



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Rafael Ramos Correa

**Caracterização da diversidade genética de reprodutores de tainha *Mugil liza* de criação e ambiente natural**

Florianópolis – SC

2023

Rafael Ramos Correa

**Caracterização da diversidade genética de reprodutores de tainha *Mugil liza* de criação e ambiente natural**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Prof. Vinicius Ronzani Cerqueira, Dr.  
Coorientadora: Profa. Grazielle Fernanda Evangelista Gomes, Dra.

Florianópolis - SC

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Correa, Rafael Ramos

Caracterização da diversidade genética de reprodutores  
de tainha Mugil liza de criação e ambiente natural / Rafael  
Ramos Correa ; orientador, Vinícius Ronzani Cerqueira,  
coorientador, Grazielle Fernanda Evangelista Gomes, 2023.  
46 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Diversidade genética. 3.  
Piscicultura marinha. 4. Mugil liza. I. Cerqueira, Vinícius  
Ronzani . II. Gomes, Grazielle Fernanda Evangelista . III.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Rafael Ramos Correa

**Caracterização da diversidade genética de reprodutores de tainha *Mugil liza* de criação e ambiente natural**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado, em 21 de dezembro de 2022, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Vinicius Ronzani Cerqueira, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Mauro André Damasceno de Melo, Dr.  
Instituto Federal do Pará (IFPA)

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Vinicius Ronzani Cerqueira, Dr.  
Orientador

Florianópolis, 2023

Este trabalho é dedicado aos meus queridos pais.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por estar sempre presente na minha vida guiando os meus caminhos.

Aos meus pais, Francisco Correa e Marivalda Correa, por toda educação e amor que me deram, o que me fortalece a cada dia.

Ao meu Orientador Dr. Vinícius Cerqueira, que me recebeu no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), um excelente orientador.

À minha Coorientadora Dra. Grazielle Gomes, que me acolheu novamente no Laboratório de Genética Aplicada (LAGA), profissional de grande competência e excelente amiga.

Ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), que me proporcionou a referida formação acadêmica, contribuindo de forma inestimável para meu aprimoramento profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida durante os doze primeiros meses do curso.

À Universidade Federal do Pará (UFPA), ao Instituto de Estudos Costeiros (IECOS) e ao Laboratório de Genética Aplicada pela infraestrutura concedida e financiamento do trabalho.

À Vanessa Rocha e ao Edson Mota que me auxiliaram nas coletas de tainhas de ambiente natural junto aos pescadores, esse apoio foi fundamental para o andamento da pesquisa.

À Paula Santana, que me auxiliou nos experimentos e na geração dos resultados, pessoa muito proativa e dedicada. Agradeço de coração por toda contribuição.

Ao Raimundo da Silva e a Thaís Martins pelo auxílio em análises computacionais.

À Ivana Veneza pela ajuda no processamento das análises computacionais e pela didática em expressar tais achados. Uma contribuição inestimável, gratidão.

Aos demais colegas do LAGA que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para o presente trabalho, destacando a Jessica Thayane, Josy Silva, Ítalo Lutz, Charles Ferreira e Suane Matos.

Por fim, a toda equipe do LAPMAR, em especial ao Everton Danilo, Caio Magnotti, Vanessa Rocha, Cleize Sales, Elenice Brasil, Mariana Pilotto e a Marisa

Pereira pela convivência diária e pelo conhecimento repassado com o cultivo de peixes marinhos.

## RESUMO

A tainha *Mugil liza* apresenta atributos que a faz potencialmente explorável na aquicultura, como elevada robustez, fácil manejo alimentar, ampla tolerância a salinidade e temperatura, além de suportar facilmente condições de confinamento. Neste cenário, a caracterização da diversidade genética dos reprodutores é fundamental para realizar um manejo genético eficiente, considerando a importância deste recurso, com grande potencial de cultivo. Assim, o presente trabalho, inicialmente caracterizou a diversidade genética da tainha *Mugil liza* de criação e comparou com as populações de ambiente natural em dois pontos da costa brasileira (Rio de Janeiro e Santa Catarina) utilizando a região controle (650 pb) do DNA mitocondrial. Combinou também as presentes amostras a um banco complementar de *Mugil liza* da Venezuela até o Sul do Brasil, com fragmento de 427 pb, para avaliar a diversidade e estrutura da população, usando também o gene COI (600pb) para identificação da espécie. Os resultados mostraram baixa diversidade genética do plantel de criação (diversidade haplotípica  $Hd = 0,5094 \pm 0,0546$  e diversidade nucleotídica  $\pi = 0,010713 \pm 0,005702$ ), com valores bem inferiores aos dos espécimes de ambiente natural (RJ + SC)  $Hd = 0,9981 \pm 0,0081$  e  $\pi = 0,021627 \pm 0,011070$ , que variaram de  $Hd = 1,0000 \pm 0,0137$  e  $\pi = 0,023993 \pm 0,12427$  para  $Hd = 0,9818 \pm 0,0463$  e  $\pi = 0,014400 \pm 0,008089$ , entre as localidades do RJ e SC, respectivamente. Estes dados demonstram que apesar da domesticação da tainha *Mugil liza* estar em sua fase inicial, já é necessária a inclusão de novos espécimes de ambiente natural no plantel de criação. Ressalta-se ainda que trabalhos como este são fundamentais para controle de plantéis, pois fundamentam um manejo genético eficiente na piscicultura. Por fim, os resultados mostraram também que *Mugil liza* apresenta uma estruturação em três grupos, apoiados pelos testes de AMOVA = 65,78% entre os grupos (Grupo 1 X Grupo 2 X Grupo 3) e de 34,22% dentro dos grupos, e FST igual 0,65777 ( $p = 0$ ). Os resultados não mostraram um modelo de distribuição definido por localidades, sendo necessário estudos direcionados a fim de esclarecer melhor os padrões previamente observados.

**Palavras-chave:** Aquicultura; Diversidade genética; Piscicultura marinha; *Mugil liza*.



## ABSTRACT

The *Mugil liza* mullet has attributes that make it potentially exploitable in aquaculture, such as high robustness, easy food handling, wide tolerance to salinity and temperature, in addition to easily withstanding confinement conditions. Thus, the present work initially characterized the genetic diversity of the *Mugil liza* farmed mullet and compared it with the populations of the natural environment in two points of the Brazilian coast (Rio de Janeiro and Santa Catarina) using the control region (650 bp) of the mitochondrial DNA. He also combined the present samples with a complementary bank of *Mugil liza* from Venezuela to southern Brazil, with a 427 bp fragment, to assess the diversity and structure of the population, also using the COI gene (600 bp) for species identification. The results showed low genetic diversity of the breeding stock (haplotypic diversity  $Hd = 0.5094 \pm 0.0546$  and nucleotide diversity  $\pi = 0.010713 \pm 0.005702$ ), with values much lower than those of specimens from the natural environment (RJ + SC )  $Hd = 0.9981 \pm 0.0081$  and  $\pi = 0.021627 \pm 0.011070$ , which ranged from  $Hd = 1.0000 \pm 0.0137$  and  $\pi = 0.023993 \pm 0.12427$  to  $Hd = 0.9818 \pm 0.0463$  and  $\pi = 0.014400 \pm 0.008089$ , between the locations of RJ and SC, respectively. These data demonstrate that even though the domestication of the *Mugil liza* mullet is in its initial phase it is already necessary to include new specimens from the natural environment in the breeding stock. It should also be noted that works like this are essential for controlling stocks, as they support efficient genetic management in fish farming. Finally, the results also showed that the *Mugil liza* is structured into three groups, supported by the AMOVA tests = 65.78% between groups (Group 1 X Group 2 X Group 3) and 34.22% within of the groups, and  $F_{ST}$  equal to 0.65777 ( $p = 0$ ). The results did not show a distribution model defined by localities, requiring targeted studies to better clarify previously observed patterns.

**Keywords:** Aquaculture; Genetical diversity; Marine fish farming; *Mugil liza*.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Exemplar adulto da espécie <i>Mugil liza</i> de ambiente natural.....	13
<b>Figura 2</b> - Produção de tainha na região Sul e Sudeste do Brasil por modalidade de capturas nos anos de 2018 a 2020.....	14
<b>Figura 3</b> - Área de estudo do presente trabalho. O ponto vermelho evidencia o local de criação de tainha no LAPMAR, e os pontos em azul mostram os locais de coleta de ambiente natural (RJ e SC).....	25
<b>Figura 4</b> - Árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ) obtida a partir dos haplótipos do fragmento do gene COI, sequências de <i>Mugil liza</i> do Genbank e sequências de espécies do gênero <i>Mugil</i> . O círculo azul representa o haplótipo dos reprodutores e os círculos verdes, os indivíduos de ambiente natural.....	29
<b>Figura 5</b> - Rede de haplótipos gerada a partir de sequências da Região controle para <i>Mugil liza</i> . Os círculos são proporcionais à frequência de haplótipos.....	30
<b>Figura 6</b> - Rede de haplótipos gerada a partir de sequências da Região controle para <i>Mugil liza</i> em conjunto com as sequências do Banco Referência. Os círculos são proporcionais à frequência de haplótipos.....	31

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	11
1.2	A ESPÉCIE <i>Mugil liza</i> VALENCIENNES, 1836 .....	12
<b>1.2.1</b>	<b>Distribuição, bioecologia e taxonomia.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.2</b>	<b>A pesca da tainha <i>Mugil liza</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.3</b>	<b>A <i>Mugil liza</i> na Aquicultura.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.4</b>	<b>Estudos genéticos com a espécie <i>Mugil liza</i> .....</b>	<b>16</b>
1.4	JUSTIFICATIVA.....	18
1.5	OBJETIVOS.....	20
<b>1.5.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>20</b>
<b>1.5.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>21</b>
2.1	INTRODUÇÃO.....	23
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
<b>2.2.1</b>	<b>Estratégia de Amostragem.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Extração do material genético.....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Amplificação e sequenciamento dos marcadores moleculares..</b>	<b>26</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Bancos de sequências.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.5</b>	<b>Identificação Molecular.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2.6</b>	<b>Diversidade Genética e Estrutura Populacional.....</b>	<b>28</b>
2.3	RESULTADOS.....	28
<b>2.3.1</b>	<b>Caracterização das bases de dados.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Identificação molecular da tainha cultivada e ambiente natural..</b>	<b>28</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Diversidade genética de <i>Mugil liza</i>.....</b>	<b>29</b>
2.4	DISCUSSÃO.....	32
<b>2.4.1</b>	<b>Identificação da espécie.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Diversidade genética.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Estrutura populacional.....</b>	<b>34</b>
2.5	CONCLUSÕES.....	37
2.6	REFERÊNCIAS.....	37
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A produção global de pescado tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, chegando em 2020 a aproximadamente 178 milhões de toneladas. A pesca, que extrai organismos aquáticos em ambientes naturais marinhos e de água doce para fins comerciais, está exercendo sérias pressões sobre os estoques selvagens, com margem mínima para expansão sustentável. Em contraste, a aquicultura é um setor de produção de alimentos que mais cresce globalmente, correspondendo ao ano de 2020 a 87,5 milhões de toneladas, o que representa 49,2% da produção de pescado produzido, percentual bastante superior em comparação a 1990, que compreendia apenas a 13,4% (FAO, 2022a).

A aquicultura é caracterizada como o cultivo de organismos cujo ciclo de vida em condições naturais dá-se total ou parcialmente em meio aquático. Assim, estão incluídas plantas aquáticas, crustáceos, moluscos, anfíbios e peixes (BRASIL, 2009). Na aquicultura, a domesticação consiste em adaptar continuamente espécies selvagens às condições de criação, com o objetivo final de modificar, gerações após gerações, características selecionadas para produzir, na maioria das vezes, indivíduos mais produtivos e eficientes (OLESEN et al., 2015; HOUSTON et al., 2020).

No entanto, a domesticação é relativamente recente, com 97% das espécies aquáticas cultivadas tendo começado apenas no século XX. A consequência é que a maioria dos tipos cultivados atuais são pouco diferentes de seus parentes selvagens e ainda retêm altos níveis de diversidade genética. Porém, existem evidências de degradação genética desses recursos em alguns sistemas de abastecimento de formas jovens, devido ao manejo genético e a falta de aplicação dos princípios básicos de genética (FAO, 2022b).

Assim, o adequado manejo genético dos reprodutores, incluindo o controle das relações de parentesco de peixes nativos em fase inicial de domesticação é uma atividade fundamental para sustentabilidade dos recursos genéticos e fortalecimento das cadeias produtivas emergentes (LIND et al., 2012; VARELA et al., 2015), uma vez que os processos de domesticação e a maioria dos sistemas de cultivo de animais levam à perda natural de variabilidade genética dos estoques (EMBRAPA, 2012; FERREIRA, 2021).

Nesse contexto, o grupo das tainhas, família Mugilidae, apresenta atributos que o faz potencialmente explorável na aquicultura, sendo a criação da tainha *Mugil liza* em fase inicial de domesticação. Ressalta-se ainda que nos últimos anos *Mugil liza* vem sendo amplamente estudada nos diversos aspectos da biologia e criação (MAGNOTTI et al., 2020, ANGELO et al., 2021, DA ROCHA et al., 2022; DE MELO ARYES et al., 2022), com exceção do manejo genético em cultivo.

## 1.2. A ESPÉCIE *Mugil liza* VALENCIENNES, 1836

### 1.2.1. Distribuição, bioecologia e taxonomia

*Mugil liza* é mundialmente conhecida como *Lebranche mullet*, *Mulet lébranche* e *Lembranche* (CERVIGÓN et al., 1993), sendo na costa brasileira comumente chamada de Tainha. Esta espécie distribui-se amplamente no Atlântico Sul, do Caribe até o norte da Argentina, na América do Sul (MENEZES et al., 2010; SICCHA-RAMIREZ et al., 2014; HERAS et al., 2016). A espécie está relacionada principalmente a águas estuarinas e costeiras com comportamento migratório predominante (mas não obrigatório) para o mar aberto na época da desova (FORTUNATO et al. 2017).

A espécie *Mugil liza* apresenta comprimento máximo de 80 cm e 9 kg, porém geralmente é encontrada com 40 cm (CERVIGÓN, 1993). A espécie apresenta também dimorfismo sexual em termos de crescimento, sendo as fêmeas mais longas que os machos, com um padrão de crescimento rápido (Giombelli-da-Silva; Monteiro-Neto; Vaz-dos-Santos, 2021).

Segundo Menezes, Oliveira, Nirchio (2010), a *Mugil liza* é caracterizada principalmente por: corpo escuro dorsalmente, prateado nas laterais e esbranquiçado na região abdominal; número variável de listras escuras ao lado do corpo alinhadas com as linhas laterais; nadadeiras dorsal, peitoral, anal e caudal com cromatóforos escuros dispersos; primeira nadadeira dorsal com 4 espinhos; segunda nadadeira dorsal com 1 raio não ramificado e 8 ramificados; nadadeira peitoral com 1 raio não ramificado e 14 a 17 raios ramificados; nadadeira pélvica com 1 espinho e 5 raios ramificados; nadadeira anal com 3 espinhos e 8 raios ramificados em espécimes adultos e 2 espinhos e 9 raios ramificados em espécimes menores que 30 mm (Figura 1).

Figura 1 - Exemplar adulto da espécie *Mugil liza* (47 cm) de ambiente natural.



Fonte: O Autor.

Até a década passada o status taxonômico de *Mugil liza* foi exaustivamente discutido, visto que se acreditava na existência de três espécies de tainhas (*Mugil liza* Valenciennes, 1836; *Mugil platanus*, Günther 1880 e *Mugil cephalus*, Linnaeus, 1758) no Atlântico Sul Ocidental. Inicialmente, Menezes & Figueiredo (1985) propuseram que *Mugil liza* e *Mugil platanus*, fossem duas espécies distribuídas respectivamente ao Norte e ao Sul do Rio de Janeiro e que deveriam ser reconhecidas no Atlântico Sul Ocidental.

No entanto, Thomson (1997) considerou como *Mugil cephalus* (e sinônimo de *Mugil platanus*) a espécie com ocorrência em águas costeiras do Brasil até a Argentina, e *Mugil liza* como uma espécie distinta ocorrendo desde as Índias Ocidentais até o Brasil. Por sua vez, Cousseau (2005) acreditava que *Mugil platanus* era a espécie encontrada nas águas costeiras do Sul do Brasil e da Argentina e que se diferenciava de *Mugil liza*.

Ao contrário, o trabalho de Fraga et al. (2007), com ferramentas moleculares, sugeriram que *Mugil liza* e *Mugil platanus* deveriam ser tratados como uma única espécie ou como populações de *Mugil cephalus*, pois possuíam taxas de diferenciação muito baixas. Castro et al. (2008) identificaram *Mugil cephalus* e *Mugil platanus* como espécies alopátricas válidas. E por sua vez, Heras et al. (2009) sugeriram que *Mugil platanus* e *Mugil liza* “representam um continuum de uma única espécie intimamente relacionada, mas distinta de *Mugil cephalus*”.

Nesse contexto, um importante trabalho com uso de dados merísticos e morfométricos foi o de Menezes, Oliveira, Nirchio (2010), que analisaram uma ampla quantidade de indivíduos de *Mugil liza*, *Mugil platanus* e *Mugil cephalus*, obtidos de amostras coletadas desde a Venezuela à Argentina. Os resultados indicaram claramente a existência de uma só espécie de tainha na região do Caribe e na costa Atlântica da América do Sul, e que a mesma deveria ser renomeada de *Mugil liza*. Sugerindo também, que indivíduos do Atlântico norte ocidental identificados como *M. cephalus* poderiam representar apenas uma população de *M. liza* nesta região.

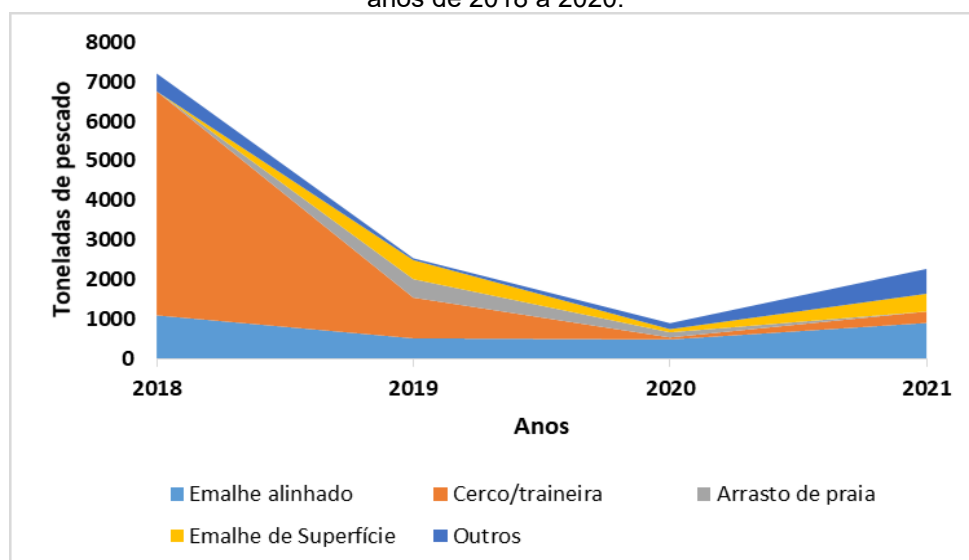
Por fim, com dados moleculares Heras et al. (2016) reiterou que *Mugil liza* e *Mugil platanus* devem ser consideradas como *Mugil liza* Valenciennes, 1836, e que devem ser incluídas no complexo da espécie *Mugil cephalus*.

### 1.2.2. A pesca da tainha *Mugil liza*

No Brasil, *Mugil liza* possui uma grande importância econômica ao longo de sua distribuição (GONZÁLEZ-CASTRO et al., 2009; MORADO, TUBINO, ARAÚJO, 2021). A espécie apresenta excelente qualidade de sua carne, sendo comercializada fresca, salgada e processada pela indústria pesqueira, inclusive apreciada pelas suas gônadas, comumente chamadas de “ovas” (CERVIGÓN et al., 1993, MAPA, 2021).

O sistema pesqueiro da espécie é formado por diversas modalidades incluindo: o emalhe alinhado, cerco/traineira, arrasto de praia, emalhe de superfície e outros (Figura 2).

Figura 2 - Produção de tainha na região Sul e Sudeste do Brasil por modalidade de capturas nos anos de 2018 a 2020.



Fonte: Elaborado pelo autor, com os dados do MAPA (2021).

Na região Sudeste e Sul do Brasil, a pesca da tainha (*Mugil liza*) vem sendo fortemente monitorada pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), especificamente pela Secretaria de Aquicultura e Pesca (SAP). No Relatório Técnico de Avaliação de Estoque da Tainha (*Mugil liza*) no Sudeste e Sul do Brasil 2022, foram disponibilizados dados de produção pesqueira da espécie 7210 t em 2018, 2439 t em 2019, 897 t em 2020 e 2269 t em 2021 (Figura 2).

O declínio da captura de *Mugil liza* (de 68% entre 2018 e 2021) reflete a situação do estoque da espécie no Brasil, que segundo MAPA, (2020) atualmente é classificado como sobrepeçado (biomassa menor que o necessário para manutenção do estoque) (UNIVALI, 2020). O Relatório Técnico de 2021 apresenta também os valores de Rendimento Máximo Sustentável, o Limite Biologicamente Aceitável (5.974 t) e o Limite de Captura Anual (4.481 t). Neste contexto, visando uma gestão mais eficiente dos estoques de *Mugil liza* no sul e sudeste do Brasil, anualmente é publicada uma portaria que visa regulamentar o limite de embarcações, as cotas de captura e as medidas de monitoramento e controle para a temporada da pesca da tainha.

### **1.2.3 A tainha *Mugil liza* na Aquicultura**

No Brasil, estudos sobre esta espécie vêm sendo realizados desde o ano de 1979, surgindo inicialmente no estado do Rio de Janeiro, com estudos sobre a reprodução controlada e larvicultura em laboratório (BENETTI; FAGUNDES NETTO, 1980). Em seguida, trabalhos foram realizados em Santa Catarina (ANDREATTA et al., 1981) e em São Paulo (GODINHO et al., 1993). Entretanto, nenhum deles teve continuidade, de forma que se pudesse estabelecer a criação comercial da espécie.

Pesquisas sobre sua reprodução em cativeiro, indução hormonal, desova e larvicultura vêm sendo realizadas em Santa Catarina no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (CERQUEIRA et al., 2017), a exemplo de Carvalho et al. (2019), que apresentaram técnicas para captura, transporte, aclimação, maturação, desova induzida e incubação de ovos da tainha *Mugil liza* em laboratório. Outro trabalho relevante a ser mencionado é o de Magnotti et al. (2020), em que indivíduos nascidos em cativeiro (F1) reproduziram por indução hormonal, o que consiste no primeiro relato desta técnica para a espécie. Destaca-se que atualmente o LAPMAR é o único laboratório no país com reprodutores ativos e que fornece alevinos de *Mugil liza*.



Destacam-se também estudos recentes na área de larvicultura, alimentação e sistemas de produção da espécie. Angelo et al. (2021) avaliaram a Influência da temperatura na embriogênese, sobrevivência e desenvolvimento inicial de larvas de *Mugil liza*. Da Silva et al. (2021) investigaram o efeito da frequência alimentar sobre o desempenho zootécnico, metabólitos sanguíneos, composição centesimal e enzimas digestivas de juvenis de *Mugil liza*. Rocha et al. (2021) analisaram o efeito da adição de diferentes fontes de carbono orgânico em sistemas de bioflocos na qualidade da água, densidade de microrganismos e desempenho zootécnico de juvenis de *Mugil liza* criados em ambiente fechado.

#### **1.2.4 Estudos genéticos com a espécie *Mugil liza***

Nos últimos anos foram realizados importantes estudos genéticos para *Mugil liza*, utilizando tanto marcadores mitocondriais como nucleares. A maioria dos trabalhos visaram a validação do táxon de *Mugil liza* (FRAGA et al., 2007; CASTRO et al., 2008; HERAS et al., 2009, HERAS et al., 2016). No entanto, houve também abordagens voltadas à identificação (RODRIGUEZ-FILHO et al., 2011; SICCHARAMIREZ et al., 2014), e à diversidade genética da espécie (MAI et al., 2014; DE VASCONCELOS et al., 2021; HERAS et al., 2016, AGUIRRE-PABON, BERDUGO, NARVAEZ, 2022).

Inicialmente, a fim de resolver controvérsias taxonômicas diversos trabalhos utilizaram a DNA mitocondrial. Fraga et al. (2007) foi o pioneiro a utilizar ferramentas genéticas com Mugilídeos da costa brasileira, e utilizaram as regiões do 16S e o Citocromo b. Castro et al. (2008), por sua vez utilizaram apenas a região do Citocromo b. Heras et al. (2009), usaram os genes COI, 16S e 12S. E por fim, Heras et al. (2016), utilizaram um fragmento de 468 pb das regiões combinadas Thr, Pro e CR do DNA mitocondrial.

Com uma abordagem diferente, voltada para a identificação, Rodrigues-Filho et al. (2011), desenvolveram um protocolo de identificação rápida para o gênero *Mugil* da costa brasileira utilizando o gene mitocondrial 5S rDNA. Assim, variações no padrão de bandamento permitiram a diferenciação confiável de quatro espécies, *Mugil curema*, *Mugil incilis*, *Mugil sp.* e *Mugil hospes*, embora os de três outros (*Mugil liza*, *Mugil platanus* e *Mugil cephalus*) fossem idênticos. Deste modo, os resultados do

estudo confirmaram a eficiência deste marcador como ferramenta diagnóstica para a identificação de espécies *Mugil*, e sua utilidade para o manejo populacional.

Siccha-Ramirez et al. (2014), por sua vez, buscou identificar as diferentes espécies de Mugilídeos da Costa Atlântica do Sul do Caribe e da América do Sul e testar a hipótese de que *Mugil liza* está amplamente distribuída nesta região. Assim, foram utilizados seis marcadores mitocondriais: 12S, 16S, ATPase 6, ATPase 8, COI e Citocromo B. Deste modo, as análises demonstraram a ampla distribuição da espécie em todo o Brasil (N, NE, SE, S) à Argentina, sugerindo que os espécimes (n=38) pertenciam a uma única população.

Ao contrário, Mai et al. (2014) ao analisar espécimes de *Mugil liza* (n=250) da costa brasileira (RJ, SP, SC e RS) e da Argentina, utilizando nove locis microssatélites (Locus Muce9, Mcs17fm, Mcs16dm, Mcs2dm Mce-11 Mce-14 Mce-24 Mce-27 Mce-4) identificaram duas populações. A primeira com indivíduos apenas do estado do RJ e a segunda com indivíduos de SP até a Argentina. Assim, apenas as amostras de *Mugil liza* de Niterói (RJ) diferem significativamente de todas as outras amostras da costa do Atlântico Sul brasileiro e da Argentina. Heras et al. (2016), corroboram também a divisão de duas populações de *Mugil liza*, e informam que ela se estende de Cuba a Argentina, sendo o Rio de Janeiro o marco de divisão.

Em estudos locais, no estado do Rio de Janeiro, de Vasconcellos et al. (2021) analisaram a conectividade genética de *Mugil liza* capturadas no entorno do Monumento Natural protegido das Ilhas Cagarras (n=28) e no interior da Lagoa Rodrigo de Freitas (n=34), usando marcadores microssatélites (Locus Mc2dm, Mcs16dm, Muce9, Mce-14). Os dados revelaram a ocorrência de 31 alelos compartilhados (de 41 amostrados), uma alta similaridade tanto nas frequências alélicas quanto na diversidade genética e falta de diferenciação entre os pontos de coleta resultados que, analisados em conjunto, são fortemente indicativos de panmixia entre *Mugil liza* dos ambientes analisados (RJ).

Por fim, recentemente Aguirre-Pabon, Berdugo, Narvaez (2022) analisaram a diversidade genética, a estrutura populacional e conectividade de *Mugil liza* na Colômbia, onde a espécie é considerada ameaçada. Os autores utilizaram nove locis microssatélites (Mcs15cm, Mcs1eh, Mcs16dm, Mcs15am, Mce2, Mce11, mce24, Mce3, Mce7) em quatro pontos de amostragem no litoral colombiano (Santuário de Fauna e Flora Los Flamencos, Via Parque da Ilha de Salamanca, Santuário de Fauna

e Flora Cienaga Grande de Santa Marta e Santuário de Fauna e Flora El Corchal). Os resultados indicaram baixa diversidade genética e alta endogamia com todos os *locus* avaliados, contrastando quando os loci com a presença de alelos nulos foram excluídos. Os autores defendem a existência de duas populações que não mostraram uma relação clara com a distribuição.

Em resumo, os primeiros estudos genéticos com *Mugil liza* visaram resolver controvérsias taxonômicas. Posteriormente surgiram trabalhos com a identificação da espécie, e mais recentemente surgiram trabalhos voltados a variabilidade genética da espécie. Vale ressaltar ainda que todos os trabalhos abordados foram realizados apenas com indivíduos de *Mugil liza* advindos de ambiente natural, não existindo nenhum trabalho envolvendo genética de espécimes de cultivo.

#### 1.4 JUSTIFICATIVA

O adequado manejo genético dos reprodutores, com controle das relações de parentesco de peixes nativos em fase inicial de domesticação, é uma atividade fundamental para sustentabilidade dos recursos genéticos e fortalecimento das cadeias produtivas emergentes (LIND et al., 2012; VARELA et al., 2015), uma vez que os processos de domesticação e a maioria dos sistemas de cultivo de animais levam à perda natural de variabilidade genética dos estoques (EMBRAPA, 2012; FERREIRA, 2021).

No Brasil, há uma tendência de que os plantéis de matrizes sejam formados por peixes que possuem baixa variabilidade genética ou alto grau de parentesco. Isso ocorre por diversos motivos, destacando: a formação de lotes de reprodutores a partir de estoques já endogâmicos de outras pisciculturas; falta de controle da reprodução e desconhecimento da origem dos animais; falta de recursos para obtenção de matrizes de boa qualidade genética; a utilização de baixo número de reprodutores; carência de profissionais especializados na piscicultura e ausência de programas de monitoramento de endogamia (EMBRAPA, 2012).

Nesse cenário, diversos trabalhos vêm sendo realizados para a caracterização da diversidade genética de peixes de aquicultura, tanto com o uso de marcadores mitocondriais, quanto de microssatélites (SANTOS et al., 2016, DUONG et al., 2018, TOOMEY et al., 2020, FERREIRA, 2021). Um exemplo interessante, são os achados de Duong et al. (2019), os quais utilizaram os marcadores mitocondriais,

Citocromo b e Região Controle, de *Channa striata* de cultivo e ambiente natural, e perceberam que a diversidade genética dos indivíduos de cultivo era duas a quatro vezes menor do que a dos indivíduos de ambiente natural. Com esses dados os autores observaram que os peixes dos plantéis estabelecidos já não estavam mais aptos para programas de reprodução, havendo a necessidade de inserção de espécimes de lugares onde a diversidade era maior.

Desta forma, a caracterização da diversidade genética dos reprodutores é fundamental para realizar um manejo genético eficiente do plantel, principalmente em recursos emergentes e com grande potencial de cultivo, como a espécie *Mugil liza*. Destaca-se ainda que para a espécie, além da caracterização da diversidade genética, é necessário atentar também para uma identificação precisa, uma vez que problemas de identidade são comuns para o grupo, sendo as espécies do gênero *Mugil* facilmente confundidas e agrupadas como uma só (MENEZES, 1983; MENEZES et al., 2010; SICCHA-RAMIREZ et al., 2014).

Assim, o uso de ferramentas moleculares se torna uma alternativa eficiente também na identificação, com destaque para o DNA Barcode, uma ferramenta caracterizada pelo uso de uma sequência de DNA capaz de identificar inequivocamente uma espécie, a partir de um fragmento de aproximadamente 650 pares de base da porção 5' do gene Citocromo Oxidase C - Subunidade I (COI) para o processo de identificação (HERBERT et al., 2003).

Segundo Durand et al. (2017), o DNA Barcode mostrou-se um marcador adequado para identificar espécies da família Mugilidae, apesar de complicações na identificação das sequências previamente depositadas nas bases públicas de comparação. Os autores enfatizaram também a necessidade de utilizar a técnica, uma vez que as espécies da família Mugilidae são particularmente difíceis de identificar usando caracteres morfológicos. Ressalta-se ainda que para *Mugil liza*, o gene COI está disponível para comparação, uma vez que já foi sequenciado a fim de elucidar a distribuição da espécie na costa brasileira (SICCHA-RAMIREZ et al., 2014).

Após confirmação das identificações morfológicas, os níveis de variação genética dos indivíduos de cultivo e ambiente natural, poderão ser avaliados, utilizando a região controle, como ponto de partida para implementação de manejo genético dos reprodutores.

## 1.5 OBJETIVOS

### 1.5.1 Objetivo Geral

Avaliar a diversidade genética da Tainha *Mugil liza* de cultivo e comparar com as populações de ambiente natural, utilizando a região controle do DNA mitocondrial.

### 1.5.2 Objetivos Específicos

- Utilizar o DNA Barcode para confirmar a identificação morfológica dos indivíduos;
- Caracterizar a diversidade genética dos reprodutores de tainha de cultivo do estado de Santa Catarina;
- Estimar os índices de diversidade genética da *Mugil liza* selvagem, considerando diferentes localidades de sua distribuição na costa brasileira (RJ e SC), assim como a estrutura genética populacional.
- Comparar os índices de diversidade genética entre populações selvagens e cultivadas de tainha;

## **2. ARTIGO CIENTÍFICO (a ser submetido ao periódico *Aquaculture*)**

**Diversidade genética da tainha *Mugil liza* (Mugilidade – Mugiliformes) proveniente de cultivo e do ambiente natural: *insights* para manejo genético de matrizes**

Rafael Ramos Correa<sup>1</sup>; Paula Praxedes Santana<sup>2</sup> Thais Souza Martins<sup>2</sup> Ivana Barbosa Veneza<sup>3</sup> Charles Ferreira<sup>2</sup> Elmary da Costa Fraga<sup>4</sup> Iracilda Sampaio<sup>2</sup>, Vinicius Ronzani Cerqueira<sup>1</sup>; Grazielle Evangelista Gomes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

<sup>2</sup>Instituto de Estudos Costeiros (IECOS), Universidade Federal do Pará (UFPA), Bragança, PA, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), *Campus* Monte Alegre, PA, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brasil.

## RESUMO

A tainha *Mugil liza* apresenta atributos que a faz potencialmente explorável na aquicultura. Neste cenário, a caracterização da diversidade genética dos reprodutores é fundamental para realizar um manejo genético eficiente, considerando a importância deste recurso, com grande potencial de cultivo. Assim, o presente trabalho, inicialmente caracterizou a diversidade genética da tainha *Mugil liza* de criação e comparou com as populações de ambiente natural em dois pontos da costa brasileira (Rio de Janeiro e Santa Catarina) utilizando a região controle (650 pb) do DNA mitocondrial. Combinou também as presentes amostras a um banco complementar de *Mugil liza* da Venezuela até o Sul do Brasil, com fragmento de 427 pb, para avaliar a diversidade e estrutura da população, usando também o gene COI (600pb) para identificação da espécie. Os resultados mostraram baixa diversidade genética do plantel de criação (diversidade haplotípica  $Hd = 0,5094 \pm 0,0546$  e diversidade nucleotídica  $\pi = 0,010713 \pm 0,005702$ ), com valores bem inferiores aos dos espécimes de ambiente natural (RJ + SC)  $Hd = 0,9981 \pm 0,0081$  e  $\pi = 0,021627 \pm 0,011070$ , que variaram de  $Hd = 1,0000 \pm 0,0137$  e  $\pi = 0,023993 \pm 0,12427$  para  $Hd = 0,9818 \pm 0,0463$  e  $\pi = 0,014400 \pm 0,008089$ , entre as localidades do RJ e SC, respectivamente. Estes dados demonstram que apesar da domesticação da tainha *Mugil liza* estar em sua fase inicial, já é necessária a inclusão de novos espécimes de ambiente natural no plantel de criação. Ressalta-se ainda que trabalhos como este são fundamentais para controle de planteis, pois fundamentam um manejo genético eficiente na piscicultura. Por fim, os resultados mostraram também que o estoque de *Mugil liza* apresenta uma estruturação em três grupos, apoiados pelos testes de AMOVA = 65,78% entre os grupos (Grupo 1 X Grupo 2 X Grupo 3) e de 34,22% dentro dos grupos, e  $F_{ST}$  igual 0,65777 ( $p = 0$ ). Os resultados não mostraram um modelo de distribuição definido por localidades, sendo necessário estudos direcionados a fim de esclarecer melhor os padrões previamente observados.

**Palavras-chave:** Aquicultura. Diversidade genética. *Mugil liza*. Manejo genético.

## 2.1 INTRODUÇÃO

A tainha *Mugil liza* está amplamente distribuída no Atlântico Ocidental, do Caribe até o norte da Argentina, na América do Sul (MENEZES et al., 2010; SICCHARAMIREZ et al. 2014). A espécie está associada principalmente a águas estuarinas e costeiras, com comportamento migratório predominante (mas não obrigatório) para o mar aberto na época da desova (FORTUNATO et al., 2017), sendo de grande importância econômica e altamente explorável como recurso pesqueiro ao longo de sua ocorrência (CERVIGÓN, 1993; CERVIGÓN et al., 1993; MAPA, 2021).

O grupo das tainhas, família Mugilidae, além da grande importância para pesca extrativa, apresenta atributos que o faz potencialmente explorável na aquicultura, tais como: elevada robustez, fácil manejo alimentar, pois aceitam com facilidade a dieta inerte, ampla tolerância à salinidade e temperatura, além de suportar facilmente as condições de confinamento (FILHO et al., 2013), especialmente representantes do gênero *Mugil*, que já vem sendo cultivados em diversos países, usualmente em sistemas de cultivos extensivos e semi-intensivos (FAO, 2021).

No Brasil, as pesquisas estão centralizadas na espécie *Mugil liza*, sobre sua reprodução em cativeiro, indução hormonal, desova e larvicultura, que já vêm sendo realizadas no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (CERQUEIRA et al., 2017). A exemplo, Carvalho et al. (2019), apresentaram técnicas para captura, transporte, aclimatação, maturação, desova induzida e incubação de ovos desta espécie. Magnotti et al. (2020) conseguiram reproduzir espécimes de *Mugil liza* nascidos em cativeiro (F1) por indução hormonal, o que consiste no primeiro relato desta técnica para a espécie. Destaca-se ainda que atualmente o LAPMAR é o único laboratório com reprodutores ativos para o fornecimento de alevinos de *Mugil liza*.

Neste cenário, o adequado manejo genético de reprodutores, com controle das relações de parentesco dos peixes selvagens em fase inicial de domesticação é uma atividade fundamental para sustentabilidade dos recursos genéticos e fortalecimento das cadeias produtivas emergentes (LIND et al., 2012; VARELA et al., 2015), além da seleção adequada de matrizes, a partir de *hot spots* de diversidade em ambiente natural, já que os processos de domesticação e a maioria dos sistemas de cultivo de animais levam à perda natural de variabilidade genética dos estoques (EMBRAPA, 2012).



Há uma tendência de que os plantéis de matrizes sejam formados por peixes que possuem baixa variabilidade genética ou alto grau de parentesco. Isso ocorre por diversos motivos, destacando: a formação de lotes de reprodutores a partir de estoques já endogâmicos de outras pisciculturas; falta de controle da reprodução e desconhecimento da origem dos animais; falta de recursos para obtenção de matrizes de boa qualidade genética; a utilização de baixo número de reprodutores; carência de profissionais especializados na piscicultura e ausência de programas de monitoramento de endogamia (EMBRAPA, 2012).

Nesse cenário, diversos trabalhos vêm sendo realizados para a caracterização da diversidade genética de peixes de aquicultura, tanto com o uso de marcadores mitocondriais quanto de microssatélites (SANTOS et al., 2016, DUONG et al., 2018, TOOMEY et al., 2020). Assim, a caracterização da diversidade genética dos reprodutores é fundamental para realizar um manejo genético eficiente do plantel, principalmente em recursos emergentes e com grande potencial de cultivo, como a espécie *Mugil liza*.

Destaca-se ainda que para a espécie, além da caracterização da diversidade genética, é necessário atentar também para uma identificação precisa, uma vez que problemas de identidade são comuns para o grupo, sendo as espécies do gênero *Mugil* facilmente confundidas e agrupadas como uma só (MENEZES, 1983; MENEZES et al., 2010; SICCHA-RAMIREZ et al., 2014).

Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi realizar a identificação da tainha cultivada no Brasil, utilizando a ferramenta DNA Barcode e avaliar a diversidade genética dos reprodutores de *Mugil liza* de cultivo e comparar com populações de ambiente natural, utilizando a Região Controle do DNA mitocondrial.

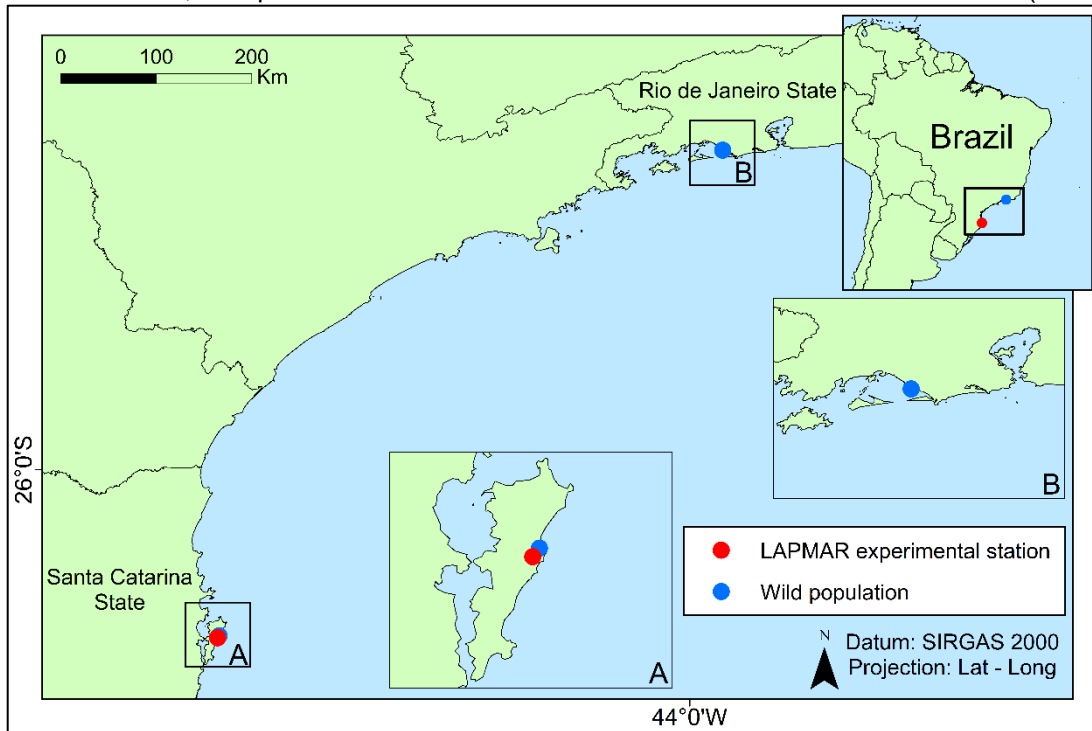
## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Estratégia de amostragem

Foram amostrados 106 indivíduos da espécie *Mugil liza*, oriundos de criação e do ambiente natural (**Figura 3**). Os indivíduos de criação foram 63 adultos, coletados em 2020 no plantel de reprodutores do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), localizado em Florianópolis (SC). As amostras de ambiente natural totalizaram 43 indivíduos coletadas junto a pescadores artesanais com o uso de rede de emalhe, 70 mm a 90 mm. Destes, 31 indivíduos foram coletados na Praia da Barra

da Lagoa, Florianópolis (SC) e 15 indivíduos coletados no Rio de Janeiro (RJ), nos anos de 2021 e 2022, respectivamente.

Figura 3 - Área de estudo do presente trabalho. O ponto vermelho evidencia o local de criação de tainha no LAPMAR, e os pontos em azul mostram os locais de coleta de ambiente natural (RJ e SC).



Fonte: Elaborada pelos autores.

As amostras biológicas corresponderam a um pequeno fragmento (cerca de 1 cm<sup>2</sup>) da nadadeira caudal de cada indivíduo, armazenadas em microtubos de 2 mL, do tipo *Eppendorf*, e preservadas em álcool 90% a uma temperatura de -20 °C. Todas as amostras foram registradas, recebendo um código único de identificação. Posteriormente foram enviadas ao Laboratório de Genética Aplicada (LAGA), da Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto de Estudos Costeiros (IECOS) em Bragança - PA, para experimentos e geração de dados de sequências de DNA.

### 2.2.2 Extração do material genético

O DNA genômico total foi obtido utilizando o Kit Wizard Genomic® (PROMEGA), seguindo instruções do fabricante. Após o isolamento, as amostras foram misturadas a uma solução constituída de tampão *Blue Juice* e corante *Gel Red* (2µL da mistura e 2µL de DNA) e submetidas à eletroforese submarina horizontal em gel de agarose (1%) durante 40 minutos/50V. Após a corrida eletroforética, as amostras foram visualizadas sob luz ultravioleta para verificar a qualidade do DNA

extraído. As amostras positivas foram armazenadas em freezer para posterior etapa de amplificação e sequenciamento das regiões genômicas.

### 2.2.3 Amplificação e sequenciamento dos marcadores moleculares

Os fragmentos mitocondriais foram isolados e amplificados através da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), com volume final de reação de 15µL, sendo: 2,4µL de DNTP (3,5mM), 1,5µL de tampão (10x), 0,6µL de MgCl<sub>2</sub> (50mM), 0,6µL de cada iniciador (50ng/µL), 0,6µL de DNA total, 0,1µL de Taq DNA polimerase (5U/µL) e 8,6µL de água purificada.

Para a amplificação da porção Barcode do gene COI, foram utilizados os iniciadores COIFishF1, 5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3', e COIFishR1, 5'TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3', descritos por Ward et al. (2005). As condições de amplificação foram: desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos, desnaturação a 95 °C por 30 segundos, hibridização a 56 °C durante 35 segundos e extensão a 72 °C por 50 segundos por 35 ciclos e extensão final de 72 °C por 3 minutos.

Para a Região Controle, foram utilizados os iniciadores de Fraga (2005), MugPro F (5'-CCTACATCCCTGGCTCCCAA-3') e Perc-12S2R (5'-GTATAACCGCGGTGGCTGGC-3'), com as seguintes condições de amplificação: desnaturação inicial a 94 °C durante 3 minutos, desnaturação a 94 °C durante 30 segundos, hibridização a 57 °C durante 1 minuto e extensão a 72 °C durante 1 minuto por 35 ciclos, e uma extensão final a 72 °C durante 7 minutos.

Os resultados das PCRs foram verificados após eletroforese em gel de agarose 1%, com corrida a 60 v por 30 minutos. Posteriormente, as PCRs positivas foram purificadas com PEG 8000 (Polyethylene Glycol) seguindo o protocolo de Paithankar & Prasad (1991), e em seguida submetidas à reação de sequenciamento, realizada pelo método didesoxiterminal (SANGER et al., 1977), com reagentes do Kit Big Dye (*ABI Prism™ Dye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction* – Thermo Fisher). O produto precipitado foi submetido à eletroforese no sequenciador automático de capilar ABI 3500XL (Thermo Fisher, USA).

### 2.2.4 Bancos de sequências

As sequências geradas foram alinhadas e editadas no programa BioEdit v. 7.1.3.0 (HALL, 1999), onde também foram realizadas correções nas posições das

sequências que existiam erros ou dúvidas em relação ao nucleotídeo presente. Ao término, foi construído um banco de sequências para cada marcador (COI e Região Controle), sendo cada um destes formado pelas sequências dos espécimes dos reprodutores de cultivo, juntamente com as sequências dos indivíduos de ambiente natural.

Em seguida foi construído um terceiro banco, com as sequências obtidas da Região Controle do presente trabalho juntamente com as sequências de um Banco Referência do Instituto de Estudos Costeiros (IECOS), da Universidade Federal do Pará (UFPA). O Banco Referência era composto com 38 sequências de 427 pb da Região Controle de *Mugil liza* das seguintes localidades: Venezuela (9), Pará (2), Ceará (2), Bahia (2), Rio de Janeiro (3), São Paulo (2), Santa Catarina (17) e Rio Grande do Sul (1).

Foi utilizado também o programa DNAsp v 5.10 (LIBRADO; ROZAS, 2009) para gerar uma lista de haplótipos de cada base de dados (COI e Região Controle).

### **2.2.5 Identificação molecular**

A identificação dos indivíduos foi realizada comparando as sequências dos haplótipos do gene COI com sequências disponíveis na plataforma pública GenBank (*National Center for Biotechnology Information* - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), através da ferramenta de busca BLASTn (ALTSCHUL et al., 1997) e Plataforma BOLD (*Barcode of Life Database* - <http://www.barcodinglife.org>) (RATNASINGHAM & HEBERT, 2007). Nesta etapa foram admitidos como da mesma espécie, apenas comparações que retornaram com valores de similaridade maiores ou iguais a 99%.

Posteriormente, no programa MEGA11 (TAMURA; STECHER; KUMAR 2021), construiu-se uma árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ) utilizando o modelo de Kimura-2-Parâmetros (K2P), usualmente empregado com a ferramenta DNA Barcode. A significância dos agrupamentos da árvore foi estimada pela análise de Bootstrap, geradas a partir de 1000 pseudorréplicas. Para a construção das árvores foram utilizados os haplótipos de COI de *Mugil liza*, juntamente com uma sequência da espécie retirada do Genbank (JX185140 - SICCHA-RAMIREZ et al., 2014). Foram adicionadas também do GenBank, sequências referência de outros Mugilídeos que ocorrem na costa brasileira: *Mugil trichodon* (JX185178), *Mugil curvidens* (MK838097), *Mugil curema* (JX185198), *Mugil incilis* (JX185180), *Mugil rubrioculos* (JX185214) e

*Mugil brevisrostris* (MK838087), além de duas sequências de *Mugil incilis* coletadas durante o desenvolvimento do presente trabalho.

### **2.2.6 Diversidade Genética e Estrutura Populacional**

No programa ARLEQUIM v. 3.5.2.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010), os haplótipos da Região Controle foram utilizados para estimar o número de sítios polimórficos, diversidade haplotípica ( $H_d$ ) (NEI, 1987) e diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) (NEI, 1987), considerando a população de cultivo e as duas localidades de ambiente natural. Foi utilizado também o programa HAPLOVIER (SALZBURGER et al., 2011) para construir duas redes de haplótipos, a primeira apenas com as sequências geradas da Região Controle, e a segunda, com as sequências geradas e o Banco Referência das demais localidades ao longo do Atlântico Ocidental.

De acordo com o padrão de distribuição dos haplótipos da segunda rede, definimos uma estrutura de três grupos (Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3), considerada para as análises de subestruturação no programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010), representadas pelo teste de AMOVA (Análise de Variância Molecular), com base em 10.000 permutações, e valores de  $F_{ST}$  (WEIR; HILL, 2002), a fim de observar a organização da variância nos grupos estimados.

## **2.3 RESULTADOS**

### **2.3.1 Caracterização das bases de dados**

Foram geradas 170 sequências de tainha, organizadas em duas bases de dados, de acordo com a região genômica amplificada (COI e Região Controle). Para o COI foram obtidas 96 sequências com 604 pb, sendo 63 de reprodutores de cultivo e 33 de ambiente natural (26 de SC e 7 do RJ). Para a Região Controle foram geradas 76 sequências de 650 pb, correspondendo a 43 sequências dos reprodutores de cultivo e 33 de ambiente natural (22 de SC e 11 do RJ).

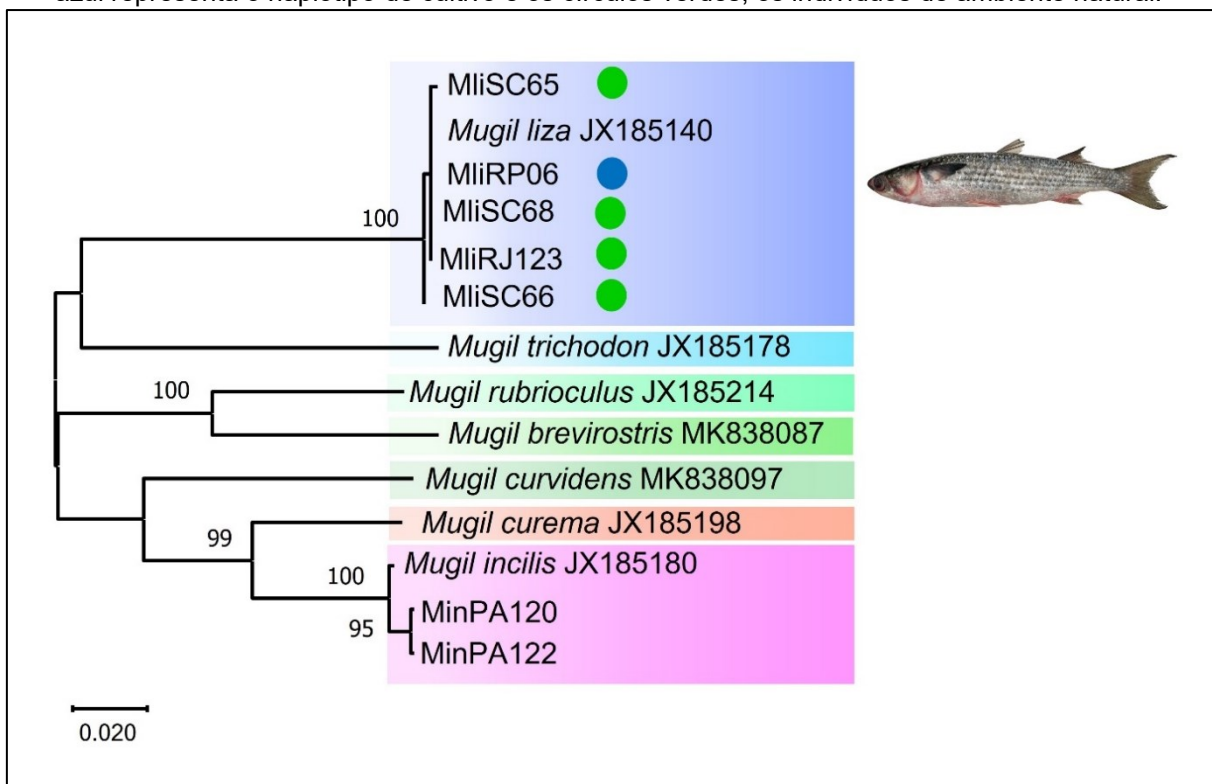
### **2.3.2 Identificação molecular da tainha cultivada e ambiente natural**

Para o gene COI, observou-se um total de 3 haplótipos, considerando as amostras de cultivo e ambiente natural agrupadas. O haplótipo 1 (H1) foi o mais frequente, compartilhado por 94 indivíduos, incluindo indivíduos de cultivo e ambiente

natural do RJ e SC. Os haplótipos 2 e 3 (H2 e H3, respectivamente), cada um com uma sequência, continuam apenas espécimes do ambiente natural de Santa Catarina.

Desta forma, a identificação molecular ocorreu por comparações dos haplótipos de COI (H1, H2 e H3) com sequências do Genbank, admitindo como a mesma espécie as que tivessem 99%-100% de similaridade. Assim, foi possível identificar todas as amostras de tainha coletadas como sendo da espécie *Mugil liza*, confirmando a prévia identificação morfológica. A árvore filogenética (Figura 4) apresentou um clado reunindo os haplótipos de COI, de *M. liza*, deste trabalho, juntamente com a sequência referência de *M. liza* (JX185140) recuperada do banco público, com alto valor de suporte (<99%). Destaca-se que as sequências MliRP06, MliSC68 e MliRJ124, dos três ambientes coletados, compartilham o haplótipo 1 (H1). MliSC65 representa o haplótipo 2 (H2) e MliSC66 representa o haplótipo 3 (H3). A distância intraespecífica no clado *M. liza* variou de 0 a 0,33%.

Figura 4 - Árvore de Agrupamento de Vizinhos (NJ) obtida a partir dos haplótipos do fragmento do gene COI, sequências de *Mugil liza* do Genbank e sequências de espécies do gênero *Mugil*. O círculo azul representa o haplótipo de cultivo e os círculos verdes, os indivíduos de ambiente natural.

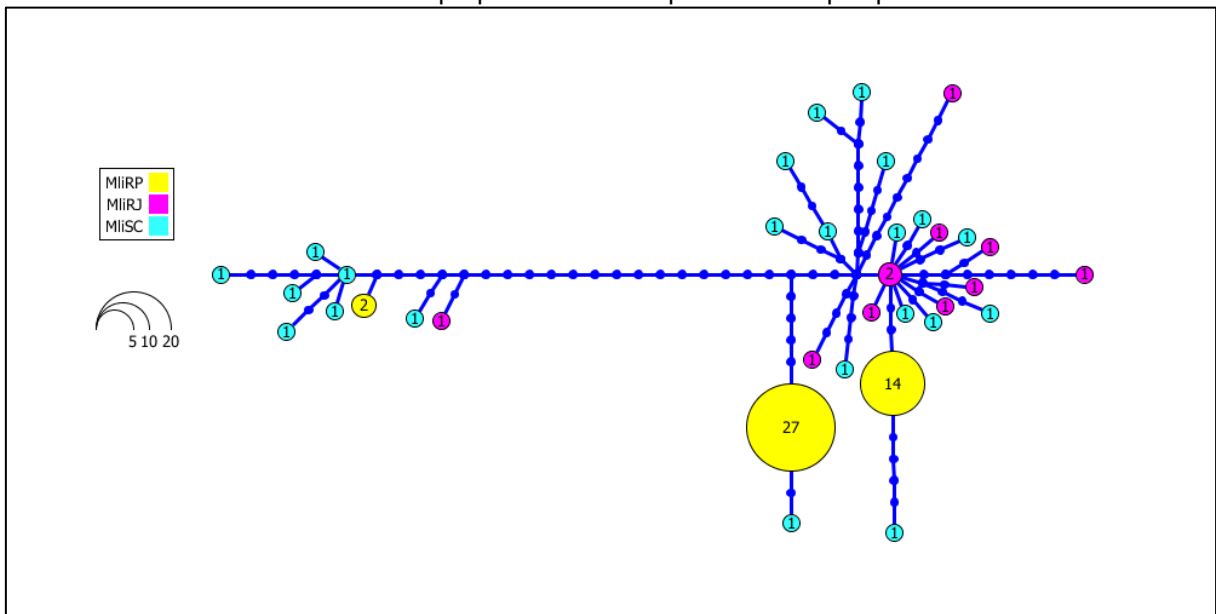


### 2.3.3 Diversidade genética de *Mugil liza*

Os 88 sítios polimórficos observados no fragmento da RC, resultaram em 35 haplótipos para *Mugil liza* de cultivo e ambiente natural. Os mais frequentes foram os

três de cultivo, compartilhados por 27, 14 e 2 indivíduos, respectivamente. Para ambiente natural, 9 haplótipos foram identificados na localidade RJ, com apenas um haplótipo compartilhado por dois espécimes. Para as amostras de Santa Catarina, todos as sequências foram únicas, totalizando 22 haplótipos. Não houve compartilhamento de haplótipos entre os grupos analisados (cultivo e ambiente natural) (Figura 5).

Figura 5 - Rede de haplótipos gerada a partir de sequências da Região controle para *Mugil liza*. Os círculos são proporcionais à frequência de haplótipos.



Para a análise dos bancos combinados, com um total de 115 sequências de 427 pb, os resultados foram gerados para os três grupos pré-definidos. Assim, o Grupo 1 apresenta 28 indivíduos, que compreendeu 22 haplótipos com 33 sítios variáveis. Este grupo, é formado por haplótipos de ambiente natural da costa da Venezuela (6) e do Brasil (RJ=2, SC=9, PA=2, BA=2 e SP=1), assim como haplótipo de reprodutores de cultivo (1). O Grupo 2 apresentou 29 indivíduos, com 3 haplótipos e 17 sítios variáveis, que é formado por haplótipos de ambiente natural do Brasil (RS=1 e SC=1), e haplótipo de cultivo (1). Por fim, o Grupo 3 é o maior dos grupos, formado 58 indivíduos com 44 haplótipos e 17 sítios variáveis. Este grupo possui haplótipos de ambiente natural do Brasil (BA=2, CE=2, RJ=10, SC=27 e SP=1) e haplótipo de cultivo (1) (Figura 6).





Por fim, para o banco combinado, as comparações da Análise de Variância Molecular (AMOVA) mostrou um valor de 65,78%% entre os grupos (GRUPO 1 X GRUPO 2 X GRUPO 3) e 34,22% dentro dos grupos, e valor de  $F_{ST}$  igual 0,65777;  $p=0$ .

## 2.4. DISCUSSÃO

### 2.4.1 Identificação da espécie

Os resultados do presente trabalho mostraram que a espécie que está sendo cultivada no sul do Brasil, corresponde de fato a tainha *Mugil liza*, com 100% das sequências geradas identificadas de forma inequívoca. Isso demonstra a eficiência da ferramenta DNA Barcode (gene COI), comprovando a robustez da ferramenta molecular para identificar Mugilídeos, assim como já documentado para outros grupos de peixes (GOMES et al., 2019, DE CARVALHO, SAMPAIO, SANTOS, 2020; LEA-CHARRIS, LYDA, CASTRO, 2021; DO VALE, et al., 2022). Para a espécie *Mugil liza*, o gene COI já havia sido utilizado a fim identificação (SICCHA-RAMIREZ et al., 2014), assim como para outras espécies de *Mugil*, como Piras et al., (2018) que utilizaram para identificar o comércio de “ovas” de *Mugil cephalus* e *Mugil capurrii* na Itália.

Para o presente trabalho, a ferramenta utilizada foi muito importante, pois problemas de identificação são comuns para o grupo, sendo as espécies do gênero *Mugil* facilmente confundidas e agrupadas como uma só (MENEZES, 1983; MENEZES et al., 2010; SICCHA-RAMIREZ et al., 2014). Na aquicultura, a identificação inequívoca auxilia para que não ocorra o manejo inadequado, como uma dieta não balanceada, densidade de estocagem não ideal (HONORATO, 2019), bem como, evitar cruzamentos entre espécies diferentes para que não sejam geradas progênes híbridas que possam ocasionar danos ambientais e financeiros para o produtor (ALVES et al., 2014) além de danos ao patrimônio genético das espécies.

### 2.4.2 Diversidade genética

Os resultados mostraram que *Mugil liza* apresenta baixa diversidade genética no plantel de criação, com valores inferiores quando comparados as amostras de ambiente natural (RJ+SC). Para *Mugil liza* esse é primeiro trabalho a avaliar a diversidade genética em ambiente de criação. No entanto, para ambiente natural, Heras et al., (2016) utilizando uma região do RNA Thr + RNA Pro + Região controle

do DNA mitocondrial, com um fragmento de 465 pb, encontraram valores semelhantes ( $Hd = 0,986 \pm 0,007$  e  $\pi = 1,26\%$ ) com espécimes de *Mugil liza* de Cuba, Rio Grande do Sul (Brasil), Montevideu (Uruguai) e Argentina.

Os altos índices de diversidade haplotípica encontrados em ambiente natural em nossa pesquisa demonstram um cenário análogo ao encontrado para a região controle de outras espécies de peixes (DUONG et al., 2019; ABDULMALIK-LABE, QUILANG, 2022). A exemplo, Liu, Brown, Yang, (2009), observaram uma diversidade haplotípica alta variando de  $0,8716 \pm 0,1462$  a  $0,9886 \pm 0,0057$  para *Mugil cephalus*, utilizando um fragmento de 389 pb da região controle para peixes de ambiente natural no Mar da China. A diversidade genética encontrada em ambiente natural, já é discutida para peixes migradores, inclusive para *Mugil liza* (HERAS et al., 2016), que é uma espécie migradora não obrigatória (FORTUNATO et al. 2017). Assim, estudos demonstraram que espécies migradoras em ambiente natural apresentam elevados índices de diversidade resultantes do fluxo gênico dessas espécies ao longo de sua dispersão (SANTOS et al., 2007; RAHIMI-P et al., 2016).

Na aquicultura, a domesticação consiste em adaptar continuamente um lote de peixes às condições de criação, com o objetivo final de modificar, gerações após gerações, características selecionadas para produzir, na maioria das vezes, indivíduos mais produtivos e eficientes (OLESEN et al., 2015; HOUSTON et al., 2020). Assim, a criação da tainha *Mugil liza* tem caracterizado a fase inicial de domesticação da espécie, sendo nos últimos anos amplamente estudada no Brasil nos diversos aspectos da biologia e criação (MAGNOTTI et al., 2020, ANGELO et al., 2021, DA ROCHA et al., 2022; DE MELO ARYES et al., 2022).

A domesticação é relativamente recente, com 97% das espécies aquáticas cultivadas tendo começado apenas no século XX. No entanto, existem evidências de degradação genética desses recursos em alguns sistemas de abastecimento de formas jovens, devido ao mau manejo genético e à falta de aplicação dos princípios básicos da genética (FAO, 2022). Assim, os presentes dados já demonstram que *Mugil liza* de cultivo tem baixa diversidade em relação aos indivíduos de ambiente natural, bem como outros trabalhos com peixes cultivados (DUONG et al., 2019).

Nesse contexto, é importante salientar para a formação inicial do plantel de *Mugil liza* do LAPMAR. Do total dos 63 espécimes coletados de criação, atualmente, a minoria proveu de ambiente natural, coletas em Laguna (SC) (CARVALHO et al.,

2019) e Ilha do Xavier (SC), no Sul do Brasil, e a maioria que representava mais da metade das amostras, vieram da própria reprodução em laboratório. Ressalta-se ainda que na ocasião da coleta, os reprodutores não estavam marcados ou “chipados”, impossibilitando associar cada indivíduo a sua origem, tal fato torna a possibilidade maior de haver endocruzamento (HILSDORF & ORFÃO, 2011).

Igualmente, o fato de existir um único centro de distribuição com número limitado de reprodutores pode ocasionar endogamia, diminuição do desempenho e da diversidade, por isso é urgente que seja realizado metodologias de seleção de parentais e renovação de matrizes (FAO, 2019). No presente caso, este controle é fundamental para *Mugil liza*, uma vez que o LAPMAR é o único laboratório com reprodutores ativos fornecendo alevinos da espécie no país.

Ressalta-se ainda que não houve compartilhamento de haplótipos entre os grupos analisados (cultivo e ambiente natural) (Figura 5). Sendo haplótipos de cultivo restritos ao plantel, o que indica também que a baixa diversidade genética pode ter ocorrido por um Efeito fundador na formação do estoque de reprodutores, processo no qual se perde boa parte da variação genética do estoque, antes mesmo da geração F1 (HILSDORF & ORFÃO, 2011). É importante salientar, que é provável que com uma amostragem maior em ambiente natural, seria possível encontrar os haplótipos que originaram o atual plantel de *Mugil liza* de cultivo.

Por fim, considerando tais achados e características, e tendo em vista a necessidade de um manejo adequado dos reprodutores, recomenda-se a manutenção de um número efetivo de reprodutores e a inserção de novos exemplares de *Mugil liza* de ambiente natural no atual plantel. Podendo inclusive, no presente caso, inserir indivíduos de ambientes naturais próximo ao cultivo da costa do Estado de Santa Catarina, Brasil, considerando que nesse ambiente a diversidade genética foi extremamente alta. Além disso, faz-se necessário a marcação/chipagem dos reprodutores e executar estudos que vissem caracterizar as relações de parentesco consanguíneo dos exemplares a fim de selecionar futuros cruzamentos não endogâmicos.

#### **2.4.3 Estrutura populacional**

O presente estudo evidenciou que os espécimes de *Mugil liza* apresentam-se em três grupos na rede de haplótipos a partir das sequências geradas com o banco

referência. Os grupos eram compostos por indivíduos da costa da Venezuela e do Brasil (PA, SC, RJ, CE, BA, SP e RS). Destaca-se que o Grupo 1 apresentou haplótipos exclusivos das localidades de Venezuela (VE) e Pará (PA), inclusive com um haplótipo compartilhado, o Grupo 2 apresentou haplótipos exclusivos do Rio Grande do Sul (RS) e o Grupo 3 apresentou haplótipos exclusivos do Ceará (CE). Os haplótipos da Bahia (BA), Rio de Janeiro (RJ) e São Paulo (SP), estavam presentes no Grupo 1 e Grupo 3. Os haplótipos de Santa Catarina (SC) e dos Reprodutores de cultivo estavam presente nos três grupos (1,2 e 3).

Os valores da AMOVA foram de 65,78% entre os grupos (Grupo 1 X Grupo 2 X Grupo 3) e de 34,22% dentro dos grupos, mostrando que há subestruturação do estoque de *Mugil liza* analisada. O valor de  $F_{ST}$  foi igual 0,65777 ( $p=0$ ), valor significativo, corroborando a AMOVA. Nesse contexto, a literatura tem mostrado estudos importantes que visam a estrutura populacional de *Mugil liza*, utilizando tanto o uso de marcadores mitocondriais quanto nucleares (SICCHA-RAMIREZ et al., 2014, MAI et al., 2014, HERAS et al., 2016, AGUIRRE-PABON; BERDUGO; NARVAEZ, 2022).

Inicialmente, Siccha-Ramirez et al. (2014) ao testarem a hipótese de que *Mugil liza* estava amplamente distribuída na Costa Atlântica do Sul do Caribe e da América do Sul utilizou seis marcadores mitocondriais: o rDNA12S, o rDNA16S, o ATPase 6, o ATPase 8, o COI e o Citocromo B. Deste modo, as análises demonstraram a ampla distribuição da espécie em todo o Brasil (N, NE, SE, S) à Argentina, e sugeriu ainda que os espécimes pertenciam a uma única população.

Ao contrário, Mai et al. (2014) ao analisar espécimes de *Mugil liza* ( $n=250$ ) da Costa Brasileira (RJ, SP, SC e RS) e da Argentina, utilizando nove loci microssatélites (Locus Muce9, Mcs17fm, Mcs16dm, Mcs2dm Mce-11 Mce-14 Mce-24 Mce-27 Mce-4) identificaram duas populações. A primeira com indivíduos apenas do estado do RJ e a segunda com indivíduos de SP até a Argentina. Assim, apenas as amostras de *Mugil liza* de Niterói (RJ) diferem significativamente de todas as outras amostras da costa do Atlântico Sul brasileiro e da Argentina. Heras et al. (2016), usando dados mitocondriais, sugerem também a divisão de duas populações de *Mugil liza*, e que a espécie se estende de Cuba a Argentina, sendo o Rio de Janeiro possivelmente o marco de divisão.

Recentemente, Aguirre-Pabon, Berdugo, Narvaez (2022) analisaram a diversidade genética, a estrutura populacional e conectividade de *Mugil liza* na Colômbia, onde a espécie é considerada ameaçada. Os autores utilizaram nove loci microssatélites (Mcs15cm, Mcs1eh, Mcs16dm, Mcs15am, Mce2, Mce11, mce24, Mce3, Mce7) em quatro pontos de amostragem no litoral colombiano. Os resultados indicaram baixa diversidade genética e alta endogamia com todos os locus avaliados. Os autores defendem a existência de duas populações que não mostram uma relação clara com a distribuição.

Nesse contexto, a subestruturação do estoque de *Mugil liza* observada pelo presente trabalho vai de encontro aos dados de Mai et al. (2014), Heras et al. (2016) e Aguirre-Pabon, Berdugo, Narvaez (2022), os quais já evidenciaram a subestruturação da espécie. No entanto, o padrão de formação dos grupos no presente trabalho pode estar tendenciado ao comportamento da espécie como sugerido para *Mugil liza* na Colômbia (AGUIRRE-PABON; BERDUGO; NARVAEZ, 2022), e não apenas a distribuição por localidades como proposto por Mai et al. (2014), ou ainda, a aparente subestruturação aqui observada, seja apenas um artifício da amostragem heterogênea ao longo do Atlântico ocidental. É possível que com o aumento da amostragem, um padrão de conectividade seja revelado.

Observa-se que os trabalhos sobre a estrutura populacional de *Mugil liza* não contemplaram uma ampla amostragem ao longo da distribuição da espécie (MAI et al., 2014, HERAS et al., 2016, AGUIRRE-PABON; BERDUGO; NARVAEZ, 2022). A exemplo, o trabalho de Mai et al. (2014) possuía apenas amostras do Sudeste e Sul do Brasil (RJ, SP, SC e RS) a Argentina. Heras et al. (2016), com amostras de Cuba, Rio Grande do Sul (Brasil) e Argentina, com longos trechos sem amostragem de um ponto ao outro. E Aguirre-Pabon, Berdugo, Narvaez (2022) apenas com espécimes da Colômbia.

Ressalta-se que o presente trabalho foi o único para *Mugil liza* que teve uma amostragem mais bem distribuída na costa brasileira, incluindo amostras do Pará, Ceará, Bahia, São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, além de amostras da Venezuela. No entanto, seria necessária uma abordagem direcionada para a estrutura populacional de *Mugil liza*, com número padronizado de amostras e por combinação de marcadores mitocondriais e nucleares, ao longo de toda a distribuição da espécie, a fim de esclarecer melhor os padrões de subestruturação observados.

## 2.5 CONCLUSÕES

- Os resultados do presente trabalho mostraram que a espécie cultivada no sul do Brasil, correspondia de fato a *Mugil liza*. O que evidenciou também a eficiência do gene COI para a identificação inequívoca da espécie.
- O presente trabalho demonstrou baixa diversidade genética dos estoques de reprodutores de *Mugil liza* cultivados e alta diversidade nos ambientes naturais (RJ e SC).
- A região controle de *Mugil liza* dos ambientes analisados mostrou um indício de subestruturação do estoque da espécie em três grupos, apoiado pelos testes de AMOVA e FST, sem um padrão de distribuição definido.

## 2.6 REFERÊNCIAS

ABDULMALIK-LABE, Onaya P.; QUILANG, Jonas P. Genetic diversity of lacustrine populations of the snakehead gudgeon *Giuris laglaizei* (Gobiiformes: Eleotridae) in the Philippines based on mitochondrial DNA control region. **Biologia**, p. 1-13, 2022.

ALTSCHUL, S. F., MADDEN, T. L., SCHÄFFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., & LIPMAN, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic acids research**, 25(17), 3389-3402, 1997.

ALVES, A. L., VARELA, E. S., MORO, G. V., & KIRSCHNIK, L. G. Riscos genéticos da produção de híbridos de peixes nativos. 2014.

ANGELO, M., LISBOA, M. K., MAGNOTTI, C. C. F., PILOTTO, M. R., MATTOS, J. J., & CERQUEIRA, V. R. (2021). Temperature influence on the embryogenesis, survival and initial development of *Mugil liza* larvae. *Aquaculture Research*, v. 52, n. 8, p. 3705-3712, 2021.

AGUIRRE-PABON, Juan C.; BERDUGO, Gilberto Orozco; NARVÁEZ, Juan C. Population structure and low genetic diversity in the threatened lebranche *Mugil liza* in the Colombian Caribbean. **Fisheries Research**, v. 256, p. 106485, 2022.

CARVALHO, C. V. A. D., PASSINI, G., STERZELECKI, F. C., BALOI, M. F., & CERQUEIRA, V. R. Maturation, spawning and larviculture of the mullet *Mugil liza* under laboratory conditions. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 43(1), 31-36, 2019.

CERQUEIRA, V. R., CARVALHO, C. V. C., SANCHES, E. G., PASSINI, G., BALOI, M., & RODRIGUES, R. V. Manejo de reprodutores e controle da reprodução de peixes marinhos da costa brasileira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 41(1), 94-102, 2017.

CERVIGÓN, F. Los Peces Marinos de Venezuela. V.II, 2nd edn. **Fundación Científica Los Roques**, Caracas, Venezuela. 1993.

CERVIGÓN, F., CAPRIANI, F., FISCHER, W., GARIBALDI, L., HENDRICKX, M., LEMUS, A. J., MÁRQUEZ, R., POUTIERS, J. M., ROBAINA, G., RODRIGUEZ, B. FAO species identification sheets for fishery purposes. Field guide to the commercial marine and brackishwater resources of the northern coast of South America, **FAO**, Rome. 1993.

DA ROCHA, A. F., BARBOSA, V. M., WASIELESKY JR, W., ABREU, P. C., LISBOA, V., CAVALLI, L., & TESSER, M. B. Water quality and juvenile development of mullet *Mugil liza* in a biofloc system with an additional carbon source: Dextrose, liquid molasses or rice bran?. **Aquaculture Research**, 53(3), 870-883, 2022.

DE CARVALHO, S. C., SAMPAIO, I., & SANTOS, S. (2020). DNA barcoding reveals mislabeling and commercial fraud in the marketing of fillets of the genus *Brachyplatystoma* Bleeker, 1862, the Amazonian freshwater catfishes economically important in Brazil. **Heliyon**, 6(9), e04888.

DE MELLO AYRES, T. S., CHRIST-RIBEIRO, A., FURLONG, E. B., MONSERRAT, J. M., & TESSER, M. B. Use of defatted fermented rice bran in the diet of juvenile mullets *Mugil liza*. **Aquaculture**, 554, 738108, 2022.

DO VALE, B. A., BARBOSA, A. J., SAMPAIO, I., & SANTOS, S. (2022). Substituições fraudulentas e economicamente motivadas de pescadas da família Sciaenidae na região metropolitana de Belém, Pará. **Research, Society and Development**, 11(9), e43811931983-e43811931983.

DUONG, T. Y., UY, S., CHHENG, P., SO, N., TRAN, T. H. T., NGUYEN, N. T. T., ... & EGNA, H. (2019). Genetic diversity and structure of striped snakehead (*Channa striata*) in the Lower Mekong Basin: Implications for aquaculture and fisheries management. **Fisheries Research**, 218, 166-173.

EMBRAPA. Genética na piscicultura: Importância da variabilidade genética, marcação e coleta de DNA. 1º Edição, Brasília-DF. 32p, 2012.

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**, v.10 p.564-567, 2010.

FAO. The State Of The World's Aquatic Genetic Resources For Food And Agriculture. 2019.

FAO. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Mugil cephalus*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Saleh, M.A. In: **FAO Fisheries Division [online]**. Rome. Updated 7 April 2006. [Cited 15 March 2021]. 2021.

FAO. Global Plan of Action for the Conservation, Sustainable Use and Development of Aquatic Genetic Resources for Food and Agriculture. **Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rome. 2022.

FILHO, K. C. M., TESSER, M. B., SAMPAIO, L.A. GODINHO, H. M. Tainha. In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ªed. rev. e ampl. – **Santa Maria. Editora UFMS**. 608p. 2013.

FORTUNATO, R. C., GONZÁLEZ-CASTRO, M., GALÁN, A. R., ALONSO, I. G., KUNERT, C., DURÀ, V. B., & VOLPEDO, A. (2017). Identification of potential fish stocks and lifetime movement patterns of *Mugil liza* Valenciennes 1836 in the Southwestern Atlantic Ocean. **Fisheries Research**, 193, 164-172, 2017.

FRAGA, E. Filogenia molecular de mugilídeos e análise populacional em *Mugil* (*M. cephalus*, *M. liza* e *M. platanus*). **Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular)**. Universidade federal do Pará (UFPA), 2005.

GOMES, G., CORREA, R., VENEZA, I., DA SILVA, R., DA SILVA, D., MIRANDA, J., & SAMPAIO, I. (2019). Forensic analysis reveals fraud in fillets from the “Gurijuba” *Sciades parkeri* (Ariidae–Siluriformes): a vulnerable fish in brazilian coastal Amazon. **Mitochondrial DNA Part A**, 30(5), 721-729.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: **Nucleic acids symposium series**. p. 95-98, 1999.

HERAS, Sandra et al. Shaken not stirred: A molecular contribution to the systematics of genus *Mugil* (Teleostei, Mugilidae). **Integrative Zoology**, v. 11, n. 4, p. 263-281, 2016.

HILSDORF, A. W. S.; ORFÃO, L. H. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. supl., p. 317-324, 2011.

HOUSTON, Ross D. et al. Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. **Nature Reviews Genetics**, v. 21, n. 7, p. 389-409, 2020.

LEA-CHARRIS, E., CASTRO, L. R., & VILLAMIZAR, N. (2021). DNA barcoding reveals fraud in commercial common snook (*Centropomus undecimalis*) products in Santa Marta, Colombia. **Heliyon**, 7(5), e07095.

LIND, C. E.; PONZONI, R. W.; NGUYEN, N. H.; KHAW, H. L. Selective breeding in fish and conservation of genetic resources for aquaculture. **Reproduction in domestic animals**, v. 47 Suppl 4, p. 255–63, 2012.

LIBRADO, P., & ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25(11), 1451-1452, 2009.

LIU, Jian-Yong; BROWN, Christopher L.; YANG, Ting-Bao. Population genetic structure and historical demography of grey mullet, *Mugil cephalus*, along the coast of China, inferred by analysis of the mitochondrial control region. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, n. 5, p. 556-566, 2009.

MAI, A. C., MINO, C. I., MARINS, L. F., MONTEIRO-NETO, C., MIRANDA, L., SCHWINGEL, P. R., ... & VIEIRA, J. P. (2014). Microsatellite variation and genetic



structuring in *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) populations from Argentina and Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 149, 80-86, 2014.

MAGNOTTI, C. C., dos Santos CIPRIANO, F., PEDROTTI, F. S., & CERQUEIRA, V. R. Advances in reproduction of the lebranche mullet *Mugil liza*: maturation and spawning of f1 breeders in captivity. **Boletim do Instituto de Pesca**, 46(3), 2020.

MENEZES, Naércio Aquino. Guia prático para conhecimento e identificação das tainhas e paratis (Pisces, Mugilidae) do litoral brasileiro. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 1983.

MENEZES, Naercio A.; OLIVEIRA, C. de; NIRCHIO, Mauro. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). **Zootaxa**, v. 2519, n. 1, p. 59-68, 2010.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório do grupo técnico de trabalho para avaliação das cotas de tainha para a temporada de pesca de 2021: Análise exploratória e comparativa dos dados do SIGSIF, COMEX STAT, PMAPs e SISTAINHA, e recomendações para o processo de gestão por cotas de captura. 2021.

NEI, M., Molecular Evolutionary Genetics. **New York: Columbia University Press**, 1987.

OLESEN, Ingrid et al. Can the global adoption of genetically improved farmed fish increase beyond 10%, and how?. *Journal of Marine Science and Engineering*, v. 3, n. 2, p. 240-266, 2015.

PAITHANKAR, K.R., PRASAD, K.S.N. (1991). Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. **Nucleic Acids Res.** 19, 1346.

PIRAS, P., SARDU, F., MELONI, D., RIINA, M. V., BELTRAMO, C., & ACUTIS, P. L. (2018). A case study on the labeling of bottarga produced in Sardinia from ovaries of grey mullets (*Mugil cephalus* and *Mugil capurrii*) caught in Eastern Central Atlantic coasts. **Italian journal of food safety**, 7(1).

RATNASINGHAM, S., & HEBERT, P. D. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Resources*, 7(3), 355-364, 2007.

RAHIMI, P., REZVANI GILKOLAIE, S., GHAVAM MOSTAFAVI, P., JAMILI, S., & RAHNEMA, M. Population genetic structure of the white sardine, *Sardinella albella*, in the Persian Gulf and Sea of Oman by analysis of mitochondrial control region. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, v. 15, n. 3, p. 995-1008, 2016.

SALZBURGER, W., EWING, G. B., VON, H. A. The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migrations. **Molecular Ecology**. v. 20, p. 1952-1963, 2011.

SANGER, F., NICKLEN, S., & COULSON, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, n. 12, p. 5463-5467.

SANTOS, M. da CF; RUFFINO, M. L.; FARIAS, I. P. High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in the main channel of the Amazon River. **Journal of Fish Biology**, v. 71, p. 33-44, 2007.

SANTOS, C. H. A., SANTANA, G. X., SÁ LEITÃO, C. S., PAULA-SILVA, M. N., & ALMEIDA-VAL, V. M. F. Loss of genetic diversity in farmed populations of *Colossoma macropomum* estimated by microsatellites. **Animal Genetics**, 47(3), 373-376. 2016.

SICCHA-RAMIREZ, R., MENEZES, N. A., NIRCHIO, M., FORESTI, F., & OLIVEIRA, C. Molecular identification of mullet species of the Atlantic South Caribbean and South America and the phylogeographic analysis of *Mugil liza*. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, 22(1), 86-96, 2014.

TAMURA, K., STECHER, G., & KUMAR, S.. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, 38(7), 3022-3027, 2021.

TOOMEY, L., DELLICOUR, S., VANINA, T., PEGG, J., KACZKOWSKI, Z., KOUŘIL, J., ... & LECOCQ, T. Getting off on the right foot: integration of spatial distribution of genetic variability for aquaculture development and regulations, the European perch case. **Aquaculture**, 521, 2020.

UNIVALI. Projeto de Cooperação Técnica PCT/BRA/IICA/16/001 - “Modernização Estratégica” MAPA. Relatório Técnico de Avaliação do Estoque da Tainha (*Mugil liza*) no Sudeste e Sul do Brasil, 2020.

VARELA, E. S., ALVES, A. L., BARROSO, A. D. S., & TARDIVO, T. F. Parentesco genético em reprodutores de tambaqui (*Colossoma macropomum*) baseado em marcadores de DNA: perspectivas de manejo genético na ausência de pedigree. **Embrapa Pesca e Aquicultura-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2015.

WARD, R. D., ZEMLAK, T. S., INNES, B. H., LAST, P. R., & HEBERT, P. D. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, 360(1462), 1847-1857, 2005.

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho mostrou-se muito importante pois evidenciou a baixa diversidade dos reprodutores de *Mugil liza* cultivados no Brasil, em comparação os estoques selvagens. Isso comprova a necessidade de um manejo genético efetivo, sugerindo-se a coleta de novos espécimes para incluir no plantel atual. Podendo inclusive ser indivíduos presentes na costa do estado de Santa Catarina, considerando que a população natural, independentemente da localização geográfica, apresentou alta diversidade haplotípica. Além disso, os achados sugerem indícios de subestruturação para o estoque de *Mugil liza*, apoiado pelos testes de AMOVA e FST, sem um padrão de distribuição definido, aparentemente com as subpopulações apresentando distribuição simpátricas, sendo necessário estudos mais robustos a fim de esclarecer melhor o padrão de estrutura genética da espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- ANDREATTA ER, ROCHA IP, RORDIRGUES JBR. Ensaio sobre desova induzida de tainha, *Mugil brasiliensis* Spix et Agassiz (1931). In: Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 2, 1981, Recife. Anais... Recife: AEP-PE, 1981. p. 463-468.
- AGUIRRE-PABON, Juan C.; BERDUGO, Gilberto Orozco; NARVÁEZ, Juan C. Population structure and low genetic diversity in the threatened lebranche *Mugil liza* in the Colombian Caribbean. **Fisheries Research**, v. 256, p. 106485, 2022.
- BENETTI DD, FAGUNDES NETTO EB. Considerações sobre desova e alevinagem da tainha (*Mugil Liza Valenciennes*, 1836). Rio de Janeiro: **Instituto de Pesquisas da Marinha**, v.135, 26 p., 1980.
- BRASIL 2009. LEI Nº 11.959, DE 29 DE JUNHO DE 2009. Dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca, regula as atividades pesqueiras, revoga a Lei no 7.679, de 23 de novembro de 1988, e dispositivos do Decreto-Lei no 221, de 28 de fevereiro de 1967, e dá outras providências. Brasília: Diário Oficial da União.
- CARVALHO, C. V. A. D., PASSINI, G., STERZELECKI, F. C., BALOI, M. F., & CERQUEIRA, V. R. Maturation, spawning and larviculture of the mullet *Mugil liza* under laboratory conditions. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 43(1), 31-36, 2019.
- CASTRO, González M. et al. Assessing species validity of *Mugil platanus* Günther, 1880 in relation to *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 (Actinopterygii). **Italian Journal of Zoology**, v. 75, n. 3, p. 319-325, 2008.
- CERQUEIRA, V. R., CARVALHO, C. V. C., SANCHES, E. G., PASSINI, G., BALOI, M., & RODRIGUES, R. V. Manejo de reprodutores e controle da reprodução de peixes marinhos da costa brasileira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 41(1), 94-102, 2017.
- CERVIGÓN, F. Los Peces Marinos de Venezuela. V.II, 2nd edn. **Fundación Científica Los Roques**, Caracas, Venezuela. 1993.
- CERVIGÓN, F., CAPRIANI, F., FISCHER, W., GARIBALDI, L., HENDRICKX, M., LEMUS, A. J., MÁRQUEZ, R., POUTIERS, J. M., ROBAINA, G., RODRIGUEZ, B. FAO species identification sheets for fishery purposes. Field guide to the commercial marine and brackishwater resources of the northern coast of South America, **FAO**, Rome. 1993.
- COUSSEAU, M.B., CASTRO, M.G., FIGUEROA, D.E. & GOSZTONYI, A.E. (2005) Does *Mugil liza* Valenciennes 1836 (Teleostei Mugiliformes) occur in Argentinean waters? *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 40(2), 133–140.
- DE VASCONCELLOS, Anderson Vilasboa et al. Genetic connectivity of mullets (*Mugil liza*) between Rodrigo de Freitas lagoon and a conservation unit in State of Rio de Janeiro, southeastern Brazil. **Oecologia Australis**, v. 25, n. 3, p. 757-762.

DUONG, T. Y., UY, S., CHHENG, P., SO, N., TRAN, T. H. T., NGUYEN, N. T. T., ... & EGNA, H. (2019). Genetic diversity and structure of striped snakehead (*Channa striata*) in the Lower Mekong Basin: Implications for aquaculture and fisheries management. **Fisheries Research**, 218, 166-173.

DURAND, J.-D. et al. DNA barcoding grey mullets. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 27, n. 1, p. 233-243, 2017.

EMBRAPA, 2012. Genética na piscicultura: Importância da variabilidade genética, marcação e coleta de DNA. 1º Edição, Brasília-DF. 32p.

FAO. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Mugil cephalus*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Saleh, M.A. In: **FAO Fisheries Division [online]**. Rome. Updated 7 April 2006. [Cited 15 March 2021]. 2021.

FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, **FAO**. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.

FILHO, K. C. M., TESSER, M. B., SAMPAIO, L.A. GODINHO, H. M. Tainha. In: Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ªed. rev. e ampl. – **Santa Maria. Editora UFMS**. 608p. 2013.

FORTUNATO, R. C., GONZÁLEZ-CASTRO, M., GALÁN, A. R., ALONSO, I. G., KUNERT, C., DURÀ, V. B., & VOLPEDO, A. (2017). Identification of potential fish stocks and lifetime movement patterns of *Mugil liza* Valenciennes 1836 in the Southwestern Atlantic Ocean. **Fisheries Research**, 193, 164-172, 2017.

FRAGA, E.H., Schneider Nirchio, M., Santa Brígida, E., Rodrigues Filho, L.F. & Sampaio, I. (2007) Molecular phylogenetic analysis of mullets (Mugilidae) based on two mitochondrial genes. **Journal of Applied Ichthyology**, 23(5), 598–604.

GIOMBELLI-DA-SILVA, A.; MONTEIRO-NETO, C.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M. A new perspective of *Mugil liza*: The fast growth in an impacted subtropical bay. **Regional Studies in Marine Science**, v. 48, p. 102008, 2021.

GODINHO HM, KAVAMOTO ET, ANDRADE-TALMELLI EF, SERRALHEIRO PCS, PAIVA P, FERRAZ EM. Induced spawning of the mullet *Mugil platanus* GUNTHER, 1880, in Cananéia, São Paulo, Brazil. **Bol Inst Pesca**, v.20, 59-66, 1993.

GONZÁLEZ CASTRO, M., ABACHIÁN, V., & PERROTTA, R. G. Age and growth of the striped mullet, *Mugil platanus* (Actinopterygii, Mugilidae), in a southwestern Atlantic coastal lagoon (37° 32' S–57° 19' W): a proposal for a life-history model. **Journal of Applied Ichthyology**, 25(1), 61-66, 2009.

HERAS, S., Roldán, M.I. & Castro, M.G. (2009) Molecular phylogeny of Mugilidae fishes revised. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 19, 217–231.

HERAS, Sandra et al. Shaken not stirred: A molecular contribution to the systematics of genus *Mugil* (Teleostei, Mugilidae). **Integrative Zoology**, v. 11, n. 4, p. 263-281, 2016.

HEBERT, P. D., CYWINSKA, A., & BALL, S. L. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.

LIND, C. E.; PONZONI, R. W.; NGUYEN, N. H.; KHAW, H. L. Selective breeding in fish and conservation of genetic resources for aquaculture. **Reproduction in domestic animals**, v. 47 Suppl 4, p. 255–63, 2012.

MAGNOTTI, C. C., dos Santos CIPRIANO, F., PEDROTTI, F. S., & CERQUEIRA, V. R. Advances in reproduction of the lebranche mullet *Mugil liza*: maturation and spawning of f1 breeders in captivity. **Boletim do Instituto de Pesca**, 46(3), 2020.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório do grupo técnico de trabalho para avaliação das cotas de tainha para a temporada de pesca de 2021: Análise exploratória e comparativa dos dados do SIGSIF, COMEX STAT, PMAPs e SISTAINHA, e recomendações para o processo de gestão por cotas de captura. 2021.

MAI, Ana CG et al. Microsatellite variation and genetic structuring in *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) populations from Argentina and Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 149, p. 80-86, 2014.

MENEZES, Naércio Aquino. Guia prático para conhecimento e identificação das tainhas e paratis (Pisces, Mugilidae) do litoral brasileiro. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 1983.

MENEZES, N.A. e FIGUEIREDO, J.L. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil V. Teleostei (4). São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 105p, 1985.

MENEZES, Naercio A.; OLIVEIRA, C. de; NIRCHIO, Mauro. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). **Zootaxa**, v. 2519, n. 1, p. 59-68, 2010.

MORADO, C. N., DE ANDRADE-TUBINO, M. F., & ARAÚJO, F. G. Local ecological knowledge indicates: There is another breeding period in the summer for the mullet *Mugil liza* in a Brazilian tropical bay. *Ocean & Coastal Management*, 205, 105569. 2021.

RODRIGUES-FILHO, Luis Fernando S. et al. Polymerase chain reaction banding patterns of the 5S rDNA gene as a diagnostic tool for the discrimination of South American mullets of the genus *Mugil*. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 8, p. 1117-1122, 2011.

SANTOS, C. H. A., SANTANA, G. X., SÁ LEITÃO, C. S., PAULA-SILVA, M. N., & ALMEIDA-VAL, V. M. F. Loss of genetic diversity in farmed populations of *Colossoma macropomum* estimated by microsatellites. **Animal Genetics**, 47(3), 373-376. 2016.

SICCHA-RAMIREZ, R., MENEZES, N. A., NIRCHIO, M., FORESTI, F., & OLIVEIRA, C. Molecular identification of mullet species of the Atlantic South Caribbean and South America and the phylogeographic analysis of *Mugil liza*. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, 22(1), 86-96, 2014.

THOMSON, J.M. The Mugilidae of the world. *Memoirs of the Queensland Museum*, 41(3), 457–562, 1997.

TOOMEY, L., DELLICOUR, S., VANINA, T., PEGG, J., KACZKOWSKI, Z., KOUŘIL, J., ... & LECOCQ, T. Getting off on the right foot: integration of spatial distribution of genetic variability for aquaculture development and regulations, the European perch case. **Aquaculture**, 521, 2020.

VARELA, E. S., ALVES, A. L., BARROSO, A. D. S., & TARDIVO, T. F. Parentesco genético em reprodutores de tambaqui (*Colossoma macropomum*) baseado em marcadores de DNA: perspectivas de manejo genético na ausência de pedigree. **Embrapa Pesca e Aquicultura-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2015.