seus hábitos alimentares são basicamente carnívoros e se alimentam principalmente de peixes, crustáceos, moluscos e urocordatas pelágicos (Anderson, 2003).

Atualmente, os Lutjanídeos, são capturados desde águas costeiras até a plataforma externa, bancos e ilhas oceânicas do Nordeste, apresentando comportamento ontogenético de partição de habitat. Juvenis menores que sete centímetros podem ser encontrados em manguezais e estuários. Enquanto que em regiões costeiras rasas são encontrados indivíduos que variam de 10 a 30 cm e em recifes mais profundos, indivíduos maiores que 40 cm (Freitas *et al.*, 2011, Moura *et al.*, 2011). A maioria dos exemplares desta família possui vida longa, crescimento lento, e são extremamente importantes para as pescas artesanais, pois fornecem um recurso alimentar importante para os países em desenvolvimento (Russ & Alcala, 1989; Blaber *et al.*, 2005).

O gênero *Lutjanus* abriga 65 espécies (39 no Indopacífico, 9 no Pacífico oriental, 12 no Atlântico ocidental e 5 no Atlântico oriental), habitantes de fundos rochosos e coralíneos de regiões tropicais e subtropicais (Claro &

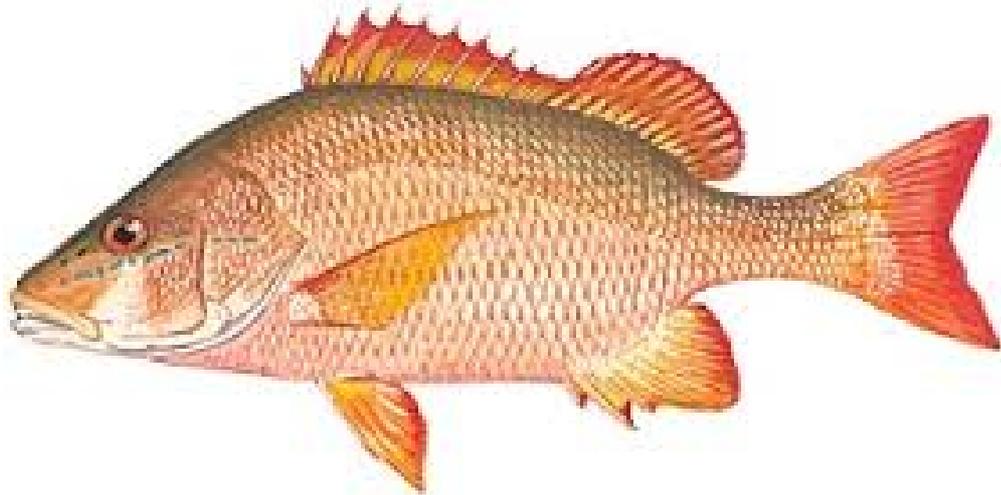
Lindeman, 2008). A exceção de *Lutjanus alexandrei*, a qual é endêmica da costa brasileira, todas possuem distribuição desde a região caribenha até regiões ao sul da costa brasileira (Moura & Lindeman, 2007), apesar de um único espécime de *L. jocu* ter sido relatado para o Mar Mediterrâneo em novembro de 2005 (Vacchi *et al*, 2005). A espécie em questão, *L. jocu*, conhecido popularmente como Dentão (no estado do Espírito Santo), é amplamente distribuído nas águas tropicais do Brasil e é um recurso importante na pesca artesanal, de pequeno a médio porte. Ocorre desde a costa de Massachusetts, EUA até a costa de São Paulo (Floeter *et al*, 2003), incluindo o Golfo do México e o Mar do Caribe (Cervignon, 1993). No Atlântico leste ocorre nas Ilhas de São Pedro e São Paulo (Lubbock, R. and A. Edwards, 1981) e de Fernando de Noronha (Figura 1).



**Figura 1.** Mapa da distribuição espacial de *Lutjanus jocu*. (Fishbase)

O Dentão caracteriza-se por possuir coloração vermelho-alaranjado (Figura 2); dentes caninos bastante evidentes, com um dos pares maior e visível mesmo com a boca fechada; mancha branca triangular no rosto abaixo dos olhos (ausente nos juvenis); uma linha lateral azul descontínua, do focinho até o opérculo (nos juvenis a linha frequentemente se apresenta de forma contínua e

mais aparente); às vezes apresenta barras verticais; nadadeira anal arredondada. Nadadeira dorsal com dez espinhos e treze ou quatorze raios moles; nadadeira anal com três espinhos e oito raios moles, com comprimento máximo de 85 cm e médio 42 cm de comprimento zoológico (Lessa & Nóbrega, 2000). Inexistem dados de classificação para esta espécie junto à lista vermelha da IUCN.



**Figura 2:** Exemplar de *Lutjanus jocu*. (Safmc.net)

## I.II A pesca no Brasil e a sua importância para os Lutjanídeos

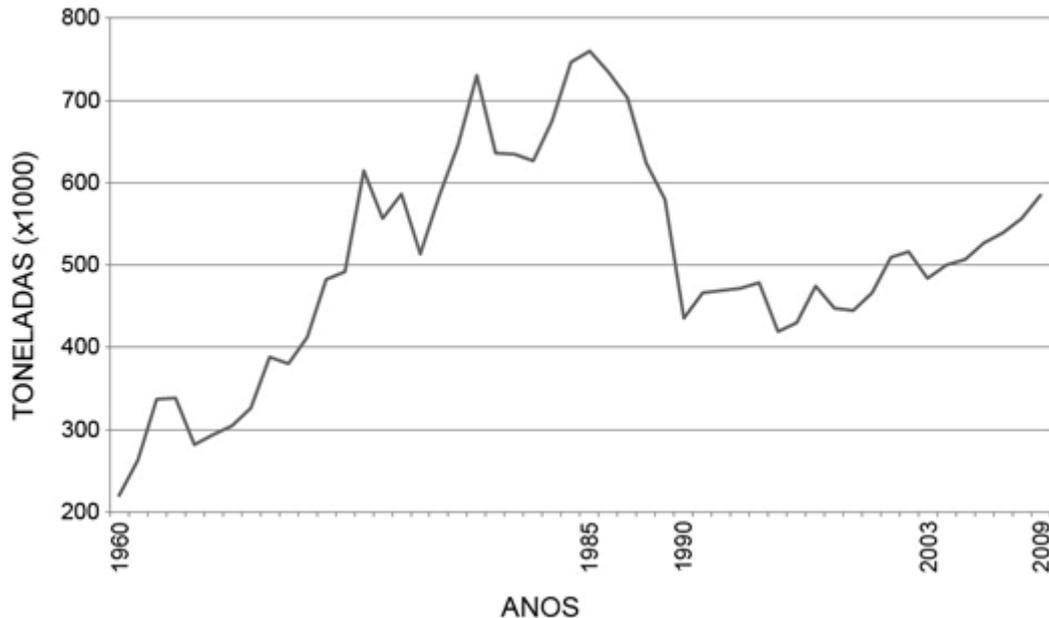
No Brasil, a atividade pesqueira é realizada principalmente por duas formas diferenciadas de produção: a produção industrial - representada pela frota pesqueira chamada “empresarial”, e a produção mercantil simples - representada pelas pescarias comumente denominadas “artesaniais” ou “de pequena escala” (Marrul-Filho, 2003; Vasconcellos *et al.*, 2004). Ambas as formas produtivas são quase que equivalentes quanto à produção, mas as pequenas pescarias ainda representam o maior percentual produzido pela atividade de pesca extrativa marinha. A *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) estima que o setor de pequena escala envolva um contingente de cerca de 2 milhões de trabalhadores no país, e, segundo o Boletim de Estatística da Pesca divulgado pelo IBAMA (2008), este foi

responsável por cerca de 52% das 527.871,5 toneladas de pescado produzida no ano de 2006 (Tabela 1) (FAO, 2004; IBAMA, 2008).

A pesca artesanal surgiu da falência na economia dos ciclos cafeeiro e açucareiro do Brasil Colônia e, também, devido à necessidade de exploração de outros meios que não fossem os recursos de flora e fauna litorâneas, como o palmito, a caxeta e os animais de caça (Diegues, 1973). Entre o período que vai do século XVIII ao início do século XX, verificou-se no Brasil a formação de várias comunidades marítimas e litorâneas cujos membros viviam, sobretudo ou parcialmente, da atividade pesqueira (Silva, 1997). Atualmente, estima-se que o país possua aproximadamente 600.000 pessoas que podem ser categorizadas como pescadores artesanais (Diegues, 2008), constituindo uma atividade principal para uma expressiva parcela da população litorânea (Cabral, 1997; Branco, 2006). No entanto, poucos incentivos governamentais são oferecidos, apesar do grande número de pessoas envolvidas na atividade de pesca e de esta atividade ser considerada importante na medida em que abastece os mercados de pescados. Além disso, não há nenhum equilíbrio na distribuição das atividades pesqueiras artesanais no país: mais de 40% da pescaria artesanal no país está concentrado na região Nordeste (Diegues, 2008).

Dados estatísticos brasileiros do IBGE e IBAMA no período de 1960 a 2009 (Figura 3) mostram uma tendência de crescimento de produção de pescado proveniente do mar até 1985, quando atingiu cerca de 760.400 toneladas. A partir de então, registrou-se um contínuo decréscimo, sendo que o total pescado foi de apenas 435.400 toneladas, uma queda de 57% na produção. Segundo Paez (1993) e Giulietti & Assumpção (1995), a redução na produção pesqueira marítima, por sua vez, se deve à sobrepesca de algumas espécies, à predação dos recursos naturais e à conseqüente diminuição dos estoques. Entre os anos de 1990 e 2002, apesar da pequena flutuação de índices, a produção pesqueira marinha mostrou-se estagnada. A partir do ano de 2003, as estatísticas

pesqueiras apontaram uma recuperação da produção pesqueira total, totalizando 585.000 toneladas no ano de 2009.



**Figura 3.** Histórico da produção pesqueira marinha no Brasil nos últimos 50 anos. Fonte: IBAMA (2009)

A produção de pescado nacional para o ano de 2011 foi de 1.431.974,4 t, registrando-se um incremento de aproximadamente 13,2% em relação a 2010. A pesca extrativa marinha continuou sendo a principal fonte de produção de pescado nacional, sendo responsável por 553.670,0 t (38,7% do total de pescado), seguida pela aquicultura continental (544.490,0 t; 38,0%), pesca extrativa continental (249.600,2 t; 17,4%) e aquicultura marinha (84.214,3 t; ~ 6%). Em 2011, a região Nordeste continuou registrando a maior produção de pescado do país, com 454.216,9 t, respondendo por 31,7% da produção nacional. As regiões Sul, Norte, Sudeste e Centro-Oeste registraram 336.451,5 t (23,5%), 326.128,3 t (22,8%), 226.233,2 t (15,8%) e 88.944,5 t (6,2%), respectivamente (ICMBIO, 2011).

A pesca de linha de fundo, a qual foi introduzida com o objetivo de diversificar a pesca da lagosta e atum, que se encontrava em declínio durante a

década de 1960, foi importante para o início da exploração industrial de espécies da família Lutjanidae por meio de linhas pargueiras. A carne dos peixes dessa família era considerada de excelente qualidade, atingindo elevado valor comercial, sendo, portanto, alvo de pescarias em várias regiões em todo o mundo (Nelson, 1994, Begossi *et al.*, 2011), além de também serem muito procurados pelos pescadores recreativos, particularmente na região do Caribe, incluindo o Golfo do México (Allen, 1985).

Em um estudo sobre o impacto da pesca nos ecossistemas marinhos no Brasil, Freire (2005) apontou que as pescarias dirigidas a atuns, lagostas, vermelhos, camarões e peixes demersais possuem alto valor como resultado de sua captura em massa ou a receita gerada por suas exportações, entretanto várias espécies do oceano nordeste brasileiro estão sendo sobre-explorados (sobrepesca). As espécies mais suscetíveis à sobrepesca são aquelas que apresentam alto valor comercial, maturam tardiamente, possuem limitações geográficas e/ou recrutamento esporádico (Sadovy, 2000; Dulvy *et al.*, 2004), assim como o *L. jocu*.

A sobrepesca provém da redução significativa do número de adultos e da captura progressiva dos indivíduos juvenis, o que compromete o recrutamento nos anos posteriores (Paes, 2002). Esta prática, aliada a fatores ambientais, podem influenciar a diversidade genética e o tamanho das populações ao longo dos oceanos, tais como duração do período larval pelágico e estratégia de reprodução das espécies, dinâmica das correntes oceânicas e eventos históricos (Shulman & Bermingham, 1995; Shulman, 1998; Barber *et al.*, 2000; Nelson *et al.*, 2000), tais como a série de períodos glaciais e interglaciais ocorridas durante o período Pleistoceno (Imbrie *et al.*, 1992). Além disso, a sobrepesca é uma das três ameaças mais importantes para um ambiente recifal, uma vez que provoca efeitos negativos dramáticos e duradouros sobre a assembléia de organismos vivos (Roberts, 1995; Jennings e Lock, 1996). No mundo todo, a pressão da pesca ao longo da última década causou uma severa redução na

abundância espécies de peixes recifais (Hawkins e Roberts, 2004), mudanças no seu tamanho características de composição e de história de vida (Roberts e Polunin, 1993), mudanças na estrutura trófica (Jennings *et al.*, 1995), e interrupção de processos ecológicos importantes (Bellwood *et al.*, 2004).

### I.III Biogeografia e genética populacional - Lutjanidae

O conceito de filogeografia foi introduzido por Avise *et al.* (1987) para designar o estudo da distribuição da variabilidade genética de uma espécie em uma escala espacial e temporal e têm por objetivo revelar a história evolutiva de uma linhagem, correlacionando-a com sua distribuição geográfica, através, principalmente, das diferenças entre sequências de DNA mitocondrial (mtDNA) (Avise, 2000). Análises de padrões filogeográficos permitem a verificação de estruturação genética e a interpretação das possíveis barreiras ao fluxo gênico dentro e entre as espécies (Eizirik *et al.*, 2001), gerando um aumento do conhecimento sobre os processos históricos biogeográficos.

A composição de espécies marinhas apresenta um alto grau de variação geográfica com diferenças notáveis entre e dentro de regiões e ao longo de gradientes latitudinais e longitudinais (Briggs, 1974; Bellwood & Hughes, 2001; Jones *et al.*, 2002; Mora *et al.*, 2003; Bellwood *et al.*, 2005; Mora & Robertson, 2005). Estas diferenças ocorrem principalmente devido aos processos que acontecem em escalas regionais e locais (Mora *et al.*, 2003; Floeter *et al.*, 2008).

Dentro dos processos regionais que podem ser reconhecidos como importantes na variação da diversidade de espécies estão os processos geográficos como a formação de barreiras (Mora *et al.*, 2003; Robertson & Cramer, 2009) e os eventos de radiação e diversificação evolutiva (Harrison & Cornell, 2008). Barreiras físicas marinhas podem isolar populações e fornecer pontos de partida para a especiação, como evidenciado por estudos

filogeográficos como o da formação do Isthmus do Panamá há mais de três milhões de anos atrás (Jordan, 1908).

Os recifes de coral estão sob ameaças antropogênicas, sob uma variedade de impactos incluindo sobrepesca, poluição e mudanças climáticas (Hutchings e Reynolds 2004; Jones *et al.*, 2007; Munday *et al.*, 2009), e o risco de extinção está se tornando cada vez maior (Powles *et al.*, 2000; Dulvy *et al.*, 2003; Reynolds *et al.*, 2005). Estudos demonstram que a biomassa de peixes recifais cai com o aumento da pressão de pesca, e que as diferenças encontradas em diferentes ambientes impactados por ameaças antropogênicas, como a sobrepesca, transformou a composição da assembléia de peixes a cobertura caralina (Hawkings and Roberts, 2003).

A maioria dos peixes recifais ameaçados de extinção, que se distribuem desde a região Nordeste, no Espírito Santo, até Arraial do Cabo utilizam bancos de gramíneas, estuários e manguezais como habitats adjacentes em toda a costa brasileira, enquanto, espécies recifais da região Sul e Sudeste do Brasil, utilizam fundos arenosos como habitats adjacentes para concluírem seus ciclos de vida (Vila Nova, 2010).

A extensa costa brasileira possui ambientes com características distintas, sendo que no sudeste-sul a formação dos recifes é rochosa, enquanto que no nordeste a formação de arenito possui uma diversidade na cobertura bentônica, incluindo corais e algas calcárias. Essa mudança na estrutura das comunidades recifais (Maida e Ferreira, 1997; Floeter *et al.*, 2001) é acompanhada pela diferença na temperatura mínima da água, que pode ser inferior a 18°C em certas épocas na porção sudeste-sul.

Na costa brasileira, a temperatura da água é estabelecida principalmente por duas correntes marinhas: a Corrente do Brasil, vindo do norte com águas quentes, e a Corrente das Malvinas, vindo do sul com águas geladas. Santos *et al.* (2006) demonstram que apesar da capacidade de dispersão durante o período pelágico, a temperatura das diferentes correntes marítimas age como principal

barreira entre a porção nordeste e sudeste-sul, e apesar de espécimes de Pescadinha (*Macrodon nancyodon*) serem morfologicamente indistinguíveis entre essas regiões, dados moleculares separam claramente em grupos distintos.

Nos últimos anos um considerável aumento da aplicação de marcadores moleculares de DNA tem sido observado na análise de problemas relativos à genética de populações e à sistemática. Diversas técnicas de biologia molecular desenvolvidas estão atualmente disponíveis para a detecção de variabilidade genética, viabilizando a obtenção de um número praticamente ilimitado de marcadores moleculares. Esses marcadores permitem a verificação tanto de relações filogenéticas entre espécies, quanto de segregação reprodutiva entre populações reprodutivamente isoladas, mesmo quando pertencentes ao mesmo estoque de exploração pesqueira em zona de alimentação comum (Foresti *et al.*, 2005).

Estudos genéticos em populações de peixes têm sido realizados utilizando-se marcadores bioquímicos e moleculares, tais como aloenzimas, isoenzimas, RAPD (“Randomly Amplified Polymorphic DNA” - polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), SPAR (“Single Primer Amplification Reaction” – reação de amplificação com primer único), RFLP (“Restriction Fragment Length Polymorphism” - polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição), AFLP (“Amplified Fragment Length Polymorphism” - polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados), VNTR (“Variable Number Of Tandem Repeats” - número variável de repetições em tandem – minissatélites) e STR (“Short Tandem Repeats – repetições curtas em tandem”) (Marques, 2002).

Estruturas populacionais de *Lutjanus synagris*, por exemplo, foram avaliadas em águas dos EUA por Gold *et al.*(2011) utilizando marcadores microssatélites e mitocondriais (mtDNA) de amostras de quatro localidades do Caribe e de uma localidade na Flórida. Diferenças alélicas e genotípicas significativas foram encontradas, além de significativa heterogeneidade na distribuição de haplótipos (mtDNA). As análises de comparações par-a-par



Venceslau *et al.* (2008) analisou geneticamente diferentes populações de um outro exemplar da família Lutjanidae, o *Ocyurus chrysurus* (popularmente conhecido como Guaiúba) ao longo da costa oeste do Atlântico e as comparou com populações brasileiras afim de testar a hipótese nula de homogeneidade nas áreas. As análises de sequências de DNA mitocondrial (663 pb da região controle) não apresentaram diferenças entre populações brasileiras, mas detectou-se diferenças significativas entre populações brasileiras e as do Caribe (Belize). Assim, populações brasileiras de Guaiúba devem ser tratadas como um único estoque genético (panmixia) o que provavelmente resulta da plasticidade fenotípica da espécie. Por outro lado, há forte restrição ao fluxo gênico entre as populações de *O. chrysurus* do Caribe e do Atlântico Sul Ocidental.

No tocante às pesquisas de estruturação genética entre espécies de diferentes áreas amostrais, duas espécies de peixes recifais, *Acanthurus chirurgus* e *Cephalopholis fulva* tiveram suas populações analisadas por meio de eletroforese de isoenzimas, entre o Atol das Rocas e Costa do Ceará. *A. chirurgus*, mais conhecido como Cirurgião apresenta estoques pesqueiros diferenciados entre as duas populações, enquanto que o mesmo não foi encontrado para as populações de *C. fulva* que apresentam fluxo gênico irrestrito.

Apesar da existência de alguns trabalhos, como teses e dissertações, além de artigos científicos para variadas espécies de peixes marinhos, *L. jocu* apresenta escassa informação relativa à sua caracterização genética na costa brasileira. Além disso, ainda existe acentuada escassez de informações sobre os ecossistemas marinhos, principalmente quando comparados aos terrestres (Castellanos & Galindo, 2011). Frente à imensa diversidade de peixes presentes nos ecossistemas marinhos brasileiros, a quantidade de informações disponíveis sobre a estruturação genética de populações está aquém da necessária para servir de base para o estabelecimento de políticas de proteção a esses recursos genéticos. Faz-se necessária uma união de esforços no sentido de gerar

informações genéticas confiáveis que sirvam de base para futuros monitoramentos genéticos das populações (Hiltsdorf *et al*, 2006)

## II. OBJETIVOS

Caracterizar geneticamente a estrutura da população de *Lutjanus jocu* utilizando o marcador mitocondrial da região hipervariável D-loop (região controle) em determinados pontos do litoral brasileiro, visando identificar a conectividade e ocorrência de fluxo gênico entre as populações, ocorrências de barreiras geográficas e áreas prioritárias para conservação da espécie.

### II.I. Objetivos específicos

1. Estimar índices de diversidade genética intra e inter-populacional;
2. Avaliar índices de similaridade intra e inter-populacional;
3. Verificar a ocorrência de estruturação populacional associada a áreas/barreiras geográficas;
4. Discutir possíveis ações de manejo e conservação para a espécie.

## III. MATERIAIS E MÉTODOS

### III.I Área de estudo

As coletas foram realizadas em quatro diferentes estados brasileiros: Espírito Santo, Bahia, Paraíba e Pernambuco, conforme mostra a figura 5. Em cada um deles, a coleta foi realizada em diferentes pontos conforme o número de desembarque e a acessibilidade ao ponto de coleta. No ES foram realizadas coletas em: Guarapari (-20.663776,-40.490248), Aracruz (-19.951866,-40.150117), Barra nova (-18.951619,-39.746121), Guriri (-18.735586,-

39.722720), ambos bairros do município de São Mateus; e Conceição da Barra (-18.610088, -39.737732). Na Bahia as coletas foram realizadas em Caravelas (-17.737149, -39.268282), Nova Viçosa (-17.995663, -39.253745) e Porto Seguro (-16.493086,-38.846207). Na Paraíba, amostras foram coletadas em Cabedelo (-6.960149,-34.800590) e João Pessoa (-7.112023, -34.800716). Em Pernambuco foram coletas amostras na Ilha de Itamaracá (-7.697073, -34.817868). Os pontos amostrais podem ser evidenciados na figura abaixo.



**Figura 5.** Elucidação dos pontos de coleta distribuídos ao longo da costa brasileira, com destaque para Espírito Santo, Bahia, Pernambuco e Paraíba.

### III.II Coleta de material biológico

#### 1. *In situ*

Para o presente estudo, foram coletadas pequenas partes da nadadeira caudal e/ou lateral do peixe. Utilizou-se tesoura, pinça, álcool comum para esterilização, eppendorf de 1,5µl e álcool absoluto para acondicionamento. As

coletas *in situ* foram realizadas em parceria com o Programa Meros do Espírito Santo, utilizando-se da estrutura e logística já organizada para este projeto. Foram realizadas diversas saídas a campo com o objetivo de coletar espécimes juvenis de Dentão, capturados como fauna acompanhante de espécimes de *Ephinephelus itajara*, conhecido popularmente como Mero.

Para a captura destes exemplares, foram utilizadas armadilhas de espera, denominadas "covos" (Figura 6). Os "covos" eram construídos e alocados entre as raízes dos mangues, sendo monitorados posteriormente por pescadores que auxiliavam no programa. As armadilhas eram monitoradas diariamente até que os pescadores notassem algum peixe preso à elas. A armadilha era retirada da água e um pedaço da nadadeira do peixe era cortado, servindo assim de amostra biológica para o presente estudo.

Após a coleta da amostra, os espécimes (Figura 7) foram devolvidos ao estuário de forma a não alterar a estrutura populacional do peixe e evitar o óbito. Os animais coletados eram acondicionados em *ependorfs* numerados, contendo álcool absoluto e armazenados em geladeira ou *freezer* comum.



Figura 6. Detalhe da armadilha e da coleta realizada em campo, evidenciando a coleta da nadadeira do peixe. Foto: arquivo pessoal.



Figura 7. *Lutjanus jocu* juvenil amostrado no estuário de Barra Nova, município de São Mateus, ES. Foto: arquivo pessoal.

## 2. Peixarias

Nas coletas em peixarias, o peixe foi identificado por meio de caracteres morfológicos principais para tal espécie, especialmente pela mancha branca abaixo da abertura ocular do peixe, mais conhecida como “lágrima”, e pelos caninos frontais bem evidentes. Após a identificação do peixe, perguntas foram feitas aos donos das peixarias como forma de investigar a origem exata do peixe. Os dentões que tinham sua origem conhecida foram coletados e acondicionados em eppendorfs contendo álcool absoluto e numerados. Após a coleta, as amostras foram levadas ao Laboratório de Genética e Conservação Animal e foram armazenados em freezer.

## 3. Pescadores

Alguns pescadores de vilarejos foram selecionados após pesquisa entre os moradores para colaborar com o trabalho. Como são poucos os pescadores que possuem equipamentos para pescas demersais, um pescador de cada uma das

localidades amostradas no Espírito Santo foi selecionado (Guarapari, Barra Nova e Conceição da Barra). Um guia de identificação foi entregue a cada um dos pescadores que colaboraram com a pesquisa como forma de evitar erros na identificação do peixe coletado. *Eppendorfs* contendo álcool foram distribuídos para que a coleta acontecesse durante a pesca e as amostras então pudessem ser acondicionadas corretamente. Essas amostras também foram armazenadas em freezer no Laboratório de Genética e Conservação Animal nas dependências do CEUNES - UFES.

### III.III Extração de DNA

Para a extração de DNA do pedaço da amostra de nadadeira caudal foi utilizado o protocolo desenvolvido por *David Vieites – U.C. Berkeley*. Após esterilização do local com álcool, o tecido foi cortado em cima de um *Parafilm* apoiado em uma placa de petri, com auxílio de uma pinça e um bisturi e colocado em um tubo de 1,5µL. A solução de lise foi adicionada aos tubos (410 µL de buffer de extração + 80µL SDS 10% + 15µL proteinase K (20µ/µL)). As amostras foram incubadas à 55°C por aproximadamente 2 horas vortexando a cada meia hora até a digestão total do tecido. Centrifugou-se as amostras a 13.000 rpm por 5 minutos, transferindo o sobrenadante (líquido) para um novo tubo de 1,5µL e adicionando 180µL NaCl (5M).

Após inverter o tubo 50 vezes para homogeneizar, realizou-se uma nova centrifugação a 13.000 rpm por 5 minutos. Transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo (mantendo em um bloco resfriado) e adicionando 1.000µL de isopropanol gelado, misturando gentilmente. Centrifugou-se à 13.000 rpm por 7 minutos, descartando o sobrenadante e, logo em seguida, adicionando 250µL etanol 80%. Após inverter 50 vezes para misturar, repetiu-se este último procedimento. Em seguida, as amostras foram centrifugadas à 13.000rpm por 7 minutos, realizando o descarte do sobrenadante por completo. O álcool foi

removido completamente no banho à 50-55°C. A ressuspensão do DNA foi feita adicionando 50µL de tampão.

### III.IV Amplificação e Sequenciamento da região controle - Dloop do mtDNA

Para a realização de ambas as amplificações de DNA foram utilizados dois tipos de termociclador diferentes, ambos com o mesmo programa: PTC-100 da MJ Reaserch INC e 96 Well thermal cycler da Aplied Byosistemas. Os primers utilizados para a reação (listados abaixo) foram descritos por Ostellari *et al.* (1996) e sintetizados pela Invitrogen, aliquotados para 10ng/µl.:

- L-Pro-1 (5'ACTCTCACCCCTAGCTCCCAAAG-3') e
- H-DLC1 (5'CCTGAAGTAGGAACCAGATGCCAG-3').

As reações de PCR (Polimerase Chain Reaction) foram feitas utilizando 12.4µl H<sub>2</sub>O Miliq, 3.5µl de Buffer 10x, 1µl de MgCl<sub>2</sub>, 0.5µl de Dntp, 0.3µl de Primer, 1.0ŪI de Taq Polimerase, além de 1µl de DNA por amostra. O programa utilizado para a amplificação da região controle foi: desnaturação térmica de 94°C durante 3 minutos; anelamento à 94°C durante 1 minuto; 50°C por 1 minuto, seguido por 72°C durante 1 minuto, repetindo-se 35 vezes. A extensão durou 5 minutos à 72°C. Para a visualização das amostras após amplificação, um gel de agarose foi preparado à 1.5% conforme orientação do fabricante. Após secagem do gel, as amostras foram pipetadas no gel contendo 3µl de amostra para 1.5µl de corante Blue Juice (aliquotado conforme orientação do fabricante) e foram submetidas à corrente elétrica de 160 watts, 90 voltagem e 60 mili amperagem durante 45 minutos. As amostras foram então colocadas em um transiluminador EagleEye II sob luz ultravioleta para visualização das bandas amplificadas da região controle, em torno de 615pb, quando utilizado um ladder de 100kb (Invitrogen) para comparação.

### III.V Análise e processamento dos dados

Ao todo, 125 amostras tiveram seu DNA extraído, foram submetidas à reação de amplificação e de sequenciamento. Com o objetivo de analisar e editar as sequências, os programas GENEIOUS PRO 3.0.5 (Biomatters Ltd.) e foram utilizados primeiramente. Na medida em que as amostras tiveram suas sequências analisadas e confirmadas mediante a visualização do eletroferograma, o alinhamento das sequências foi feito utilizando o programa Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) online. Das 125 amostras, foram selecionadas 65 amostras que possuíam uma melhor leitura das sequências para serem analisadas de forma mais fidedigna possível. O programa BIOEDIT (Hall, 1999) foi utilizado para formação de sub-grupos e padronização das sequências.

No intuito de promover a divisão das amostras em sub-grupos, o programa DnaSP (Rozas and Rozas, 1999) foi utilizado. Este programa também promoveu a evidenciação do número total de haplótipos encontrados e compartilhados entre os sub-grupos. A expansão populacional também foi investigada através da distribuição mismatch com base nas frequências das diferenças par-a-par dos haplótipos (Rogers & Harpending, 1992). O programa estatístico ARLEQUIN 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) foi utilizado para se calcular os índices de diversidade genética haplotípica e nucleotídica ( $h$  e  $\pi$ ; Nei, 1987) e a diferenciação genética entre as populações a partir da estimativa de  $F_{ST}$  (Wright, 1978), sendo que os testes de significância dos resultados foram baseados em 10.000 permutações.

Valores encontrados de  $F_{ST}$  entre 0 e 0.05 indicam pouca diferenciação genética, entre 0.05 e 0.15 indicam diferenciação moderada, entre 0.15 e 0.25, alta diferenciação, enquanto que valores acima de 0.25 representam diferenciação genética muito alta (Wright, 1978). O teste estatístico de análise de variância molecular AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) foram implementadas através do mesmo programa para verificar possíveis estruturas entre as

diferentes regiões geográficas analisadas, utilizando para isto o método de Kimura2P (Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984) de distância gênica.

Foram determinadas também as análises de expansões demográficas históricas através dos testes de neutralidade Fu's  $F_s$  (Fu, 1997) e Tajima's D (Tajima, 1989), tendo como base 10.000 permutações. As distâncias entre os haplótipos foram investigados usando o programa de análise *median-joining* (MJ) (Bandelt *et al.*, 1995) implementado no programa NETWORK v4.2.0.1 (Fluxus Technology Ltd, Suffolk, Inglaterra, 2004-2006). A fim de evidenciar possíveis agrupamentos genéticos entre os indivíduos amostrados, utilizou-se o programa MEGA4 (Tamura *et al.*, 2007) para verificar a porcentagem de divergência genética entre as sequências e para a confecção de dois cladogramas de similaridade genética utilizando o método máxima verossimilhança (maximum-likelihood estimation-MLE). A confiabilidade dos ramos foi testada pela análise de *bootstrap* utilizando 100 replicações. Para o enraizamento do primeiro cladograma, utilizou-se uma sequência de mtDNA de *Lutjanus argentiventris* a qual encontra-se depositada no GENBANK sob o código de acesso: KF021474.1

#### IV. RESULTADOS

As amostras dos estados da Paraíba e Pernambuco foram agrupadas para melhor análise, pois se tratam de estados pequenos e muito próximos geograficamente. Agrupando os dados desta forma, minimiza-se o risco de erros amostrais por localidade por conta da ampla dispersão larval dos peixes marinhos. Dentre as amostras analisadas (Tabela 1), a região amostral do Espírito Santo contou com um N amostral de 31 indivíduos, a Bahia com 24 e a Paraíba e Pernambuco totalizaram 10 exemplares. As análises nos programas BioEdit e Geneious geraram uma fita consenso de 410 pb para estudo das populações. Foram encontrados 45 haplótipos no total (Tabela 1), dentre os

quais dois haplótipos (H14 e H34) foram compartilhados por indivíduos do ES e da Bahia.

Tabela 1. Distribuição dos haplótipos por localidade de *Lutjanus jocu*

LOCALIDADES	BA	PE E PB	ES	LOCALIDADES	BA	PE E PB	ES
HAPLÓTIPOS	24	10	31	HAPLÓTIPOS	24	10	31
Hap_1	0	1	0	Hap_24	0	1	0
Hap_2	0	0	1	Hap_25	0	1	0
Hap_3	0	0	1	Hap_26	0	2	0
Hap_4	0	0	1	Hap_27	0	0	1
Hap_5	2	0	0	Hap_28	1	0	0
Hap_6	0	0	1	Hap_29	1	0	0
Hap_7	0	0	1	Hap_30	0	0	1
Hap_8	0	0	1	Hap_31	0	0	1
Hap_9	0	1	0	Hap_32	1	0	0
Hap_10	1	0	0	Hap_33	0	0	1
Hap_11	1	0	0	Hap_34	1	0	1
Hap_12	2	0	0	Hap_35	0	0	1
Hap_13	3	0	0	Hap_36	0	0	1
Hap_14	2	0	2	Hap_37	0	0	1
Hap_15	1	0	0	Hap_38	1	0	0
Hap_16	0	0	1	Hap_39	0	0	1
Hap_17	1	0	0	Hap_40	0	0	1
Hap_18	0	0	1	Hap_41	2	0	0
Hap_19	0	0	1	Hap_42	1	0	0
Hap_20	0	1	0	Hap_43	1	0	0
Hap_21	0	1	0	Hap_44	1	0	0
Hap_22	0	1	0	Hap_45	1	0	0
Hap_23	0	1	0				

As amostras da Bahia apresentaram uma combinação de bases ATCG na respectiva proporção: C: 16.88% T: 33.03% A: 38.03% G: 12.07%, enquanto que as amostras provenientes da Paraíba e de Pernambuco apresentaram a proporção de C: 17.64% T: 32.21% A: 38.43% G: 11.71%. Já o Espírito Santo apresentou composição nucleotídica na seguinte proporção: C: 17.08% T: 32.87% A: 38.07% G: 11.97%. A variabilidade genética em nível de diversidade haplotípica ( $h$ ) e nucleotídica ( $\pi$ ) apresentada foi alta, variando entre 0,87957 a 0,97778 e 0,02391 a 0,02968 respectivamente (Tabela 2), corroborando com o pequeno número de haplótipos compartilhados encontrados neste estudo.

Tabela 2. Características moleculares e de diversidade genética entre sequências da região controle da espécie *Lutjanus jocu* por localidade.

Localidades	N	H	Lp	ts	tv	h	$\pi$
ES	31	20	53	54	1	0,87	0,023
BA	24	18	37	36	3	0,97	0,025
PE e PB	10	9	36	28	8	0,97	0,029
TOTAL	65	45	126	118	12	0,96	0,026

N – número de indivíduos, H – número de haplótipos, Lp – número de loci polimórficos, ts – número de transições, tv – número de transversões, h – diversidade haplotípica e  $\pi$  – diversidade nucleotídica.

O programa Network forneceu uma árvore (Figura 8) que evidencia a distribuição espacial dos 45 haplótipos encontrados nas populações de Dentão ao longo das regiões amostrais. Na figura abaixo, nota-se o compartilhamento de dois haplótipos entre as populações da Bahia e do Espírito Santo, além dos passos mutagênicos ocorridos entre amostras, evidenciado pelas distâncias entre nodos (pontos).

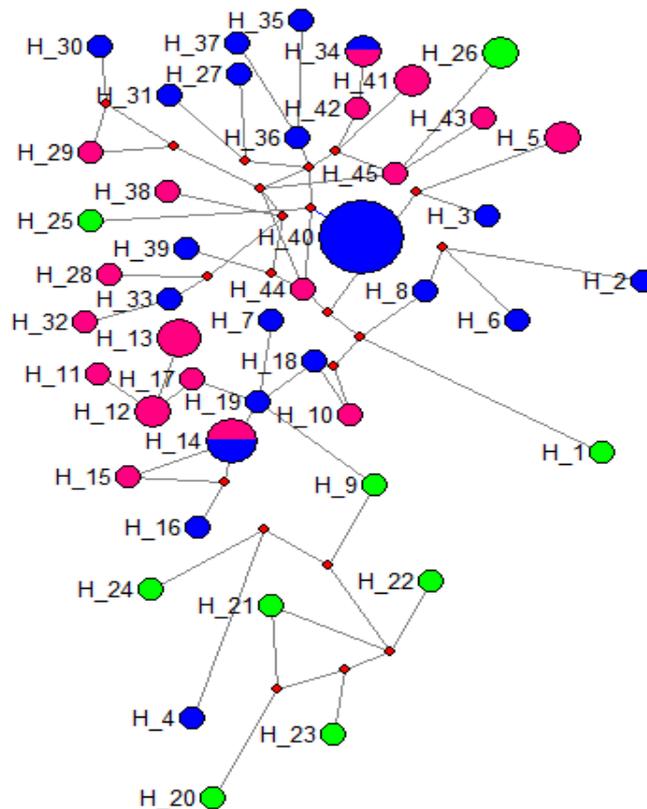


Figura 8. Rede de haplótipos totais, evidenciando os haplótipos compartilhados entre indivíduos da região amostral Espírito Santo e Bahia. Azul = Espírito Santo, Rosa = Bahia e Verde = PE e PB.

Os testes de  $F$  (Fu, 1997) e de Tajima (1989) apresentaram valores negativos em sua maior parte, indicando expansão populacional, exceto para a população da Bahia, a qual apresentou valor positivo de  $D = 0.26176$ . No entanto, como mostra a tabela abaixo (Tabela 3) os valores encontrados de  $p$  não foram significativos ( $p = 0.446$  em média) para todas as localidades.

Tabela 3. Valores dos testes de neutralidade para *Lutjanus jocu* e seus respectivos  $p$  valores.

Localidade	Tajima's		F Fu	
	D		Fs	
ES	-1,007	$p = 0,200$	-3,647	$p = 0.099$
BA	-0.2617	$p = 0.647$	-3.932	$p = 0.068$
PB e PE	-0.0983	$p = 0.491$	-1,126	$p = 0.225$
Total	-0,9059	$p = 0.446$	-2.901	$p = 0.130$

Tajima's D = Estatística de Tajima (Tajima, 1989) e FS Fu = Estatística de Fu (Fu, 1997). Nível de significância  $P < 0,05$

O índice de Wright (1978) encontrado foi de 0.20246 ( $p = 0.95$ ) mostrando-se não significativo para todas as populações, ou seja, há presença de fluxo gênico entre as regiões amostradas e os valores relativos à diferenciação gênica das amostras por localidade podem ser visualizados abaixo:

Tabela 4. Diferenciação genética entre as populações de *Lutjanus jocu* a partir da estimativa de  $F_{st}$  e seus respectivos  $p$  valores.

Localidade	PE e PB	BA	ES
PE e PB	-----	$p = 0.018 \pm 0.012$	$p = 0.000 \pm 0.000$
BA	0.02390	-----	$p = 0.000 \pm 0.000$
ES	0.07650	0.06748	-----

Nível de significância ( $p < 0,05$ ).

A ausência de estruturação populacional sugerida pelo  $F_{ST}$  não foi claramente validada através da análise de variância molecular (AMOVA). As amostras das diferentes localidades foram consideradas uma única população, como predito pelos índices de  $F_{ST}$  encontrados. Entretanto a AMOVA indicou

leve presença de variância entre as populações por conta do valor positivo de  $V = 1.387$  (Tabela 5)

Tabela 5. AMOVA para as amostras de *Lutjanus jocu* baseado nos índices de FST.

Fonte de variação	GL	SD	Variância	Varição %
Intrapopulacional	2	66.153	1.387	20.25 %
Interpopulacional	62	338.768	5.463	79.75 %
Total	64	404.921	6.851	100 %

Fst = 0.20246 (p=0.95), GL = grau de liberdade, SD = soma dos quadrados.

A tabela abaixo evidencia os códigos utilizados para as amostras coletadas e suas respectivas regiões (Tabela 6). Logo em seguida, são apresentados dois cladogramas, os quais evidenciam as relações filogenéticas entre todo o N amostral (Figura 9 e 10); e entre a população toda e um grupo controle (outgroup) - *Lutjanus argentiventris*.

Tabela 6: Amostras coletadas analisadas por região e seus respectivos códigos

CÓDIGO	236	237	239	240	241	244	245	246	291	294	B10
ESTADO	PB	PB	PB	PB	PB	PB	PB	PB	PE	PE	ES
CÓDIGO	B5	B6	B7	B8	B9	B12	B13	B14	B15	B16	B18
ESTADO	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES
CÓDIGO	B19	B20	B21	B22	B24	B25	C2	C5	C6	C10	C12
ESTADO	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES
CÓDIGO	C15	C16	C17	C19	C20	C21	C22	AB1	AB2	F14	F9
ESTADO	ES	ES	ES	ES	ES	ES	ES	BA	BA	BA	BA
CÓDIGO	G52	V1	V10	V11	V12	V13	V2	V3	V4	V5	V6
ESTADO	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA
CÓDIGO	V7	V8	V9	VV35	VV36	VV39	VV40	VV41			
ESTADO	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA	BA			



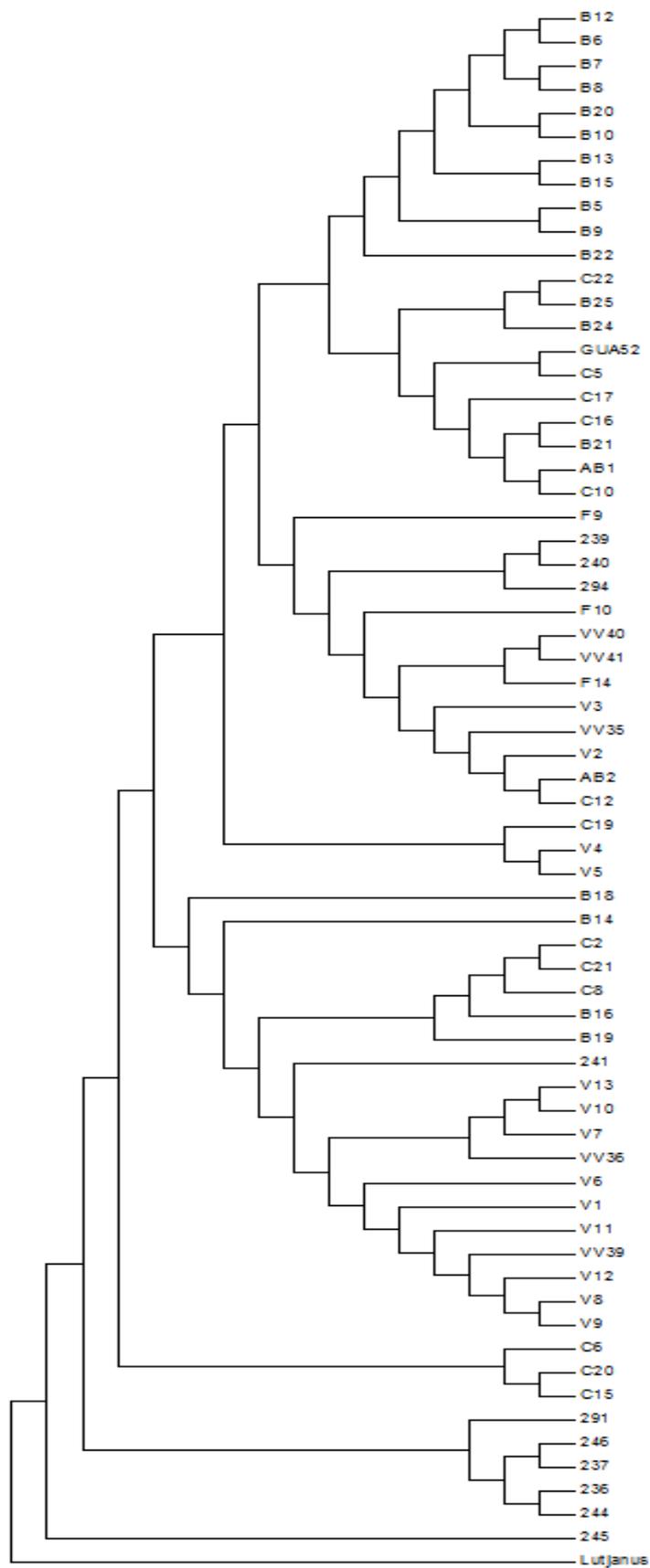


Figura 10. Hipótese filogenética encontrada neste estudo para populações de *Lutjanus jocu*. A filogenia da árvore está enraizada na espécie *Lutjanus argenteventris*.

## V. DISCUSSÃO

De acordo com dados encontrados neste trabalho sobre a diversidade haplotípica e nucleotídica, *Lutjanus jocu* apresentou valores altos assim como o trabalho de Dias Junior, realizado em 2012 para mesma espécie e para localidades semelhantes. Este fenômeno pode ser observado para outras espécies do mesmo gênero como *L. argentimaculatus* (Ovenden & Street, 2003); *L. campechanus* (Garber *et al.*, 2004); *L. malabaricus* (Blader *et al.*, 2005); *L. erythropterus* (Zhang *et al.*, 2006); *L. purpureus* (Gomes *et al.*, 2008), e *L. analis* (Dias Junior, 2012). Gold *et al.* (2012), no entanto, encontrou valores de diversidade haplotípica e nucleotídica para *Lutjanus synagris* considerados baixos para a região do mar do Caribe americano ( $h = 0.65$  e  $\pi = 0.0033$ ) quando comparados com este e outros estudos da mesma família citados anteriormente. O valor baixo desses índices sugere que as quedas no tamanho efetivo de ambas as populações são recentes, apontando para programas urgentes de gestão pesqueira. Altos valores de diversidade haplotípica e nucleotídica foram encontrados para espécimes de *Cephalopholis fulva* - Serranidae (Silva, 2011). Esta condição parece ser compartilhada pela maioria das espécies de peixes recifais de distribuição panmítica. A alta diversidade haplotípica, quando é seguida de alto valor de diversidade nucleotídica, pode ser atribuída à grandes e estáveis populações com longa história evolutiva (Grant e Bowen 1998), assim como exemplares da família Lutjanidae.

O índice FST de Wright apresentado foi relativamente baixo, variando entre 0.023 e 0.076; ( $p=0.95$ ), o que indica pouca diferenciação genética entre as regiões amostrais. As análises de variância molecular corroboram os valores encontrados pelo índice de FST, o qual apresentou valor baixo, porém positivo ( $V= 1.387$ ), ou seja, pode-se supor que as amostras da Paraíba e Pernambuco, diferiram geneticamente das amostrada Bahia e do Espírito Santo. Estes resultados apontam para duas hipóteses: (a) existe uma leve diferenciação

genética entre a região da Bahia/Espírito Santo e Paraíba/Pernambuco, sugerindo a ação de alguma barreira geográfica, como o caso da plataforma continental de Abrolhos; (b) o número de espécimes analisados, ou seja, o N amostral para o grupo PB/PE foi pequeno ( $N = 10$ ) quando comparado aos demais, tratando por assim, subestimar os valores encontrados para a região. Esta segunda hipótese é mais aceita quando comparamos os valores de FST (diferenciação genética) com os valores encontrados para os testes de neutralidade de Tajima (Tajima, 1989) e Fu (Fu, 1997) para verificar se há desvio do equilíbrio neutro entre as populações. Os valores negativos para ambos os testes sugerem expansão populacional ou efeito carona (*hitchhiking*), ocasionado provavelmente pela existência e ação da Corrente do Brasil no sentido sul (Lumpkin & Garzoli, 2005) abrangendo vasta área de distribuição desta espécie, facilitando assim o fluxo gênico entre as populações destas regiões. Este comportamento encontrado, típicos de *L.jocu* para o Atlântico Ocidental, também foi observado por Blaber *et al.* (2005) para o Oceano Índico. O estudo verificou, através de análises estatísticas e dados biológicos que populações de Lutajnídeos são compartilhadas pela Austrália e Indonésia, servindo a primeira, como principal estoque doador. Apesar da relativa distância entre esses dois países, o estudo foi importante como forma de promover projeto e políticas de conservação integradas para ambos os países.

De acordo com os dados resultantes sobre as árvores filogenéticas construídas a partir de testes de máxima verossimilhança, ambas corroboram a ausência de qualquer estruturação populacional para a espécie e presença de fluxo gênico entre elas. Em contrapartida, pode ser observada nitidamente na figura 9, que os sub-grupos BA/ES (os quais representados por códigos alfabéticos) aparecem em diferentes clados, evidenciando uma mistura gênica, enquanto que o sub-grupo PB/PE aparece, em sua grande parte, em um clado separado (com exceção de três exemplares) e irmão de amostras provenientes de Conceição da Barra. O fato mais interessante é que tais espécimes, apesar da

distância gênica indicada pela separação evidente do clado, se apresentam mais próximo à espécie *Lutjanus argentiventris* do que as outras amostras. Esta espécie não possui ocorrência no Brasil, mas habita água do oceano Pacífico leste, desde o sul da Califórnia até o Peru. Ilha de Cocos e Ilhas Galápagos. Esta evidência sugere que apesar de serem espécies e populações claramente diferentes, possuem uma maior similaridade do que entre outras populações aqui estudadas. A análise filogenética com suporte *bootstrap* (Figura 8), a qual não possui enraizamento filogenético, mostra que os valores de suporte de separação dos clados maiores são baixos, sugerindo mais uma vez a baixa estruturação genética encontrada para tais populações, tornando assim, difícil a segmentação pelo programa em clados separados.

Apesar de os grupos amostrais BA/ES terem apresentado valores fortemente negativos nos testes de neutralidade, o grupo amostral PB/PE apresentou valores fraco-negativos, ou seja, valores não tão expressivos de expansão populacional como pode ser evidenciado pela rede de haplótipos construída com base em distâncias gênicas e passos mutacionais. Pode-se observar que, quando analisados os valores de  $F_{st}$ , os índices de neutralidade em conjunto com a rede de haplótipos, verifica que há a presença de fluxo gênico entre os grupos amostrais ao passo que inexistem haplótipos compartilhados com outros subgrupos. Gold *et al.* (2010) evidenciou em seu trabalho divergências claras entre populações de *L. synagris* para diferentes estoques de peixe provenientes do Caribe e da Flórida, enquanto que Hawkings and Roberts (2003) avaliou os impactos gerados pela pesca artesanal na região Caribenha sobre diferentes populações de peixes recifais. Não surpreende o fato do resultado de seu trabalho apontar que as ilhas caribenhas que sofreram maior pressão da pesca artesanal mostraram divergências na assembléia de peixes e na composição coralina quando comparadas com outras menos impactadas. Quando somamos estes resultados, a baixos valores de diversidade genética encontrados por Gold *et al.* (2010) para a região, conclui-se que locais que

sofrem maior pressão de pesca, seja ela artesanal ou industrial, estão mais susceptíveis à efeitos de pressão seletiva sobre as espécies. No Brasil, a diversidade de organismos associada a ambientes recifais encontra-se ameaçada pela degradação de habitats através da poluição, assoreamento, industrialização e agricultura (Leão and Dominguez, 2000), pesca incidental e principalmente sobrepesca (Floeter *et al.*, 2006).

Até o presente estudo, foi encontrado apenas um trabalho recente (tese de doutorado; dados não publicados até o presente estudo) para *L.jocu* no Atlântico Ocidental no âmbito da caracterização genética por meio de marcador mitocondrial (Dias Junior, 2011). Com isso, sugere-se a elaboração de outros projetos de pesquisa que visem à caracterização desta espécie a nível nuclear, assim como trabalhos com marcadores microssatélites. Além de promoverem um conhecimento mais íntimo e uma melhor caracterização genética desses exemplares, os estudos nucleares promovem a identificação e seleção de estoques genéticos e melhores matrizes para reprodução, o que pode ser usado em técnicas de cultivo.

Sendo a variabilidade genética o atributo mais importante em uma população e constitui o material sobre o qual a seleção natural age, supõe-se que uma população com variabilidade elevada terá maior possibilidade de enfrentar com sucesso as mudanças ambientais, melhor potencial reprodutivo e maior resistência às doenças (Souza, 2007). Neste contexto, populações de *L. jocu*, por apresentarem como característica atual altos índices de diversidade haplotípica e nucleotídica podem ser incentivados à prática da produção de peixes cultivados.

Em ambiente marinho, a produção de peixes cultivados é considerada inexistente, mesmo tendo o Brasil 8500 km de costa e condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da atividade (Cavalli, *et al.*, 2011). No entanto, temos no Brasil um centro de pesquisas para cultivo de peixes marinhos desde 2005. Pesquisadores do Instituto de Ciências do Mar (Labomar), da Universidade Federal do Ceará (UFC), criam, em caráter experimental, espécies

de peixes marinhos no Centro de Estudos Ambientais Costeiros (Ceac), cerca de 400 peixes reprodutores da família dos Lutjanídeos (incluindo *L.jocu*) e dos Centropomídeos (robalo). Além do desenvolvimento da tecnologia de cultivo de espécies marinhas em cativeiro, o projeto “Cultivo de Peixes Marinhos”, conforme o coordenador Manuel Furtado, visa também fazer o repovoamento de espécies em extinção.

## VI. CONCLUSÃO

Diante do declínio acentuado dos recursos pesqueiros nos dias de hoje, sugere-se substituir a demanda de pesca por demanda de cultivo. Pesquisas como as do CEAC, entre outras de caráter genético-populacional e filogeográfico devem ser incentivadas e priorizadas em prol da diminuição da pressão de pesca a qual atinge não só o alvo da pescaria, mas todo o ecossistema marinho. Paralelamente, deve-se incentivar projetos educacionais em todo o litoral e adjacências no âmbito de promover uma conscientização ambiental e mudança de hábitos culturais já obsoletos, em prol de um desenvolvimento mais sustentável da pesca.

## VI. REFERÊNCIAS

ALLEN, G.R. *Snappers of the world: An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date*. FAO Species Catalogue. Rome, 1985, Vol. 6. p.208;

ANDERSON, W. D. *Lutjanidae*. Pp.1479–1504. In: Carpenter, K. E. (Ed.). *The living marine resources of the western central Atlantic*, FAO species identification guide for fishery purposes. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, p.2127, 2003;

AVISE, J. C.; C. A. REEB, and N. C. SANDERS. *Geographic population and species differences in mitochondrial DNA of mouthbrooding marine catfishes (Ariidae) and demersal spawning toadfishes (Batrachoididae)*. *Evolution*, 1987, v.41: p.99;

AVISE, J.C. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, MA. 2000;

- AVISE, J.C.; LANSMAN, R. A.; SHADE, R.O. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. I. Population structure and evolution in the genus *Peromyscus*. *Genetics* 1987, v.92, p. 279-295;
- BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; SYKES, B.C.; RICHARDS, M.B. *Mitochondrial portraits of human populations using median networks*. *Genetics* 1995; v.141: p.743-753;
- BARBER, P.H.; PALUMBI, S.R.; ERDMANN, M.V. & MOOSA, M.K. *A marine Wallace's line?*, *Nature*, 2000, v.406, p.692-693;
- BEGOSSI, A.; SALIVONCHYK, S. V.; ARAUJO, L. G.; ANDREOLI, T.B.; CLAUZET, M.; MARTINELLI, C. M.; FERREIRA, A. G.L.; OLIVEIRA, L.E.C.; SILVANO, R.A.M. *Ethnobiology of snappers (Lutjanidae): target species and suggestions for management*. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2011, v.7, p. 11;
- BELLWOOD, D.R. & HUGHES, T.P. *Regional-scale assembly rules and biodiversity of coral reefs*. *Science*, 2001, v.29, p.1532–1534;
- BELWOOD, D.R., HUGHES TP, Folke C, Ny strom M. *Confronting the coral reef crisis*. *Nature* 2004, v.429: p.827–833;
- BIOEDIT: *a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. *Nuclear Acids Symposium Series*, v.41, p.95-98;
- BLABER, S. J. M.; DICHMONT, C.M.; BUCKYWORTH, R.C.; SUMIONO NURHAKIM, B.; NURHAKI, S., ISKANDAR, B., FEGAN, B., RAMM, D.C., SALINI, J.P. *Shared stocks of snappers (Lutjanidae) in Australia and Indonesia: integrating biology, population dynamics and socio-economics to examine management scenarios*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 2005, v.15: p.111–127;
- BRANCO, J. O. *Bases ecológicas para um desenvolvimento sustentável: estudos de caso em Penha, SC*. Itajaí, SC: Editora da UNIVALI, 2006. p. 253-268;
- BRIGGS, J.C. *Marine zoogeography*. Ed. McGraw-Hill, New York. 1974;
- CABRAL, C.A.R.. *A educação ambiental na pesca artesanal do camarão-rosa (Penaeus paulensis) em Rio Grande: Análise de uma tentativa*. Dissertação de mestrado em Educação Ambiental, FURG, 1997. p.237;
- CATELLANOS-GALINDO G.A.; CANTERA, J.R.; ESPINOSA, S.; MAJÍA-LADINO, L.M. *Use of local ecological knowledge, scientist's observations and grey literature to assess marine species at risk in a tropical eastern Pacific estuary*. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst*, 2011, v. 21, p.37–48;
- CERVIGNÓN, F. *Los peces marinos de Venezuela*. Fundación Científica Los Roques. Caracas: Venezuela 1993, v.2, p.497;
- CNIO, *O Brasil e o Mar no Século XXI*. Relatório de Tomadores de Decisão no País, 1998, p.408;

DIAS JUNIOR, E.A. *Estrutura genética populacional de Lutjanus analis cioba e Lutjanus jocu dentão (Lutjanidae) ao longo do litoral brasileiro*. Tese de doutorado, UFRN, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/handle/1/11699>;

DIEGUES, A. C. *Pesca e marginalização no litoral paulista*. NUPAUB/CEMAR. Universidade de São Paulo. USP. São Paulo, SP. 1973, p.187 (dissertação de mestrado).

DIEGUES, A. C. *Marine protected areas and artisanal fisheries in Brazil. International Collective in Support of Fishworkers*, Índia, 2008. (SAMUDRA Monographia);

DULVY, N.K.; ELLIS, J.R.; GOODWIN, N.B.; GRANT, A.; REYNOLD, J.D. & JENNINGS, S. *Methods of assessing extinction risk in marine fishes*. Fish and Fisheries, 2004, v. 5, p.255-276;

EIZIRIK, E.; MURPHY, W. J.; O'BRIEN, S. J. *Molecular dating and biogeography of the early placental mammals*. J. Hered. 2001; v. 92, p.212-219;

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E. & QUATRO, J.M. *Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data*. Genetics. 1992. v.131, p.479–491;

EXCOFFIER, L. & LISCHER, H.E.L. *Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows*. Molecular Ecology Resources 2010, In press;

FAO. *State of World Fisheries and Aquaculture – SOFIA*. Roma: Fisheries Department, 2004. p.153;

FAO. *Food and Agricultural Organization* 2009. Disponível em: [http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP\\_BR/en](http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_BR/en). Acesso em 01 abril de 2014.

FAO. *The State of world fisheries and aquaculture*. 2010 Disponível em:<http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>. Acesso em 20 de fevereiro de 2014;

FERREIRA, B.P.; REZENDE, S.M.; TEIXEIRA, S.F.; FERRAZ, A.N.A.; CAVA, F.C. *Peixes recifais na Zona Econômica Exclusiva brasileira, região Nordeste*. Resumos do VII COLACMAR, Santos, 1997, p.305;

FERREIRA, B.P. e MAIDA, M. *Monitoramento dos Recifes de Corais do Brasil, situação atual e perspectivas*. Ministério do Meio Ambiente 2006, 120;

FERREIRA, M.V.; JANKOWSKY, M.; NORDI, N. *História e mudanças do sistema alimentar de pescadores: uma comunidade no Litoral de São Paulo, Brasil*. Interciência 2009, Caracas, v.34, p.696-702;

FISHER, W; *Species Identification Sheets for Fishery Purposes*. Western Central Atlantic (Fishing Area 31). FAO Fisheries Department, Rome, 1978;

FLOETER, S.R., J.L. GASPARINI, L.A. ROCHA, C.E.L. FERREIRA, C.A. RANGEL and B.M. FEITOZA,. *Brazilian reef fish fauna: checklist and remarks*. Brazilian Reef Fish Project. Disponível em: [www.brazilianreeffish.cjb.net](http://www.brazilianreeffish.cjb.net). 2003;

FLOETER, S.R.; HALPERN, B.S.; FERREIRA, C.E.L. Effects of fishing and protection on Brazilian reef fishes. *Biological Conservation* 2006, v.128, p.391–402;

FLOETER, S.R., ROCHA, L.A., ROBERTSON, D.R., JOYEUX, J.C., SMITH, W.F., WIRTZ, P. EDWARDS, A.J., BARREIROS, J.P., FERREIRA, C.E.L., GASPARINI, J.L., BRITO, A., FALCON, J.M., BOWEN B.M. & BERNARDI, G. *Atlantic reef fish biogeography and evolution*. *Journal of Biogeography* 2008, v.35, p.22–47;  
FREITAS, J.E.; ARAÚJO, M.E.; SOLÉ-CAVA, A.M. *Estruturação genética de duas populações do atol das rocas e do Ceará*. *Tropical Oceanography*, Recife: 2003, v. 31, n. 2, p. 171± 80;

FONTELES-FILHO, A. A. *Estudo preliminar da pesca do pargo, Lutjanus purpureus, Poey, no nordeste brasileiro*. Arq. Ciên. Mar, Fortaleza, 1969, v.9(1), p.83-88;

FU, Y.-X. and Li, W.-H. *Statistical tests of neutrality of mutations*. *Genetics*, 1993, v.133, p.693–709;

FU, Y.-X. *Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection*. *Genetics*, 1997, v.147, p.915–925;

GIULIETTI, N. & ASSUMPÇÃO, R. *Indústria pesqueira no Brasil*. Agricultura em São Paulo 1995, v.42, n.2, p. 95-127;

GOLD, J.R, SAILLANT, E. CUMMINGS, N.J. & RENSHAW, M.A. *Genetic Divergence and Effective Size among Lane Snapper in U.S. Waters of the Western Atlantic Ocean, North*. *American Journal of Fisheries Management*, 2011, v.31:2, p.209-223;

HAIGTH, W .R.; PARRISH, J.D.; HAYES, T.A. *Feeding ecology of deepwater lutjanid snappers at Penguin Bank, Hawaii*. *Trans. Amer. Fish. Socv*, 1993 v.122, p.328-34;  
HARRISON, S. & CORNELL, H.V. *Toward a better understanding of regional causes of local species richness*. *Ecol. Lett.* 2008,v. 11, p.969–979;

HAWKINGS & ROBERTS. *Effects of Fishing on Coral Reefs*. *Conservation Biology*, 2004 v.18, n. 1, p. 215–226;

HILSDORF, A.W.S.; MARQUES, D. K. S.; RESENDE E. K. *Genética e Conservação de Estoques Pesqueiros de Águas Continentais no Brasil: Situação Atual e Perspectivas*. 2006, p 43-82;

HUTCHINGS, J.A. e REYNOLDS, J.D. *Marine fish population collapses: consequences for recovery and extinction risks*. *Bioscience*, 2004, v.54, p.297–309;

IBAMA. *Boletim estatístico da pesca marítima e estuarina do Nordeste do Brasil*. Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste, 140 p., Tamandaré, 2001;

IBAMA. *Estatística de Pesca*. Relatório: Brasília: IBAMA, 2009.

ICMBIO, *Boletim estatístico de Pesca e Aquicultura*. 2011. Disponível em: [http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes\\_e\\_Estatisticas/Boletim%20MPA%202011\\_FINAL.pdf](http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20MPA%202011_FINAL.pdf). Acesso em 20/02/2014

IMBIRE, J.; BOYLE, E. A.; CLEMENS, S. C.; DUFFY, A.; HOWARD, W. R.; KUKLA, G.; KUTZBACH, J.; MARTINSON, D. G.; MCINTYRE A. & Mix, A. C. *On the structure and origin of major glaciation cycles, 1, Linear responses to Milankovitch forcing*. *Paleoceanography* 1992, v.7, p.701–738;

IUCN, *IUCN Red List of Threatened Species*. Red List of Threatened Species. 2012. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/>;

JENNINGS S, GRANDCOURT, E.M.; POLUNIN, N.V.C. *The effects of fishing on the diversity, biomass and trophic structure of Seychelles reef fish communities*. *Coral Reefs* 1995, v.14, p.225–235;

JENNINGS S; LOCK, J.M.. *Population and ecosystem effects of reef fishing*. In Reef Fisheries, Polunin NVC, Roberts CM (eds). Chapman & Hall: London, 1996, p193–218;

JENNINGS, S. e POLUNIN, N.V.C. *Effects of fishing effort and catch rate upon the structure and biomass of Fijian reef fish communities*. *Journal of Applied Ecology Oxford* 1996, v.33, p.400–412;

JONES, G.P.; CALEY, M.J. & MUNDAY, P.L. *Rarity in coral reef fish communities*. Pags. 81-101. Em: Sale, P.F. (ed). *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem*. Academic Press, 2002, Inc., San Diego. 754p;

LESSA, R. e NÓBREGA, M.F. *Guia de Identificação de Peixes Marinhos da Região Nordeste*. Recife: REVIZEE / NE 2000, Press. p.128;

LEWINHSOHN, T. M. e Prado, P. I. *Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento*. São Paulo: Editora Contexto, 2002;

LOWE-MCCONNELL, R. H. *Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999;

LUBBOCK, R. and A. EDWARDS. *The fishes of Saint Paul's Rocks*. *J. Fish Biol.* 1981, v.18, p.135-157;

LUMPKIN, R. and GARZOLI, S. L.: *Near-surface circulation in the Tropical Atlantic ocean, Deep-Sea Res. I*, 2005, v.52(3), p.495–518;

MAGALHÃES, J.A.P.; CORDEIRO NETTO, O.M.; NASCIMENTO, N.O. *Os Indicadores como Instrumentos Potenciais de Gestão das Águas no Atual Contexto Legal-Institucional do Brasil – Resultados de um Painel de Especialista*. *Rev Bras Recur Hidr. – RBRH* 2003, v. 8, n. 4, p. 49-67;

- MARQUES, D.K.S. *Aplicação da Biologia Molecular em Programas de Conservação de Recursos Pesqueiros*. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 22 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 36);
- MEYER, A.; WILSON, A. C. *Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish*. J. Mol. Evol. 1990, v.31, p.359-364;
- MMA – Ministério do Meio Ambiente. *Programa REVIZEE: avaliação do potencial sustentável de recursos vivos na zona econômica exclusiva: relatório executivo*. MMA, Secretaria de Qualidade Ambiental. Brasília, 2006;
- MORA, C. & ROBERTSON, D.R. *Causes of latitudinal gradients in species richness: a test with fishes of the tropical eastern pacific*. Ecology, 2003, v.86, p.1771–1782;
- MORA, C. & ROBERTSON, D.R. *Factors shaping the range-size frequency distribution of the endemic fish fauna of the Tropical Eastern Pacific*. Journal of Biogeography, 2005, v.32, p.277–286;
- MORA, C.; CHITTARO, P.M.; SALE, P.F.; KRITZER, J.P. & LUDSIN, S.A. *Patterns and processes in reef fish diversity*. Nature, 2003, v.421, p.933–936;
- MOURA, R. L. & LINDMAN, K. C. *A new species of snapper (Perciformes: Lutjanidae) from Brazil, with comments on the distribution of Lutjanus griseus and L. apodus*. Zootaxa, 2007, p.31-43;
- HAWKINS, J.P. e ROBERTS, C.M. *Effects of artisanal fishing on Caribbean Coral Reefs*. Conservation Biology, Gainesville 2004, v.8(1), p.215–226;
- NELSON, J.S. *Fishes of the world*. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 1997, p.523;
- NELSON, J.S. *Fishes of the world*. 1rd ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 2006, p.323;
- NELSON, T. S., HODDELL, R. J., CHOU, L. M., CHAN, W. K., & PHANG V. P. E. *Phylogeographic structure of false clownfish, Amphiprion ocellaris, explained by sea level changes on the Sunda shelf*. Marine Biology 2000, v.137, p.727-736;
- PAEZ, M.L.D. *Exploração de recursos pesqueiros no Brasil*. Revista de Administração, 1993, 28, n.4, p.51-61;
- POLUNIN, N.V.C.; ROBERTS, C.M. *Reef fisheries*, Fish and Fisheries, 1996. Series 20, p.477;
- PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B. & FORESTI, F. *Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (Astyanax altiparanae)*. In: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Baldiserotto, B. & Gomes, L. C. (Org.). Editora UFSM: Santa Maria 2005, p.468;
- RALSTON, S.; MYAMOTU, G.T. *Analyzing the width of daily otolith increments to age on the Hawaiian snapper, Pristipomoides filamentosus*. Fish. Bull, 1983, v. 81, n. 3, p. 523-533;

REVIZEE. *Programa de Avaliação do Potencial Sustentável dos Recursos Vivos da Zona Econômica Exclusiva. Dinâmica das Frotas da Região Nordeste do Brasil. Análise das principais pescarias SCORE-NE*. 2004. Volume I. 158 p.

REZENDE, S.M.; FERREIRA, B.P.; FRÉDOU, T. *A pesca de lutjanídeos no Nordeste do Brasil: histórico das pescarias, características das espécies e relevância para o manejo*. Boletim Técnico Científico da CEPENE, 2003, v.11, p.257-270;

REZENDE, S.M & FERREIRA, B.P. *Age, growth and mortality of Dog Snapper (Block & Schneider, 1801) in the northeast coast of Brazil*. Brazilian Journal of Oceanography, 2004, v.52(2), p107-121;

ROBERTSM C.M.; POLUNIN, N.V.C. *Marine reserves: simple solutions to managing complex fisheries*. Am bio. 1993, v.22, p.363–368;

ROBERTS, C.M. *Effects of fishing on the ecosystem structure of coral reefs*. Conservation Biology 1995, v.9: p. 988–995;

ROZAS, J. and ROZAS R. *DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis*. Bioinformatics, 1999, v.15, p.174–175;

RUSS, G.R.; ALCALA, A.C. *Effects of intense fishing pressure on an assemblage of coral reef fishes*. Marine Ecology Progress Series. 1989, v.56, p.13–27;

SADOVY, Y. *The threat of fishing to highly fecund fishes*. J Fish Biology, 2000, v.59, p.90-108;

SANTOS, S.; HRBECK, T., FARIAS, I. P., SCHNEIDER, H. & SAMPAIO M. I.. *Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change*. Mol Ecol, 2006, v.15(14), p.61-73;

SILVA, O. C.. *Estudos das pescarias dos botes à vela da praia do Pina (Recife, Brasil)*. Trab. Oceangr. UFPE, 1970, v.9/11, p. 305- 316;

SHULMAN, M. J. *What can population genetics tell us about dispersal and biogeographic history of coral-reef fishes?* Australian Journal of Ecology 1998, v.23, p.216-225;

SHULMAN, M. J., & BERMINGHAM, E. *Early life histories, ocean currents, and the population genetics of Caribbean reef fishes*. Evolution, 1995. v. 49, p.897-910;

SMITH, P.J. *Genetic resources and fisheries: policy aspects*. In: Pullin, R.S.V.; Bartley, D.M.; Kooiman, J. (eds.). *Towards Policies For Conservation and Sustainable Use of Aquatic Genetic Resources*, ICLARM Conf. Proc. 59, 1999. p. 43-62;

SWOFFORD DL. 2002. *PAUP\**. *Phylogenetic analysis using parsimony and other methods*, Version 4.0b10. Sunderland, MA: Sinauer Associates;

PAES, E. T.; *Nécton Marinho*. In: Pereira, R.C. and Soares-Gomes. *Biologia Marinha*. 1nd ed. Interciência, Rio de Janeiro, 2002, p.159-193;

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

VASCONCELOS, A.V.; Vianna, P.; Paiva, P.C.; Schama, R. and Solé-Cava, A. Genetic and morphometric differences between yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*, Lutjanidae) populations of the tropical West Atlantic. *Genetics and Molecular Biology, Brasil*, 2008, v.31, p.308-316;

VACCHI\*†M.; Psomadakis P. N; Repetto, N. and Wurtz, M. *First record of the dog snapper *Lutjanus jocu* in the Mediterranean Sea* *Journal of Fish Biology*, 2010, v.76, p.723–728;

VILA-NOVA D.A.; BENDER, M.G.; FERREIRA, C.E.L.; CARVALHO-FILHO, A.; FLOETER, S.R. *Uso de habitats das espécies de peixes recifais no Brasil: considerações para o design de Áreas Marinhas Protegidas*. Dissertação de Mestrado, Curitiba, 2010;

WALL, J.D. *Recombination and the power of statistical tests of neutrality*. *Genet. Res.* 1999, v.74, p.65–69;