

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 24/08/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional
Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Variabilidade genética de bagres marinhos dos gêneros *Cathorops* e *Genidens* (Siluriformes: Ariidae) no oceano Atlântico Ocidental

Najila Nolie Catarine Dantas Cerqueira

Botucatu - SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional
Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Variabilidade genética de bagres marinhos dos gêneros *Cathorops* e *Genidens* (Siluriformes: Ariidae) no oceano Atlântico Ocidental

Aluna: Najila Nolie Catarine Dantas Cerqueira

Orientador: Dr. Claudio de Oliveira

Coorientador: Dr. Alexandre Pires Marцениuk e
Dra. Vanessa Paes da Cruz

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para a obtenção do título de Doutor.

Botucatu - SP

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cerqueira, Najila Nolie Catarine Dantas.

Variabilidade genética de bagres marinhos dos gêneros
Cathorops e *Genidens* (Siluriformes: Ariidae) no oceano
Atlântico Ocidental / Najila Nolie Catarine Dantas
Cerqueira. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Claudio Oliveira
Coorientador: Alexandre Pires Marceniuk
Coorientador: Vanessa Paes da Cruz
Capes: 20204000

1. Bagre (Peixe) - População. 2. Peixe - Genética.
3. Genômica. 4. Polimorfismo de nucleotídeo único.

Palavras-chave: Bagres marinhos; Genômica populacional;
SNPs; ddRad.

“O medo é uma emoção. A Fé é uma atitude e uma escolha.”

Mark Finley

Dedico este estudo a todos os cientistas e apreciadores de peixes.

AGRADECIMENTOS

Quão gratificante foi chegar até aqui, mais claro, nunca concluiria esta interessante pesquisa sozinha, pois primeiramente agradeço a Deus por ter sido meu Tudo e Meu baluarte quando as muitas análises realizadas até aqui não davam muito certo, foi em Deus que obtive paz, fé e sabedoria.

Agradeço a minha família, meu esposo Júlio que sempre se mostrou tão parceiro e amoroso em todas as etapas conquistadas, a minha mamãe poderosa Acácia que mesmo longe não media esforços para estar sempre presente em meio de orações, palavras inspiradoras e muito amor, e a todos da minha família em Porto Velho (RO) que sempre apoiaram e vibraram pela obtenção deste título tão sonhado.

Agradeço ao meu orientador Dr. Claudio Oliveira por ser um homem tão brilhante e gentil, por sempre estar disposto discutir e encontrar soluções para as muitas perguntas nestes anos de orientação, minha eterna gratidão por sua confiança. Também tive ao meu lado excelente coorientadores, agradeço ao Dr. Alexandre P. Marceniuk pelo seu vasto conhecimento taxonômico e sua paciência ao me ensinar, e claro as muitas coletas realizadas, a Dra Vanessa P. da Cruz por mostrar que podemos realizar tudo aquilo que almejamos, basta acreditar que dará certo, a sua resiliência em ensinar e não medir esforços e criatividade para que eu pudesse entender e realizar da melhor forma tudo aquilo que havia estudado e realizado, muito obrigada.

Ao professor Dr. Fausto Foresti que sempre esteve conosco nos auxiliando com suas ideias e opiniões geniais que só ele consegue ver e nos permitir abrir a mente, pelos doces momentos juntos ao café e as boas risadas vividas, muito obrigada professor ser um homem tão especial.

Ao Me. Matheus M. Rotundo pela imprescindível colaboração nas coletas, identificação dos espécimes e as belas imagens, obrigada. Não poderia deixar de agradecer aos pescadores envolvidos nas coletas e as demais colaborações a Dr. Camila Mazzoni (BEGNDIV) por nos apresentar ao mundo da bioinformática.

As agências de fomento FAPESP, CNPq e Capes. A coordenação de Pós Graduação em Genética do Instituto de Biociências (IBB) da Universidade Estadual “Júlio Mesquita Filho” de Botucatu – Unesp.

As minhas amigas que me adotaram e me amam do meu jeitinho, muito obrigada amigas: Jojo, Fabi, Van, Bia, May, Gi, Gabi pelos conselhos, risadas e por muitos momentos

de amadurecimento, muito obrigada meninas pela sincera amizade, e a todos os colegas do laboratório pelo harmonioso ambiente trabalho que temos que nos dá sempre vontade de estar.

Gratidão!

APOIO FINANCEIRO



Número do processo
142561/2018-5



FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA
DO ESTADO DE SÃO PAULO

Número do processo
18/20610-1

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

UNESP - Botucatu - SP



Resumo

Os bagres marinhos dos gêneros *Cathorops* e *Genidens*, apresentam uma história evolutiva recente resultando em plasticidade fenotípica, refletida em uma taxonomia complexa. Diante dessa complexidade, o objetivo deste estudo foi avaliar a divergência, diversidade e estruturação genética desses gêneros ao longo da costa do Brasil, e testar a hipótese de que as barreiras ecológicas e marinhas podem estar influenciando nas características biológicas das espécies do presente estudo. No gênero *Cathorops* quatro espécies foram identificadas morfologicamente *Cathorops arenatus*, *Cathorops spixii*, *Cathorops agassizii*, e *Cathorops* sp. para 68 indivíduos, enquanto que as análises com mtDNA (*CytB* e *ATPase 6/8*) identificaram as espécies *C. agassizii/C. spixii* e *C. arenatus/Cathorops* sp. Um total de 5.578 SNPs para as espécies do gênero *Cathorops* foram obtidos, através da metodologia ddRAD, os resultados da RaxML e das análises de divergência genética (F_{ST} , STRUCTURE e DAPC) indicaram a ocorrência das espécies *C. agassizii* (n=22), *C. arenatus* (n=14) e *Cathorops* sp. (n=32) para a costa do Brasil. A diversidade genética das espécies *C. arenatus*, *C. agassizii* e *Cathorops* sp. com base nos valores da heterozigosidade (H_O/H_E) e F_{IS} indicaram excesso de homozigotos e endogamia, sugerindo baixa diversidade genética para as três espécies. Os resultados populacionais da espécie *C. agassizii* da costa do Brasil, indicaram ausência de estruturação populacional ($F_{ST} > 0,025$). Em contrapartida, na espécie *Cathorops* sp. foi detectada uma estruturação genética ($F_{ST} = 0,070$) entre a costa Nordeste e Sudeste. O STRUCTURE resultou em um K=3, um *cluster* com amostras do Ceará, o segundo *cluster* na Bahia e Espírito Santo e o terceiro *cluster* para os indivíduos de Sergipe, Rio de Janeiro e São Paulo. Quando avaliados os valores de F_{ST} entre os *clusters* ($F_{ST} > 0,108$) indicaram também uma estruturação populacional. No gênero *Genidens* 51 indivíduos foram amostrados da costa Sudeste ao Sul do Brasil, com três espécies identificadas morfologicamente como *Genidens barbatus* (n=18), *Genidens genidens* (n=27) e *Genidens machadoi* (n=06). A análise de identificação molecular com o uso de mtDNA sugeriu a existência de apenas uma espécie. Todavia, a divergência genética utilizando 1.099 SNPs permitiu identificar uma divergência genética entre as espécies *G. barbatus* e *G. genidens* ($F_{ST} 0,415$, STRUCTURE e DAPC). A comparação entre as espécies *G. machadoi* e *G. barbatus* resultou num valor moderado de $F_{ST} = 0,052$. Esses dados mostram que há uma diferenciação genética entre *G. barbatus* e *G. genidens*, e uma baixa diferenciação genética entre as espécies *G. machadoi* e *G. barbatus*. Os resultados de diversidade genética para a espécie *G. barbatus* e *G. genidens* dos valores da heterozigosidade (H_O/H_E) indicaram excesso de heterozigotos, mesmo tendo sido verificado um valor de F_{IS} positivo, sugerindo presença de

diversidade genética para as espécies do gênero *Genidens*. Os indivíduos da *G. barbatus* amostrados na costa Sudeste e Sul do Brasil não apresentaram estruturação genética ($F_{ST} = 0,031$). Contudo, quando avaliado o valor de F_{ST} com base nos *clusters* detectados no STRUCTURE ($K=2$), foi identificado um $F_{ST} = 0,330$, resultando na estruturação genética entre exemplares de *G. barbatus* e três indivíduos do Rio Grande do Sul. As hipóteses para compreender os resultados obtidos neste estudo, indicam que a ausência de estruturação populacional em *C. agassizii*, pode ser devida ao fato das espécies se adaptarem a ambientes estuarinos heterogêneos. Em relação a espécie *Cathorops* sp. a presença de estruturação genética observada entre as populações, pode estar associada a distância geográfica de amostragem, e as variações do nível do mar, que poderiam influenciar a dispersão destas populações. Enquanto que no gênero *Genidens*, a ausência de estruturação pode estar relacionada à capacidade das espécies migrarem para diferentes porções estuarinas no período de reprodução, e as conectividade das populações através dos ciclos pluviais, não ocorrendo influência de possíveis barreiras biogeográficas (temperatura, salinidade e sedimentos). Assim, apesar da complexidade taxonômica dos bagres marinhos dos gêneros *Cathorops* e *Genidens*, que apresentam grande plasticidade fenotípica, foi possível identificar as espécies que estão distribuídas na Costa do Brasil, e entender como, as barreiras biogeográficas estão influenciando os indivíduos das espécies do gênero *Cathorops* e *Genidens* a uma estruturação populacional.

Abstract

Marine catfishes of the genera *Cathorops* and *Genidens* have a recent evolutionary history resulting in phenotypic plasticity, reflected in a complex taxonomy. Given this complexity, the objective of this study was to evaluate the divergence, diversity and genetic structure of these genera along the coast of Brazil, and to test the hypothesis that ecological and marine barriers may be influencing the biological characteristics of the species. In the genus *Cathorops*, four species were morphologically identified *Cathorops arenatus*, *Cathorops spixii*, *Cathorops agassizii* and *Cathorops* sp. for 68 individuals, while mtDNA analyzes (CytB and ATPase 6/8) identified only one species: *C. agassizii*. A total of 5,578 SNPs for the species of the genus *Cathorops* were obtained, through the ddRAD methodology, the results of RaxML and genetic divergence analyzes (F_{ST} , STRUCTURE and DAPC) indicated the occurrence of the species *C. agassizii* (n=22), *C. arenatus* (n=14) and *Cathorops* sp. (n=32) in Brazilian coast. The genetic diversity of *C. arenatus*, *C. agassizii* and *Cathorops* sp. based on heterozygosity values (H_O/H_E) and F_{IS} indicated excess of homozygotes and inbreeding, suggesting low genetic diversity for the three species. The population results for the species *C. agassizii* from the coast of Brazil indicated the absence of population structure ($F_{ST} > 0.025$). On the other hand, in *Cathorops* sp. a genetic structure was detected ($F_{ST} = 0.070$) between the Southeast and South coasts. STRUCTURE resulted in K=3, the first cluster with samples from Ceará, the second cluster in Bahia and Espírito Santo and the third cluster for individuals from Sergipe, Rio de Janeiro de Janeiro and São Paulo. When the F_{ST} values between the clusters ($F_{ST} > 0.108$) were evaluated, they also indicated a population structure. In the genus *Genidens* 51 individuals were sampled from the Northeast coast to the South of Brazil, with three species morphologically identified as *Genidens barbatus* (n=18), *Genidens genidens* (n=27) and *Genidens machadoi* (n=06). Molecular identification analyzes using mtDNA suggested the existence of only one species. However, the genetic divergence using 1,099 SNPs allowed to identify a genetic divergence between the species *G. barbatus* and *G. genidens* (F_{ST} 0.415, STRUCTURE and DAPC). The comparison between the species *G. machadoi* and *G. barbatus* resulted in a moderate value of $F_{ST} = 0.052$. These data show that there is a genetic differentiation between *G. barbatus* and *G. genidens*, and a low genetic differentiation between the species *G. machadoi* and *G. barbatus*. The results of genetic diversity for the species *G. barbatus* and *G. genidens* of the heterozygosity values (H_O/H_E) indicated excess of heterozygotes, even though a positive F_{IS} value was verified, suggesting the presence of genetic diversity for the species of the genus *Genidens*. The individuals of *G. barbatus* sampled in the Southeast and South coast of Brazil did not present

genetic structure ($F_{ST} = 0.031$). However, when evaluating the F_{ST} value based on the clusters detected in the STRUCTURE ($K=2$), an $F_{ST} = 0.330$, was identified, resulting in the genetic structure between specimens of *G. barbatus* and three individuals from Rio Grande do Sul. The hypotheses to understand the results obtained in this study indicate that the absence of a population structure in *C. agassizii* may be due to the fact that the species adapts to heterogeneous environments in estuaries. In relation to *Cathorops* sp. the presence of genetic structuring observed among populations may be associated with geographic sampling distance, and sea level variations, which could influence the dispersion of these populations. While in the genus *Genidens* the lack of structure may be related to the ability of the species to migrate to different estuarine portions during the reproduction period, with population connectivity through rainfall cycles, without the influence of possible biogeographic barriers (temperature, salinity and sediments). Thus, despite the taxonomic complexity of marine catfish of the genera *Cathorops* and *Genidens*, that present great phenotypic plasticity, it was possible to identify the species that are distributed along the Brazilian coast, and understand how the biogeographic barriers are influencing the individuals of the species of the genus *Cathorops* and *Genidens* to a population structure.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
2.	OBJETIVOS	23
2.1	Objetivos específicos	23
3.	MATERIAL	24
4.	MÉTODOS	25
4.1	DNA <i>mitochondrial</i>	25
4.1.1	Extração do DNA	25
4.1.2	Reação de PCR e Sequenciamento.....	25
4.1.3	Edição e alinhamento das Sequências	26
4.2	SNPs.....	27
4.2.1	Extração de DNA	27
4.2.2	Construção da biblioteca <i>ddRAD</i> para SNPs.....	27
4.2.3	Digestão enzimática	27
4.2.4	Ligação de adaptadores	28
4.2.5	Indexação	28
4.2.6	Construção do <i>Pool</i> e <i>Size selection</i>	29
4.2.7	Análise de Bioinformática.....	29
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
	Capítulo 1-Evidências de diversidade genética e estruturação populacional no complexo taxonômico das espécies ao gênero <i>Cathorops</i> na costa do Brasil.	33
5.	RESULTADOS.....	34
5.1	<i>Identificação molecular – marcadores mitocondriais</i>	34
5.2	SNPs.....	37
5.2.1	Filogenômica.....	37
5.2.2	Genômica Populacional.....	38
6.	DISCUSSÃO.....	44
	<i>Identificação das espécies do gênero Cathorops</i>	44
	<i>Estruturação genética nas populações de Cathorops agassizii e Cathorops sp.</i>	46
	Capítulo 2 - Genômica populacional do gênero <i>Genidens</i> (Ariidae) para a costa Sudeste e Sul do Brasil	49
7.	RESULTADOS	50
7.1	<i>Identificação molecular</i>	50
7.2	SNPs.....	52
7.2.1	Genômica populacional.....	52
8.	DISCUSSÃO.....	57

<i>Identificação molecular das espécies do gênero Genidens</i>	57
<i>Diversidade Genética e estruturação populacional nas espécies do gênero Genidens</i>	58
<i>A sobrepesca em espécies de bagres marinhos do Atlântico Sudoeste</i>	60
9. CONSIDERAÇÕES.....	61
9. REFERÊNCIAS.....	62
10. SUPLEMENTAR.....	80

1 INTRODUÇÃO

Os ambientes marinhos passaram por eventos glaciais (congelamento e descongelamento), apresentando diferentes padrões de correntes oceânicas, além disso, podendo apresentar barreiras biogeográficas, caracterizadas por condições ecológicas (gradientes de salinidade, pH e temperatura), entre outros, os quais são fatores importantes para a compreensão dos processos evolutivos e as características biológicas das espécies estuarinas e costeiras (Silva et al., 2016; Freitas et al., 2017; Pinheiro et al., 2018; Jeffries et al., 2019). Em uma linha evolutiva, as características das espécies e populações estuarinas e marinhas foram grandemente afetadas pelos ciclos glaciais e interglaciais do Pleistoceno, respectivamente, devido a eventos eustáticos (Brown & Lomolino, 2006) em regiões tropicais e temperadas (Jeffries et al., 2019; Thomaz & Knowles, 2020; Buckely et al., 2020).

Os eventos de regressão e transgressão, no decorrer dos ciclos de glaciação, podem ter resultado em variações do nível do mar, temperatura e salinidade, bem como mudanças nos padrões das correntes oceânicas, impulsionando espécies de peixes estuarinos e costeiros a procura por novos habitats podendo influenciar a especiação e dispersão destas espécies. Além disso, os habitats de espécies costeiras os quais foram fragmentados na plataforma continental da América do Sul (Sprechmann, 1978), refletem na demografia histórica de espécies estuarinas e marinhas costeiras, resultando no alto ou baixo número sucessivos de populações, relacionadas a flutuações no clima (Fernández-Iriarte et al., 2011; Baggio et al., 2017).

Alguns estudos com peixes estuarinos e marinhos ao longo da costa do Atlântico demonstram expansões populacionais com padrões filogeográficos, provavelmente resultante de tais flutuações (Da Silva et al., 2018; Thomaz & Knowles, 2020; Pio & Carvalho, 2021). Inclusive, algumas espécies podem não apresentar alta divergência genética pós períodos glaciais como visto em espécies do gênero *Macrodon* (Aderne et al., 2022). Sendo assim, é importante compreender os padrões de variações genéticas, intra e interpopulacionais para identificar a diversidade e estruturação destas espécies pós períodos glaciais.

Os estuários podem ser definidos como corpos d'água que ocupam a região de transição entre os oceanos e os rios, sendo um ambiente costeiro semi-fechado com ligação livre com o oceano aberto (Schaeffer-Novelli et al., 2001). Os estuários representam atividades vitais no ciclo de vida de várias espécies de ictiofauna, no caso de espécies sedentárias; regiões de passagem para espécies anádromas e diádromas, áreas de migração sazonal relacionada aos hábitos alimentares e ainda, regiões para reprodução de espécies marinhas e de água doce

(Vendel & Chaves, 2001; Santos, 2001; Able, 2005), tornado - o um dos ambientes importantes para a manutenção da pesca mundial (Blaber, 2000).

A distribuição de peixes estuarinos e a migração de juvenis para populações adultas estão dentre os fatores ambientais mais suscetíveis a fatores bióticos (por exemplo predação, disponibilidade de alimentos, recrutamento), abióticos (salinidade, oxigênio dissolvido, temperatura) e paisagísticos (tamanho do habitat, conectividade do habitat) (Beck et al., 2003; Barletta et al., 2005; 2008). Vários estudos demonstram que os ambientes estuarinos representam habitats heterogêneos podendo levar ou não a divergências genéticas para algumas espécies de peixes (Silva et al., 2016; Cortinhas et al., 2016; Jeffries et al., 2019; Sebastian et al., 2021).

As populações de peixes estuarinos e costeiros podem representar uma conectividade populacional, influenciada pelos fatores biológicos de comportamento migratório e fatores abióticos, como temperatura, salinidade, sedimentos, e padrões de correntes oceânicas (Freitas et al., 2017; Maciel et al., 2020). Logo a genética populacional é relevante na compreensão da diversidade e estrutura genética de organismos marinhos.

A família Ariidae é de grande relevância ao ambiente estuarino devido à sua alta diversidade, ampla distribuição e abundância (Barletta et al., 2003, 2005; Nelson, 2016). As espécies desta família podem apresentar movimentos sazonais entre ambientes com diferentes salinidades, associadas a diferentes aspectos biológicos, como reprodução, alimentação e ontogenia (Schmidt et al., 2008; Avigliano et al., 2017a).

A família é composta por 34 gêneros com cerca de 155 espécies com distribuição circumglobal (Fricke et al., 2021), exibe uma ampla distribuição geográfica ao longo das costas oceânicas marinhas tropicais e subtropicais (Marceniuk & Menezes, 2007). Habitam águas costeiras migrando para estuários e/ou várzeas costeiras para desova (Rimmer, 1985), tendo os estuários como áreas prioritárias de alimentação, reprodução e abrigo (Schmidt et al., 2008; Silva-Junior et al., 2013; Avigliano et al., 2017a), são espécies demersais com comportamento migratório restrito e cuidado parental (retenção de larvas) (Marceniuk, 2005a).

Na costa brasileira, a família Ariidae está distribuída em oito gêneros e 21 espécies, dentre estes gêneros, o gênero *Cathorops* Jordan & Gilbert, 1883 inclui espécies distribuídas ao longo da costa da América do Sul, da Guiana ao Brasil (Marceniuk, 2005a), caracterizados pela ausência das placas dentais associadas ao vômer e a presença de um par de placas acessórias pequenas e ovaladas, providas de dentes molariformes (Marceniuk & Menezes, 2007).

O gênero *Cathorops* inclui três espécies descritas para a costa do Brasil: *Cathorops agassizii* (EIGENMANN & EIGENMANN, 1888) distribuído desde a América do Sul, Guiana, Região Nordeste do Brasil, possivelmente até o Estado de Sergipe (Figura 1) (Marceniuk, 2005). *Cathorops arenatus* (VALENCIENNES, 1840) com ampla distribuição na América do Sul, Venezuela e região Norte do estado do Pará, está presente nos habitats estuarinos, ocorrendo também em águas costeiras (Figura 1) (Marceniuk, 2005) e *Cathorops spixii* (SPIX & AGASSIZ, 1829) distribuído na América do Sul, Guiana Francesa à região Sul do Brasil, possivelmente até Paraná, nome popular: Bagre - amarelo (Figura 1) (Marceniuk, 2005).

Muitas espécies incluídas no gênero *Cathorops* apresentam status taxonômico indefinido devido a plasticidade fenotípica, resultando em conflitos taxonômicos observados no gênero (Marceniuk, 2005), tornando um interessante grupo para estudos moleculares adicionais a fim de compreender a taxonomia do grupo.

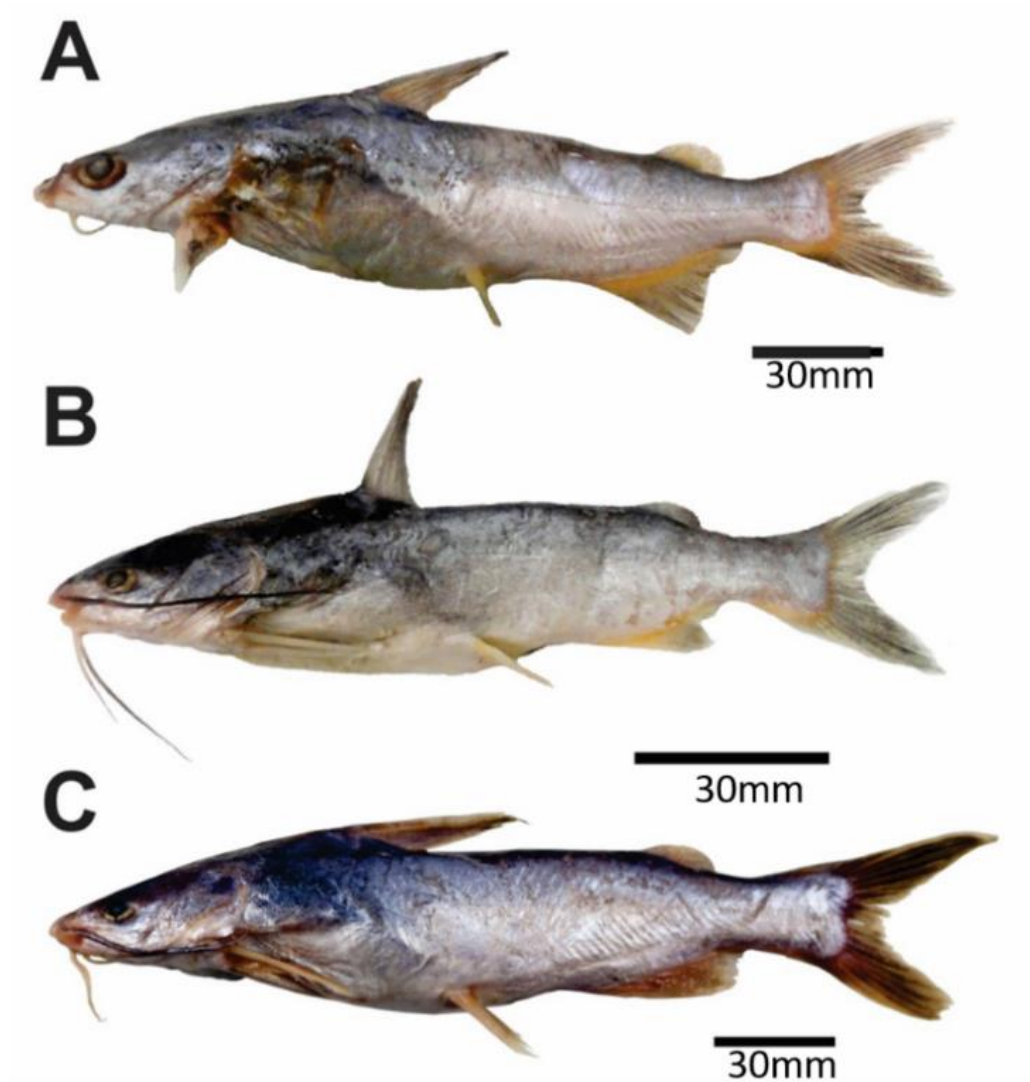


Figura 1. Exemplos das espécies do gênero *Cathorops* coletados na costa norte, nordeste e sudeste do Brasil. **Legenda:** A. *Cathorops agassizii*; B. *Cathorops arenatus*; C. *Cathorops spixii*. **Foto:** Matheus Marcos Rotundo

Um segundo gênero *Genidens* Castelnau 1855, correspondente ao presente estudo apresenta espécies endêmicas da costa na Atlântico Sul da América do Sul (Higuchi, 1982; Marceniuk & Ferraris, 2003). O gênero *Genidens* inclui quatro espécies bem caracterizadas morfológicamente (Higuchi, 1982; Marceniuk, 2005): *Genidens genidens* (Cuvier, 1829) com distribuição somente na costa brasileira, do estado da Bahia ao estado do Rio Grande do Sul, ocorrendo em águas costeiras e regiões estuarinas, conhecido popularmente como bagre-urutu (Marceniuk, 2005); *Genidens planifrons* (Higuchi, Reis & Araujo, 1982) possui distribuição restrita ao estado do Rio Grande do Sul no Brasil, ocorrendo principalmente em regiões de estuário, com preferência em regiões de água costeira (Marceniuk, 2005); *Genidens barbatus* (Lacepède, 1803) apresenta distribuição na América do Sul, do Brasil, com amostragem no Estado do Rio de Janeiro, ao norte da Argentina, habita águas costeiras, estuários e curso inferior de rios, conhecido popularmente como Bagre-branco, Bagre-ariaçu e Bagre-do-mar (Marceniuk, 2005) e *Genidens machadoi* (Miranda-Ribeiro, 1918) com distribuição na América do Sul, a partir do Estado do Rio de Janeiro até Estreito de Magalhães, no Chile, conhecido popularmente como Bagre-do-Corso (Marceniuk, 2005) (Figura 2).

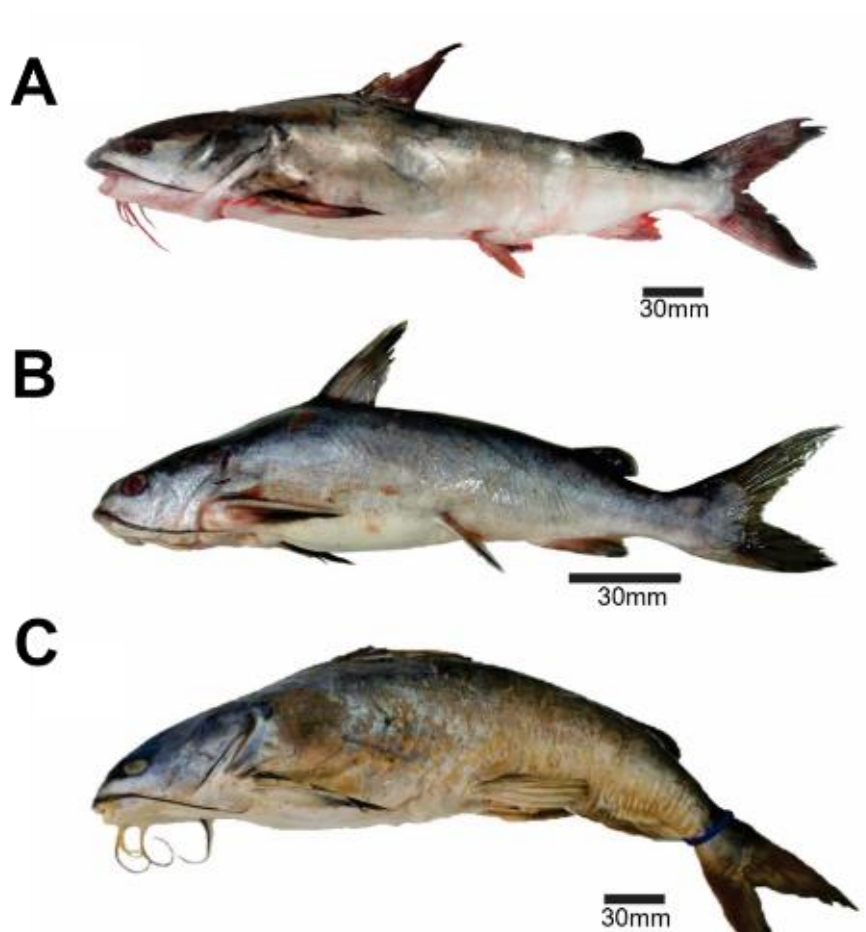


Figura 2. Exemplares das espécies do gênero *Genidens* do presente estudo coletados na costa Sudeste e Sul do Brasil. **Legenda:** **A.** *Genidens barbatus*; **B.** *Genidens genidens*; **C.** *Genidens machadoi*. **Foto:** Matheus Marcos Rotundo.

As espécies *Genidens barbatus*, *G. planifrons* e *G. machadoi* não foram diferenciadas geneticamente pelos marcadores moleculares (mitocondriais e nucleares) utilizados por Betancur-R (2009). Por outro lado, a definição das espécies de *Genidens* é fundamental para o entendimento de sua biologia e conservação, tendo em vista que essas espécies possuem relevância econômica para pesca comercial e artesanal da região Sudeste e Sul do Brasil, além de apresentarem uma importante função ecológica na manutenção das regiões estuarinas e costeiras (Machado et al., 2012).

A taxonomia e sistemática do grupo de Ariidae é pouco esclarecedora, devido as elevadas similaridades morfológicas, plasticidade fenotípica e pouca consistência dos caracteres utilizados para discriminação das espécies (Marceniuk et al., 2007; Silva et al., 2016; Marceniuk et al., 2017; 2019) podendo representar um excelente modelo de estudo para a compreensão dos processos de especiação no ambiente marinho (Stepien et al., 2001; Betancur-

R et al., 2010). Estes estudos são considerados relevantes, não apenas para a descrição das espécies, bem como, para melhor entendimento da utilização dos recursos relacionados ao habitat e desenvolvimento desses grupos (Barletta-Bergan et al., 2005; Brown et al., 2004).

O desenvolvimento de tecnologias voltadas a genômica e a redução dos custos com o uso de plataformas atuais de sequenciamento de nova geração (NGS), tem contribuído para a genotipagem em larga escala do genoma nas espécies em geral tornado os métodos mais acessíveis (Silva-Junior et al., 2015). Logo, por meio dessas tecnologias, torna-se possível o rastreamento dos locus que estejam relacionados a seleção, deriva genética, fluxo gênico e endogamia (Luikart et al., 2003).

Dentre os métodos com base em NGS, muitos tem como componente principal, o uso de enzimas de restrição específicas para reduzir a complexidade genômica nas espécies alvo (Stapley et al., 2010). O método de redução genômica permite o sequenciamento simultâneo de vários indivíduos ao mesmo tempo, em virtude da combinação de adaptadores ligados a *tags* de DNA associados a cada amostra a ser sequenciada, permitindo assim, discriminar e agrupar as sequências de acordo com cada *tags* (Stapley et al., 2010).

Dentre esses métodos, pode se destacar o RAD-seq (Sequenciamento do DNA associado ao sítio de restrição), um método de sequenciamento de genoma que utiliza enzimas de restrição para cortar o genoma em sítio de restrição específico de uma enzima. A vantagem deste método é uma maior amplitude de cobertura por locus, reduzindo as regiões dos genomas a serem estudados (Miller et al., 2007; Baird et al., 2008).

O uso de RADseq em genômica populacional foi descrito pela primeira vez em Davey & Blaxter. (2010), uma progressão natural do estudo seminal de Baird et al. (2008) sobre o uso de RADseq para genotipar indivíduos utilizando SNPs. O RADseq não requer necessariamente nenhuma informação *a priori* acerca do genoma para os táxons em estudo, podendo ser aplicado em estudos ecológicos e evolutivos de organismos não-modelos (Andrews et al., 2016).

Uma variação para o RADseq é o ddRAD (*double digestion Restriction Associated DNA sequencing*) que utiliza duas enzimas de restrição, seguidas por uma seleção de fragmentos de DNA que são utilizados na construção de bibliotecas (resultando em fragmentos genômicos mais seletivos, além do custo benefício da construção de bibliotecas (Peterson et al., 2012). Esses fragmentos podem conter regiões variáveis referidas como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). A metodologia do ddRAD utilizando SNPs tem contribuído para estudos em espécies marinhas, respondendo questões acerca da biodiversidade, conservação, espécies em

cultivos e estudos voltados para estruturação populacional (Cayuela et al., 2019, Leone et al., 2019; Saha et al., 2021; Yamahira et al., 2022).

Os marcadores SNPs são polimorfismos como origem por mutações pontuais que se fixaram ao longo do tempo, de bases únicas da cadeia de bases nitrogenadas (Adenina, Citosina, Timina e Guanina), sendo as mutações mais comuns são as transições, nos quais ocorrem trocas de uma purina por outra purina (A/G) ou de uma pirimidina por outra pirimidina (C/T), e as menos frequentes, as transversões quando há troca de uma purina por uma pirimidina, ou vice-versa (C/T;A/G) (Caetano et al., 2009).

Estes marcadores estão distribuídos aleatoriamente por todo genoma sendo bastante abundantes, podem ser bialélicos, ou seja, duas variantes alélicas estão segregando na população, ou triallélicos, podendo ser encontrados em genomas humanos (Hodgkinson, et al., 2009), ocorrendo em regiões codificadoras ou em espaços intergênicos do genoma. Além dos marcadores SNPs serem abundantes, suas bases moleculares permitem que haja uma distribuição homogênea de SNPs pelo genoma (Caetano et al., 2009) e genotipagem de populações em larga escala (Davey; Blaxter, 2010; Poland et al., 2012).

O estudo com SNPs têm contribuído grandemente na resolução de complexos de espécies em peixes (Neves et al., 2021; Behrens et al., 2021; Mérot et al., 2022), genômica populacional (Machado et al., 2020; Benestan et al., 2021; Zhao et al., 2021; I-Kongsstovi et al., 2022) e filogenômica (Olave et al., 2020; Unmack et al., 2022), sendo eficientes e viáveis para estudos de conservação de espécies (Begossi et al., 2021), em virtude de serem marcadores abundantes no genoma (Ganal et al., 2009; Morin et al., 2009). No entanto, não havia estudos voltados a genômica populacional de bagres marinhos utilizando os marcadores SNPs.

Com base no que foi exposto acima, propusemos o presente projeto de pesquisa, que analisou o estudo de genômica populacional das espécies dos gêneros *Cathorops* e *Genidens*, distribuídos na costa do Brasil. Neste trabalho foram utilizados os marcadores SNPs, para gerar dados que permitissem as análises da diversidade e estruturação genética, bem como o fluxo gênico entre as populações das espécies.

9. CONSIDERAÇÕES

- A uma complexidade taxonômica que foi um pouco elucidada com SNPs;
- Este estudo fornece informações importantes relacionadas a genética de populações com SNPs, e evidência a necessidade da implementação das práticas de conservação dos ecossistemas estuarinos visto a importância desses ambientes, que são menos protegidos pelas áreas de proteção integral brasileiras (~0,2% das áreas estuarinas do país);
- Representam extrema importância biológica, principalmente para as espécies presentes nesse estudo, que dependem do bioma estuarino para completar seu ciclo de vida.

9. REFERÊNCIAS

- Able, K. W. (2005). A re-examination of fish estuarine dependence: Evidence for connectivity between estuarine and ocean habitats Estuarine. Coastal and Shelf Science, 64: 5-17. Doi: 0.1016/j.ecss.2005.02.002.
- Andrews, K. R, Good, J. M, Miller, M. R, Luikart, G, Hohenlohe, P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. Nature Reviews Genetics 17: 81– 92.
- Andrews S: FastQC - A quality control tool for high throughput sequence data. [WWW Document].2018.
- Aderne, A. F., de Araújo Bitencourt, J., Watanabe, L. A., Schneider, H., de Mello Affonso, P. R. A., & Sampaio, I. (2022). Allopatric divergence and secondary contact of two weak fish species (*Macrodon ancylodon* and *Macrodon atricauda*) from the South Atlantic. Fisheries Research, 245, 106126. Doi: 10.1016/j.fishres.2021.106126.
- Appleyard, S. A., Lynch, T. P., Green, M. A., & Encinas-Viso, F. (2021). Genetic diversity and restricted genetic connectivity in an endangered marine fish (*Brachionichthys hirsutus*) provides a model for conservation management in related and data-deficient species. Marine and Freshwater Research, 72(12), 1735-1745. Doi: 10.1071/MF21169.
- Avigliano, E., Leisen M, Romero R, Carvalho B, Velasco G, Vianna M, Barra F & Volpedo A. V. (2017). Fluvio-marine travelers from South America: Cyclic amphidromy and freshwater residency, typical behaviors in *Genidens barbus* inferred by otolith chemistry. Fish Res 193: 184-194. Doi: 10.1016/j.fishres.2017.04.011.
- Avigliano, E., Maichak de Carvalho, B., Leisen, M., et al., (2017c). Otolith edge fingerprints as approach for stock identification of *Genidens barbus*. Estuar. Coast. Shelf Sci. 194, 92–96. Doi: 10.1016/j.ecss.2017.06.008.

Avigliano, E., Carvalho, B. M., Miller, N., et al., (2019a). Fin spine chemistry as a non-lethal alternative to otoliths for stock discrimination in an endangered catfish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 614, 147–157. Doi: 10.3354/meps12895.

Baird, N. A., Etter, P. D., Atwood, T. S., Currey, M. C., Shiver, A. L., Lewis, Z. A, et. al. (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One* 3: e3376. Doi: 10.1371/journal.pone.0003376.

Baigún, C. R. M., Colautti, D., López H. L., Van, D. P. A & Reis R. E. (2012b). Application of extinction risk and conservation criteria for assessing fish species in the lower La Plata River basin, South America. *Aquat Conserv* 22(2): 181-197. Doi: 10.1002/aqc.2223.

Barbieri, L. R.; Santos, R. P.; Andreatta, J. V. (1992). Reproductive biology of the marine catfish, *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae), in the Jacarepagua Lagoon system, Rio de Janeiro, Brazil. *Env. Biol. Fish* 35, 23–35.

Barletta-Bergan, A., Barletta, M., Saint-Paul, U. (2005). Community structure and temporal variability of ichthyoplankton in North Brazilian mangrove creeks. *Journal of Fish Biology* 61 (Suppl. A):33-51. 2002a. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb01759.x

Barletta, M., A. Barletta-Bergan, U. Saint-Paul, and G. Hubold. (2003). Seasonal changes in density, biomass and diversity of estuarine fishes in tidal mangrove creeks of the lower Caeté Estuary (Northern Brazilian Coast, East Amazon). *Marine Ecology Progress Series* 256: 217–228. Doi: 10.3354/meaps25217.

Barletta, M., A., Barletta-Bergan, U., Saint-Paul & G. Hubold. (2005). The role of salinity in structuring the fishing assemblages in a tropical estuary. *Journal of Fish Biology* 66: 1–28. Doi 10.1111/j.0022-1112.2005.00582.x.

Barletta, M., C. S., Amaral, M. F. M., Correa, F., Guebert, D.V. Dantas., L. Lorenzi & U. Saint-paul. (2008). Factors affecting seasonal variations in demersal fish assemblages at an ecocline in a tropical\subtropical estuary. *Journal of Fish Biology* 73: 1315-1336. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2008.02005.x.

Baggio, R. A., Stoiev, S. B., Spach, H. L., Boeger, W. A. (2017). Opportunity and taxon pulse: the central influence of coastal geomorphology on genetic diversification and endemism of strict estuarine species. *J Biogeogr.* 44(7):1626-39. Doi: 10.1111/jbi.12934.

Baigún, C. R. M., Colautti, D., López, H. L., Van Damme, P. A. & Reis, R. E. (2012). Application of extinction risk and conservation criteria for assessing fish species in the lower La Plata River basin, South America. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 22(2), 181-197. Doi:10.1002/aqc.2223.

Blaber, S. J. (2008). *Tropical estuarine fishes: ecology, exploitation and conservation*. John Wiley & Sons.

Beck, M. W., Heck K. L., Jr., Able, K. W., Childers, D. L., Eggleston, D. B., Gillanders, B. M., Halpern, B. S., Hays, C.G., Hoshino, K., Minello, T. J., Orth, R. J., Sheridan, P. F., Weinstein, M. P. (2003). The role of nearshore ecosystems as fish and shellfish nurseries. *Issues in Ecology*, 11: 2-12.

Begossi, A., Salivonchyk, S., Glamuzina, B., Alves-Pereira, A., Batista, C. E. D. A., & Priolli, R. H. (2021). Filling gaps: fishing, genetics, and conservation of groupers, especially the comb grouper (badejo) (*Mycteroperca acutirostris*), in SE Brazil (2013-2020). *bioRxiv*. Doi: 10.1101/2021.04.12.439484.

Behrens, K. A., Girasek, Q. L., Sickler, A., Hyde, J., & Buonaccorsi, V. P. (2021). Regions of genetic divergence in depth-separated *Sebastes* rockfish species pairs: Depth as a potential driver of speciation. *Molecular Ecology*, 30(17), 4259-4275. Doi: 10.1111/mec.16046.

Benestan, L. M., Rougemont, Q., Senay, C., Normandeau, E., Parent, E., Rideout, R & Parent, G. J (2021). Population genomics and history of speciation reveal fishery management gaps in two related redfish species (*Sebastes mentella* and *Sebastes fasciatus*). *Evol. Appl.* 14, 588–606. Doi: 10.1111/eva.13143.

Betancur-R, R., Arturo, A., P, Bermingham, E, Cooke, R. (2007). Systematics and biogeography of New World sea catfishes (Siluriformes: Ariidae) as inferred from

mitochondrial, nuclear, and morphological evidence. *Mol Phylogenet Evol* 45:339-357. Doi: 10.1016/j.ympev.2007.02.022.

Betancur-R, R & Armbruster, J. W. (2009). Molecular clocks provide new insights into the evolutionary history of Galeichthyine sea catfishes. *Evolution*, 63(5):1232-1243. Doi: 10.1111/j.1558-5646.2009.00640.x.

Betancur-R, R. (2009). Molecular phylogenetics and evolutionary history of ariid catfishes revisited: a comprehensive sampling. *BMC Evol. Biol.* 9, 175. Doi: 10.1186/1471-2148-9-175.

Betancur-R, R., A. Acero P., H. Duque-Caro & S. R. Santos. (2010). Phylogenetic and morphologic analyses of a coastal fish reveals a marine biogeographic break of terrestrial origin in the Southern Caribbean. *PLoS ONE*, 5: e11566(10p.). Doi: 10.1371/journal.pone.0011566.

Bolger, A. M., Lohse, M, Usadel B: Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15): 2114–2120. Doi: 10.1093/bioinformatics/btu170.

Buckley, S. J., Brauer, C., Unmack, P., Hammer, M. (2020). The roles of aridification and sea level changes in the diversification and persistence of freshwater fish lineages. Doi: 10.1101/2020.01.27.922427.

Brown, C. A., Holt, S. A., Jackson, G. A., Brooks, D. A., Holt, G. A. (2004). Simulating larval supply to estuarine nursery areas: how important are physical processes to the supply of larvae to the Aransas Pass Inlet? *Fish. Oceanogr.* 13, 181–196. Doi: 10.1111/j.1365-2419.2004.00285.x.

Brown, J. H., Lomolino, M. V. (2006). *Biogeography*. [S.1]: Sinauer Associates.

Bush, M. B., & Oliveira, P. E. (2006). The rise and fall of the Refugial Hypothesis of Amazonian speciation: a paleoecological perspective. *Biota Neotropica*, 6(1).

Cayuela, H., Rougemont, Q., Laporte, M., Mérot, C., Normandeau, E., Dorant, Y., ... & Bernatchez, L. (2019). Standing genetic variation and chromosomal rearrangements facilitate local adaptation in a marine fish. *bioRxiv*, 782201. Doi:10.1101/782201. 2019.

Caetano, A. R. (2009). Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, 64-71.

Campos, M., Conn, J. E., Alonso, D. P., Vinetz, J. M., Emerson, K. J., Ribolla, P. E. (2017). Microgeographical structure in the major Neotropical malaria vector *Anopheles darlingi* using microsatellites and SNP markers. *Parasit Vectors*;10:76. Doi: 10.1186/s13071-017-2014-y.

Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A., Cresko, W. A. (2013b.). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol. Ecol.* 22 3124–3140. Doi: 10.1111/mec.12354.

Cortinhas, M. C. S., Kersanach, R. K., Proietti, M., Dumont, L. F. C., D'incao, F., Lacerda, A. L. F., Prata, P. S., Matoso, D. A., Noleto, R.N., Ramsdorf, W., Boni, T. A., PRIOLI, A. J. & Cestari, M. M. (2016). Genetic structuring among silverside fish (*Atherinella brasiliensis*) populations from different Brazilian Regions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*,178,148.157. Doi: 10.1016/j.ecss.2016.06.007.

Cuvier, G. (1829). *Le Règne Animal distribué d'après son organisation, pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée*. 2. ed. 532p.

Da Silva, R. P. L.V., Peloso, M. J., Sturaro, I., Veneza, I., Sampaio, H., Schneider, G. Gomes. (2018). Comparative analyses of species delimitation methods with molecular data in snappers (Perciformes: Lutjaninae) Mitochondrial. *DNA Part A*, 29 pp. 1108-1114. Doi: /10.1080/24701394.2017.1413364.

Dantas, D. V., Barletta, M.; Costa, M. F., Barbosa-Cintra, S. C. T., Possatto, F. E., Ramos, J. A. A., Lima, A. R. A., Saint-Paul, U. (2011). Movement patterns of catfishes (Ariidae)

in a tropical semiarid estuary. J. Fish Biol. 76, 2540–2557. 2011. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02646.x.

Davey, J. W., & Blaxter, M. L. (2010). RADSeq: next – generation population genetics. *Briegings in Functional Genomics*, 9 (5-60), 416-423.

Diopere, E., Vandamme, S. G., Hablützel, P. I., Cariani, A., Van Houdt, J., Rijnsdorp, A., ... & Maes, G. E. (2018). Seascape genetics of a flatfish reveals local selection under high levels of gene flow. *ICES Journal of Marine Science*, 75(2), 675-689. Doi: 10.1093/icesjms/fsx160.

Driller, M., Vilaca, S. T, Arantes, L. S., Carrasco-Valenzuela, T, Heeger, F., Chevallier D & Mazzon,i C. J. (2020). Optimization of ddRAD-like data leads to high quality sets of reduced representation single copy orthologs (R2SCOs) in a sea turtle multi-species analysis. *bioRxiv*. Doi: 10.1101/2020.04.03.024331. I.

Earl, D. A. & Vonholdt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4, 359–36–0.695. Doi: 10.1007/s12686-011-9548-7.

Eigenmann, C. H. & Eigenmann, R. S. (1888). Preliminary notes on South American Nematognathi. I. *Proc. Calif. Acad. Sci. - Ser. 2*, 1: 119-172.

Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611–2620. Doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.

Excoffier L & Lischer H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.

Fahmi, Tibbetts, I. R., Bennett, M. B., Dudgeon, Christine L. (2021). Delimiting cryptic species within the brown-banded bamboo shark, *Chiloscyllium punctatum* in the Indo-

Australian region with mitochondrial DNA and genome-wide SNP approaches. BMC Ecol Evo 21, 121. Doi: 10.1186/s12862-021-01852-3.

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

Fernández-Iriarte, P. J., M. P., Alonso, D. E., Sabadin, P. A., Arauz & C. M. (2011). Iudica. Phylogeography of weakfish *Cynoscion guatucupa* (Perciformes: Sciaenidae) from the southwestern Atlantic. Scientia Marina, 75: 701-706.

Freitas, S. A., DA, Silva. R., Sampaio, I., Schneider H. (2017). The mitochondrial control region reveals genetic structure in southern kingcroaker populations on the coast of the Southwestern Atlantic Fish Res 191:87-94. Doi: 10.1016/j.fishres.2017.03.008.

Fricke, R., Eschmeyer, W.N., Fong, J.D. Eschmeyer's catalog of fishes: species by family/subfamily.
(<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed 01/02/2021. 2021.

Ganal, M. W., Altmann, T., Röder, M.S. (2009). SNP identification in crop plants. Current Opinion in Plant Biology, v.12, p.211-217.

Gkagkavouzis, K., Papakostas, S., Maroso, F., Karaïskou, N., Carr, A., Nielsen, E. E., & Triantafyllidis, A. (2021). Investigating Genetic Diversity and Genomic Signatures of Hatchery-Induced Evolution in Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) Populations. Diversity, 13(11), 563. Doi: 10.3390/d13110563.

Higuchi, H. (1982). Estudo osteológico de bagres marinhos do litoral sul do Brasil (Osteichthyes; Siluriformes, Ariidae). São Paulo, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 135 p. (Dissertação de Mestrado).

Higuchi, H., Reis, E. G., Araújo, F. G. (1982). Uma nova espécie de bagre marinho do litoral do Rio Grande do Sul e considerações sobre o gênero nominal *Netuma* Bleeker, 1958 no Atlântico Sul Ocidental (Siluriformes, Ariidae). Atlântica, 5: 1-15.

Hostim-Silva M., Verani, J. R., Branco, J. O & Leite, J. R. (2009). Reprodução do bagre *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae) na Foz do Rio Itajaí-Açú, SC, 227-248 p. In: Branco JO, Lunardon-Branco MJ and Bellotto VR (Org). Estuário do Rio Itajaí-Açú, Santa Catarina: caracterização ambiental e alterações antrópicas. Editora UNIVALI, Itajaí, SC, 312 p.

í Kongsstovu, S., Mikalsen, S. O., í Homrum, E., Jacobsen, J. A., Als, T. D., Gislason, H., & Dahl, H. A. (2022). Atlantic herring (*Clupea harengus*) population structure in the Northeast Atlantic Ocean. Fisheries Research, 249, 106231. Doi: 10.1016/j.fishres.2022.106231.

Jeffries, K. M., Connon, R. E., Verhille, C. E., Dabruzzi, T. F., Britton, M. T., Durbin-Johnson, B. P., Fangue, N. A. (2019). Divergent transcriptomic signatures in response to salinity exposure in two populations of an estuarine fish. Evol. Appl., 12, 1212-1226. Doi: 10.1111/eva.12799.

Jombart, T., Devillard, S & Balloux F. (2010). Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. BMC genetics, 11(1), 94. Doi: 10.1186/1471-2156-11-94.

Jombart, T & Ahmed, I. (2011). Adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. Bioinformatics, 27(21), 3070-3071.

Jordan, D. S. & Evermann, B. W. (1896) The fishes of North and Middle America: a descriptive catalogue of the species of fish-like vertebrates found in the waters of North America, north of the Isthmus of Panama. Part I. Bulletin of the U. S. National Museum, 47, i-lx + 1-1240.

Kailola P. J. (2004). A phylogenetic exploration of the catfish family Ariidae (Otophysi; Siluriformes). The Beagle, Records of the Museums and Art Galleries of the Northern Territory. 20: 87±166.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P., &

Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647- 1649. Doi: 10.1093/bioinformatics/bts199.

Kjerfve, B., & Lacerda, L. D. (1993). Manguezais do Brasil (pp. 245–272). In: LD Lacerda (Coord.). *Conservação e utilização sustentável de florestas de mangue nas regiões da América Latina e África*. Okinawa, Japão: Sociedade Internacional para Ecossistemas de Mangue (ISME); Yokohama, Japão: Organização Internacional de Madeira Tropical (ITTO). (Relatórios técnicos de ecossistemas de mangue, v. 2).

Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *J Mol Evol*, 1980, vol. 16 (pg.111 - 120).

Lacepède, B. G. E. (1803). *Histoire naturelle des poissons*. 803p., pls. 1-21.

Leone, A., Álvarez, P., García, D., Saborido-Rey, F., & Rodriguez-Ezpeleta, N. (2019). Genome-wide SNP based population structure in European hake reveals the need for harmonizing biological and management units. *ICES Journal of Marine Science*, 76(7), 2260-2266. Doi:10.1093/icesjms/fsz161.

Li, Yu-Long & Liu Jin-Xian. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular ecology resources*, v. 18, n. 1, p. 176-177. Doi: 10.1111/1755-0998.12719.

Luikart, G., England, P., Tallmon, D. et al. (2003). The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nat Rev Genet* 4, 981-994. Doi: 10.1038/nrg1226.

Ludt, W. B. & L. A. Rocha. (2015). Shifting seas: the impacts of Pleistocene sea-level fluctuations on the evolution of tropical marine taxa. *Journal of Biogeography*, 42: 25-38. Doi: 10.1111/jbi.12416.

Maciel, T. R., Avigliano, E., de Carvalho, B. M., Miller, N., & Vianna, M. (2020). Population structure and habitat connectivity of *Genidens genidens* (Siluriformes) in tropical and subtropical coasts from Southwestern Atlantic. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 242, 106839. Doi: 10.1016/j.ecss.2020.106839.

Machado, R.; Ott, P. H., Sucunza, F., Marceniuk, A. P. (2012). Ocorrência do bagre marinho *Genidens machadoi* (Siluriformes, Ariidae) na laguna Tramandaí, sul do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, v.7, n. 3, p. 214- 219. Doi: 10.4013/nbc.2012.73.08.

Machado, R. C., Silva, M. C. C., Proietti M. C, Haimovici, M. (2020). Genetic connectivity of black drum (*Pogonias courbina*) stocks in the southwestern Atlantic Ocean. *Environ Biol Fish* 103:913–926. Doi: 10.1007/s10641-020-00993-6.

MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets
Kumar S, Stecher G, and Tamura K (2016). *Molecular Biology and Evolution* 33:1870-1874.

Maciel, T. R., Vaz-dos-Santos, A. M., & Vianna, M. (2018). Can otoliths of *Genidens genidens* (Cuvier 1829) (Siluriformes: Ariidae) reveal differences in life strategies of males and females?. *Environmental Biology of Fishes*, 101(11), 1589-1598. Doi: /10.1590/1982-0224-20180101.

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

Marceniuk, A. P. (2005). Redescritção de *Genidens barbatus* (Lacépède, 1803) e *Genidens machadoi* (Miranda-Ribeiro, 1918), bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) do Atlântico sul ocidental. *Papéis avulsos de Zoologia*, 45(11), 111-125.

Marceniuk, A. P. (2005a). Chave de identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da costa brasileira. *B Int Pesca* 31: 89-101.

Marceniuk, A. P. (2005b). Redescrição de *Genidens barbus* (Lacépède, 1803) e *Genidens machadoi* (Miranda-Ribeiro, 1918), bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) do Atlântico Sul Ocidental. Papéis Avulsos de Zoologia, 45(11):111-125.

Marceniuk, A. P. & MENEZES, N. A. (2007). Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), with a redefinition of the genera. Zootaxa 1416:1-126.

Marceniuk, A. P. & Betancur-R, R. (2008). Revision of the species of the genus *Cathorops* (Siluriformes: Ariidae) from Mesoamerica and the Central American Caribbean, with description of three new species. Neotropical Ichthyology, 6, 25–44.

Marceniuk, A. P., Betancur-R, R., & Acero, A. (2009). Description of a new species of *Cathorops* (Siluriformes; Ariidae) from El Salvador, with redescription of four species of the genus from North and Central American Pacific. Bulletin of Marine Science, 85(3), 245-280.

Marceniuk, A. P., Hilsdorf, A. W. D. S., & Langeani, F. (2011). The ichthyofauna from the headwaters of the rio Tietê, São Paulo, Brazil. Biota Neotropica, 11(3), 217-236.

Marceniuk, A. P., Menezes, N. A., & Britto, M. R. (2012). Phylogenetic analysis of the family Ariidae (Ostariophysi: Siluriformes), with a hypothesis on the monophyly and relationships of the genera. Zoological Journal of the Linnean Society, 165(3), 534-669. Doi: 10.1111/j.1096-3642.2012.00822.x.

Marceniuk, A. P., Siccha-Ramirez R, Barthem, R. B., Wosiacki, W. B. (2017). Redescription of *Notarius grandicassis* and *Notarius parmocassis* (Siluriformes; Ariidae), with insights into morphological plasticity and evidence of incipient speciation. Syst Biodivers. 15(3):274-89. Doi: 10.1080/14772000.2016.1256916.

Marceniuk, A. P., Burlamaqui, T. C. T, Oliveira, C., Carneiro, J, Eleres, B., Sales, J. B. L. (2019a). Incipient speciation, driven by distinct environmental conditions, in the marine catfishes of the genus *Aspistor* (Siluriformes, Ariidae), from the Atlantic coast of South America. J Zool Syst Evol Res. 57:1-18. Doi/full/10.1111/jzs.12261.

Marceniuk, A. P., Ingenito, L. F. D. S., Lima, F. C. T., Gasparini, J. L. R., & Oliveira, C. (2019b). Systematics, biogeography and conservation of *Paragenidens grandoculis* n. gen. and n. comb. (Siluriformes; Ariidae), a critically endangered species from southeastern Brazil. *Zootaxa*, 4586(3), 425-444. Doi: 10.11646/zootaxa.4586.3.2.

Marceniuk, A. P., Oliveira, C., Sales, J. B. L., & Betancur-R, R. (2022). The marine catfishes of the genus *Bagre* (Siluriformes; Ariidae) from the Western Atlantic. *Marine Biodiversity*, 52(1), 1-18. Doi:10.1007/s12526-021-01238-0.

Mendonça, J. T., Balanin, S., & Garrone-Neto, D. (2020). The marine catfish *Genidens barbatus* (Ariidae) fisheries in the state of São Paulo, southeastern Brazil: diagnosis and management suggestions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92. Doi: 10.1590/0001-3765202020180450.

Mérot, C., Stenløkk, K. S., Venney, C., Laporte, M., Moser, M., Normandeau, E., ... & Bernatchez, L. (2022). Genome assembly, structural variants, and genetic differentiation between Lake Whitefish young species pairs (*Coregonus* sp.) with long and short *reads*. *bioRxiv*. Doi: 10.1101/2022.01.15.476463.

Miller, M. R., Atwood, T. S., Eames, B. F., Eberhart, J. K., Yan, Y. L., Postlethwait, J. H et al. (2007). RAD marker microarrays enable rapid mapping of zebrafish mutations. *Genome Biology* 8: R105. Doi: 10.1186/gb-2007-8-6-r105.

Miranda-Ribeiro, A. (1918). Nova chave para a determinação das espécies do gênero *Tachysurus*. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciências*, 2: 108-111.

Morin, P. A., Matien, K. K., Taylor, B. L. (2009). Assessing statistical power of SNPs for population structure and conservation studies. *Molecular Ecology Resources*, 9 (1) 66-73. Doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02392.x.

Nelson, J. S, Grande, T. C; Wilson, M.V.H. (2016). *Fish of the World.*, Hoboken, John Willey & Sons Inc, New Jersey, Fourth, 5th ed.

Neves, J. M. M., Nolen, Z. J., Fabré, N. N., Pereira, Ricardo J. (2021). Genomic methods reveal independent demographic histories despite strong morphological conservatism in fish species. *Heredity* 127, 323–333. Doi: 10.1038/s41437-021-00455-4.

Olave, M., & Meyer, A. (2020). Implementing large genomic single nucleotide polymorphism data sets in phylogenetic network reconstructions: a case study of particularly rapid radiations of cichlid fish. *Systematic Biology*, 69(5), 848-862. Doi: 10.1093/sysbio/syaa005.

Paris, J. R., Stevens, J. R & Catchen, J. M. (2017). Lost in parameter space: a road map for stacks. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10), 1360-1373. Doi: 10.1111/2041-210X.12775.

Pedraza-Marrón, C. D. R., Silva, R., Deeds, J., Van Belleghem, S. M., Mastretta-Yanes, A., Domínguez-Domínguez, O., ... & Betancur-R, R. (2019). Genomics overrules mitochondrial DNA, siding with morphology on a controversial case of species delimitation. *Proceedings of the Royal Society B*, 286(1900), 20182924. Doi: 10.1098/rspb.2018.2924.

Peterson, B. K., J. N. Weber, E. H. Kay, H. S. Fisher, H. E. Hoekstra. (2017). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One*, 7 (2012), p. e37135. Doi:10.1371/journal.pone.0037135.

Pinheiro, H. T., Rocha, L. A., Macieira, R. M., Carvalho-Filho, A., Anderson, A. B., Bender, M. G., et al. (2018). South-western Atlantic reef fishes: zoogeographical patterns and ecological drivers reveal a secondary biodiversity centre in the Atlantic Ocean. *Divers. Distrib.* 24, 951-965. Doi: 10.1111/ddi.12729.

Pio, N., & Carvalho, T. (2021). Evidence on the paleodrainage connectivity during Pleistocene: Phylogeography of a hypoptopomatine endemic to southeastern Brazilian coastal drainages. *Neotropical Ichthyology*, 19, e200128. Doi: 10.1590/1982-0224-2020-0118.

Poland, J. A., Brown, P. J., Sorrells, M. E., & Jannink, J. L. (2012). Development of High-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *Plos one*, 7(2), e32253. Doi: 10.1371/journal.pone.0032253.

Puechmaille, S. J. (2016). The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular ecology resources*, 16(3), 608-627. Doi: doi.org/10.1111/1755-0998.12512.

Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, J. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Reis, E. G. (1986). Reproduction and feeding habitats of the marine catfish *Netuma barba* (Siluriformes, Ariidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, Brazil. *Atlântica* 8: 35-55.

Rousset F. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*, 8(1), 103-106. Doi: doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x.

Sebastian, W., Sukumaran, S., Abdul Azeez, S., Muraleedharan, K. R., Dinesh Kumar, P. K., Zacharia, P. U., & Gopalakrishnan, A. (2021). Genomic investigations provide insights into the mechanisms of resilience to heterogeneous habitats of the Indian Ocean in a pelagic fish. *Scientific reports*, 11(1), 1-16. Doi: 10.1038/s41598-021-00129-5.

Sprechmann, P. (1978). The paleoecology and paleogeography of the Uruguayan coastal area during the Neogene and Quaternary. *Zitteliana*, 4: 3-72.

Rimmer, M. A. (1985). Early development and buccal incubation in the fork-tailed catfish *Arius graeffei* Kner & Steindachner (Pisces: Ariidae) from the Clarence River, New South Wales. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 36, 405-411.

Rossi-Wongtshchowski, C. L. D. B., Valentin, J. L., Jablonski, S., Amaral, A. C., Hazin, F. H., & El-Robrini, M. (2006). Capítulo 1. Ambiente marinho. In Programa REVIZEE.

Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva (pp. 21–78). Relatório Executivo. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.

Santos, F. L. D. B. D. (2001). Levantamento da ictiofauna do estuário Rio Formoso através da pesca da camboa-Pernambuco. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 78p. 2001.

Saha, A., Kent, M., Hauser, L., Drinan, D. P., Nielsen, E. E., Westgaard, J. I., ... & Johansen, T. (2021). Hierarchical genetic structure in an evolving species complex: Insights from genome wide ddRAD data in *Sebastes mentella*. PloS one, 16(5), e0251976. Doi: /10.1371/journal.pone.0251976.

Schmidt, T. C. S., Martins, I. A., Reigada, A. L. D., Dias, J. F. (2008). Taxocenose de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da região estuarina de São Vicente, SP, Brasil. Biota Neotropica 8, 73-81. Doi: 10.1590/S1676-06032008000400006.

Schaeffer-Novelli, Y., Coelho-Junior, C.; Tognella-De-Rosa, M. (2001). Manguezais. Editora Gráfica Bernardi Ltda. São Paulo, p. 03-04.

Silva, C. C. F, Hilsdorf, A. W. S & Marceuniuk A. P. (2010). Caracterização molecular das espécies do gênero *Genidens*, (Siluriformes, Ariidae), bagres marinhos do sudeste-sul da América do Sul. XIII Congresso de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq/UMC).

Silva-Junior, D. R., Carvalho, D. M. T., Vianna, M. (2013). The catfish *Genidens genidens* (Cuvier, 1829) as a potential sentinel species in Brazilian estuarine waters. J. Appl. Ichthyol. 29, 1297-1303. Doi: /10.1111/jai.12280.

Silva-Junior, O. B., Faria, D. A., Grattapaglia, D. (2015). A flexible multi-species genome-wide 60K SNP chip developed from pooled resequencing of 240 Eucalyptus tree genomes across 12 species. New Phytologist, London, v. 206, n. 4, p. 1527-1540, June 2015. Doi: 10.1111/nph.13322.

Silva, W. C., Marceuniuk A. P, Sales, J. B. L, Araripe, J. (2016). Early Pleistocene lineages of *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Ariidae), from the Atlantic coast of South

America, with insights into the demography and biogeography of the species. *Neotrop Ichthyol* [serial on the Internet]. 14(2):e150184. Doi:10.1590/1982-0224-20150184.

Silva, J. D., Barletta, M., Lima, A. R., & Ferreira, G. V. (2018). Use of resources and microplastic contamination throughout the life cycle of grunts (Haemulidae) in a tropical estuary. *Environmental Pollution*, 242, 1010-1021. Doi: 10.1016/j.envpol.2018.07.038.

Spix, J. B. von & Agassiz, L. 1829-3. Selecta genera. et species piscium quos in itinere per Brasiliam anos MDCCCXVII-MDCCCXX jussu. et auspiciis Maximiliani Josephi I. colleget et pingendo curavit Dr J. B. de Spix Monachii. *Selecta Piscium Brasiliam*: Part 1: i-xvi + i-ii + 1-82, pls. 1-48; Part 2:83-138, pls. 49-101.

Stapley, J., Reger J., Feulner, P. G. D., Smadja, C., Galindo, J., Ekblom, R., Bennison C, Ball, A. D., Beckerman, A. P, Slate, J. (2010). Adaptation genomics: the next generation. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(12):705-712. Doi: 10.1016/j.tree.2010.09.002.

Stamatakis, A., (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 30, 1312–131. Doi:10.1093/bioinformatics/btu033.

Stange, M., Sánchez-Villagra, M. R., Salzburger, W & Matschiner, M. (2018). Bayesian divergence-time estimation with genome-wide SNP data of sea catfishes (Ariidae) supports miocene closure of the Panamanian isthmus. *Systematic Biology*, 67, 681-699. Doi: 10.5167/uzh-147496.

Stepien, C. A., R. H. Rosenblatt & B. A. Bargmeyer. (2001). Phylogeography of the spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*: divergence of Gulf of California and Pacific coast populations. *Evolution*, 55: 1852-1862. Doi: 10.1111/j.0014-3820.2001.tb00834.x.

Thomaz., A. T., Knowles., L. L. (2020). Common barriers, but temporal dissonance: Genomic tests suggest ecological and paleo-landscape sieves structure a coastal riverine fish community. *Mol. Ecol.*, 29. pp. 783-796. Doi: 10.1111/mec.15357.2020.

Unmack, P. J., Adams, M., Hammer, M. P., Johnson, J. B., Gruber, B., Gilles, A & Georges, A. (2022). Plotting for change: an analytical framework to aid decisions on which lineages are candidate species in phylogenomic species discovery. *Biological Journal of the Linnean Society*, 135(1), 117-137. Doi: 10.1093/biolinnean/blab095.

Velasco, G & Oddone M. C. (2004). Growth parameters and growth performance indexes for some populations of marine catfishes (Actinopterygii, Siluriformes, Ariidae). *Acta Biol Leopold* 26(2): 307-313.

Velasco, G., Reis, E. G & Vieira, J. P. (2007). Calculating growth parameters of *Genidens barbatus* (Siluriformes, Ariidae) using length composition and age data. *Appl Ichthyol* 23: 64-69. Doi: 10.1111/j.1439-0426.2006.00793.x.

Vendel, A. L. & P. T. C. Chaves. (2001). Baía de Guaratuba, Paraná: um estudo de caso sobre ictiofauna em estuários. p. 92 – 101. In: CHAVES, P. T. C. & VENDEL, A. L. *Reunião Técnica sobre ictiologia em estuários*. Curitiba. 101p.

Vilar, C. C., Joyeux, J. C., & Spach, H. L. (2017). Geographic variation in species richness, rarity, and the selection of areas for conservation: An integrative approach with Brazilian estuarine fishes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 196, 134-140. Doi: 10.1016/j.ecss.2017.06.022.

Weir, B. S, Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.

Wright, S. (1978). *Evolution and Genetics of Populations: Variability within and among Natural Populations*. University of Chicago Press, Chicago, 465 pp.

Yamahira, K., Mokodongan, D. F., Konishi, M., Mandagi, I. F., Masengi, K. W., Lawelle, S. A., ... & Inomata, N. (2022). Discovery of a genetically distinct lineage in medaka species within Lake Towuti in central Sulawesi. *Ichthyological Research*, 1-5. Doi: 10.1007/s10228-021-00856-9.

Yang, T. Y., Gao, T. X., Meng, W., & Jiang, Y. L. (2020). Genome-wide population structure and genetic diversity of Japanese whiting (*Sillago japonica*) inferred from genotyping-by-sequencing (GBS): Implications for fisheries management. *Fisheries Research*, 225, 105501. Doi: 10.1016/j.fishres.2020.105501.

Zhao, L., Qu, F., Song, N., Han, Z., Gao, T., & Zhang, Z. (2021). Population Genomics Provides Insights into the Population Structure and Climate-driven Adaptation of *Collichthys lucidus*. Doi: 10.21203/rs.3.rs-151802/v1.