

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA  
BIODIVERSIDADE**

**Os efeitos dos impactos antrópicos sobre a diversidade genética de  
peixes estuarinos e recifais em áreas do litoral brasileiro.**

**Orientador/e-mail:** Carlos Werner Hackradt/ [hackradtcw@ufsb.edu.br](mailto:hackradtcw@ufsb.edu.br)

**Co-orientadora:** Fabiana César Félix Hackradt/ [fabianacfh@ufsb.edu.br](mailto:fabianacfh@ufsb.edu.br)

**Nome do Candidato/e-mail:** Stefânia Pereira Santos/ [steefania\\_@hotmail.com](mailto:steefania_@hotmail.com)

**Nível/Ano de ingresso:** Doutorado/ 2020.1

**Ilhéus, Bahia**

**23/10/2020**

## RESUMO

Estressores antropogênicos, entre eles, a perda de habitat, superexploração dos recursos, invasão por espécies exóticas e poluição, podem afetar fortemente a genética e a dinâmica populacional das espécies, resultando na redução dos tamanhos populacionais até o ponto em que a estocasticidade contribui para aumentar ainda mais o risco de extinção. A diversidade genética é, portanto, a chave para a capacidade adaptativa das populações sujeitadas à seleção em ambientes extremos e variáveis. Desta maneira, o presente estudo pretende identificar o quanto diferentes impactos antrópicos podem alterar a estrutura e a diversidade genética em populações de peixes ao redor do mundo; e avaliar a estrutura e a diversidade genética em espécies de peixes estuarinos e recifais submetidas aos impactos da pesca; e da contaminação por metais pesados provenientes do rompimento de uma grande barragem de mineração. O trabalho será realizado comparando estudos, adquiridos em bancos de dados online, e através da genotipagem de amostras genéticas retiradas de indivíduos das espécies selecionadas em áreas diretamente afetadas pelos impactos antrópicos (pesca/ contaminação por metais pesados) e em áreas não afetadas, afim de comparar a estrutura genética populacional, a heterozigosidade genotípica e a presença de alelos exclusivos em amostras de DNA nuclear. Ao final, espera-se obter dados capazes de arguir discussões sobre os possíveis efeitos destes impactos na genética populacional das espécies envolvidas nestes processos e, além disso, reunir informações importantes para o estudo da genética populacional e para a execução de planos de manejo e recuperação das áreas estudadas nesta tese.

**Palavras – chave:** Genética da conservação, Diversidade genética, Impactos antrópicos, Peixes, Sobrepesca.

## 1. INTRODUÇÃO

Estressores antropogênicos, entre eles, a perda de habitat, superexploração dos recursos, invasão por espécies exóticas, introdução de doenças e poluição, podem afetar fortemente a genética e a dinâmica populacional das espécies, resultando na redução dos tamanhos populacionais até o ponto em que a estocasticidade contribui para aumentar ainda mais o risco de extinção (DLUGOSCH; PARKER, 2008; GAITHER et al, 2012; MATHISEN et al., 1996). Os fatores estocásticos abrangem tanto as catástrofes naturais, quanto a estocasticidade genética, ambiental e demográfica.

As respostas genéticas de organismos aquáticos à pressões antrópicas incluem não somente efeitos genotóxicos, mas também efeitos em nível populacional, ou seja, efeitos multigeracionais não sendo necessariamente resultantes de interações entre agentes químicos ou físicos e o DNA (THEODORAKIS, 2003) e refletem mudanças na estrutura e diversidade genética e nas frequências alélicas populacionais, afetando o crescimento, a plasticidade evolutiva, a sustentabilidade e a probabilidade de extinção das populações (BICKHAM et al. 2000; THEODORAKIS; WIRGIN 2002).

Para Allendorf et al., 2008, Jakobsdóttir et al., 2011 e Pinski;Palumbi, 2013 a sobre-exploração pesqueira, por exemplo, pode levar à perda da variação genética e uma redução consequente no potencial evolutivo e na capacidade adaptativa das espécies, Pérez-Ruzafa et al., 2006 acrescenta ainda a importância das áreas protegidas e da conectividade na manutenção da riqueza alélica e da heterozigosidade em peixes.

Além da pesca, pesquisas relacionadas à ambientes contaminados (BICKHAM et al., 2000; McMILLAN et al., 2006), espécies invasoras (DLUGOSCH; PARKER, 2008; GAITHER et al., 2012) e perda de habitat (SILVA-OLIVEIRA et al., 2008) tentam verificar uma relação positiva entre estes impactos e a redução da diversidade genética dentre as populações estudadas. Silva-Oliveira et al., 2008, por exemplo, atribuíram a perda de variabilidade genética, em uma espécie de garoupas, aos efeitos da sobrepesca e da perda de habitat. Por outro lado, diversos estudos mostram que populações geneticamente mais diversas são mais resilientes a distúrbios como condições ambientais extremas e pesca excessiva (EHLERS et al., 2008; KENCHINGTON, 2003; REUSCH et al., 2005).

Desta maneira, o estudo das variações genéticas tornou-se uma importante ferramenta em muitos programas de conservação, pois a baixa variação genética tem sido associada à depressão por endogamia, ao acúmulo de mutações deletérias e ao potencial adaptativo reduzido (FRANKHAM et al., 2002; WILLI et al., 2006). Ademais, as descobertas de que espécies ameaçadas apresentam menor diversidade genética, em média 35% menos heterozigosidade, do que espécies não ameaçadas intimamente relacionadas (SPIELMAN et al. 2004) aumentou, ainda mais, a preocupação sobre as implicações da baixa variação genética. (McCUSKER; BENTZEN, 2010).

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo geral deste projeto é avaliar como distintos impactos antrópicos afetam a diversidade e a estrutura genética de populações de espécies de peixes marinhos. A presente tese será dividida em três capítulos e a seguir serão apresentados os objetivos de cada um deles:

### **Capítulo 1: A influência dos impactos antrópicos sobre a diversidade genética de peixes marinhos em ameaça de extinção.**

- Realizar uma revisão sistemática dos estudos que documentaram como diferentes impactos antrópicos podem alterar a estrutura e a diversidade genética em populações de peixes marinhos sob ameaça de extinção.

### **Capítulo 2: Efeitos da atividade pesqueira sobre a diversidade genética das populações de *Scarus trispinosus*, no litoral sul da Bahia.**

- Para testar a hipótese de que a atividade pesqueira pode resultar na perda de diversidade genética intraespecífica, este estudo pretende analisar a estrutura e a diversidade genética de populações de *Scarus trispinosus*, uma espécie-alvo da pesca, em áreas marinhas protegidas e não protegidas no litoral sul baiano.

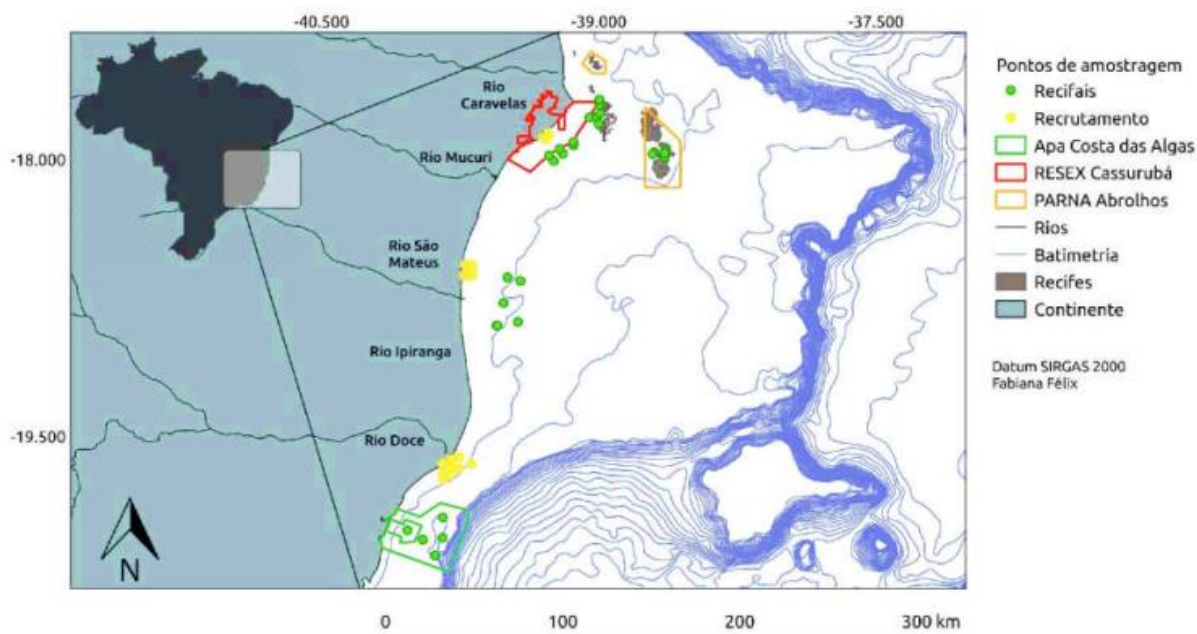
### **Capítulo 3: Diversidade genética populacional em peixes estuarinos e recifais após a ruptura de uma grande barragem de mineração no rio Doce, sudeste do Brasil.**

- Determinar se as populações de três espécies de peixes de um habitat diretamente afetado pelos dejetos liberados no rompimento da barragem do Fundão, em Mariana (MG) são geneticamente diferentes das populações amostradas em habitats limpos.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Área de estudo

O presente estudo, incluindo a coleta das amostras, será desenvolvido no âmbito da Rede Rio Doce Mar (RRDM) e com suporte do Laboratório de Ecologia e Conservação Marinha da Universidade Federal do Sul da Bahia, campus Sosígenes Costa, em Porto Seguro (LECOMAR/UFSB). Para objetivá-lo, as amostragens serão realizadas desde a cidade de Itacaré, litoral sul baiano, passando por Porto Seguro e pelo banco dos Abrolhos, no extremo sul da Bahia, até a costa do estado do Espírito Santo.



**Figura 1.** Mapa da área de amostragem. Os pontos em verde indicam os locais onde serão coletados os tecidos biológicos dos peixes recifais, enquanto os pontos em amarelo indicam as coletas que serão realizadas em peixes estuarinos. O mapa não mostra os sítios amostrais de Porto Seguro e Itacaré, que se localizam em direção norte ao arquipélago dos Abrolhos. (Adaptado do anexo do Relatório do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, da Rede Rio Doce Mar.

#### Capítulo 1:

Será realizado um levantamento bibliográfico abrangente a estudos publicados nos últimos 30 anos e que tenham documentado ou relacionado a estrutura e a diversidade genética de peixes marinhos sob ameaça de extinção a impactos antrópicos ao redor do mundo. Este levantamento será baseado em artigos científicos publicados em bases de dados e bibliotecas eletrônicas de textos científicos, como Scopus (<https://www.scopus.com>) e Web of Science (<https://www.isiknowledge.com>).

Para direcionar as pesquisas utilizaremos as seguintes palavras-chave: “Genetic diversity” AND “Fishes” AND “Anthropogenic impacts” OR “Overfishing” OR “Aquatic contamination” OR “Habitat loss” OR “Invasives species” OR “Climate changes” no título, resumo e/ou palavras-chave das referências. Para complementar os dados, será feita pesquisa no Google Scholar (<https://scholar.google.com.br>) usando as expressões, “Genetic diversity”, “Genetic conservation” e “Fishes”.

Para cada estudo serão retiradas as seguintes informações: (i) ano de publicação; (ii) jornal de publicação; (iii) fator de impacto do jornal; (iv) local onde o estudo foi conduzido (estuários, recifes, oceano); (v) características dos estudos e das espécies como: status de conservação das espécies, hábito, habitat. (vi) extensão da área de estudo, (vii) status da área de estudo (preservada/antropizada/ambos); (viii) tipo de impacto

antrópico e os (ix) efeitos da mudança ambiental sobre estrutura e diversidade genética da população.

## **Capítulo 2.**

Para estudar os efeitos da pesca sobre a diversidade genética em populações de *S. trispinosus*, na costa da Bahia, três localidades do extremo sul do estado serão amostradas, sendo uma delas todo o Banco dos Abrolhos, reserva protegida de pesca marinha (Figura 1), e duas áreas vizinhas não protegidas: Porto Seguro e Itacaré.

Cabe ressaltar que o Banco dos Abrolhos é uma expansão de cerca de 200 km da plataforma continental (DUTRA et al., 2011). A área abriga o maior complexo de recifes do Atlântico Sul, o que lhe atribui alta biodiversidade e altos níveis de endemismo (MOURA et al. 2013; FREITAS, 2014). Por conta da presença de ambientes frágeis e com grande importância ecológica encontram-se nessa região uma unidade de conservação de proteção integral, denominada Parque Nacional Marinho de Abrolhos (PARNA Abrolhos), duas unidades de uso sustentável, como as Reservas Extrativistas de Cassurubá (RESEX Cassurubá) e Corumbau (RESEX Corumbau), além da Área de Proteção Ambiental da Ponta das Baleiras/ Abrolhos (APA Ponta das Baleias/ Abrolhos). Apesar sua área limitada, as AMP's acabam sendo a principal ferramenta de gerenciamento da pesca nesta região.

Por outro lado, os municípios de Itacaré e Porto Seguro são reconhecidos como um importante fornecedor de pescado proveniente da pesca artesanal, que é essencial para a cadeia produtiva local.

## **Capítulo 3**

A região a ser estudada compreende o estuário do Rio Doce, no litoral capixaba, e áreas adjacentes a ele.

O Rio Doce é o maior rio do estado do Espírito Santo. Ele abriga ampla biodiversidade e alto endemismo, abrigando espécies de grande importância ecológica, que dependem dele para efetuar suas necessidades biológicas e funcionais (MATTHEWS-CASCON et al., 2018, FERNANDES et al., 2020).

Em novembro de 2015, o Rio Doce foi diretamente afetado pela ruptura da barragem do Fundão da mineradora Samarco, que culminou no maior desastre provocado pela mineração no Brasil e acabou por dizimar milhares de organismos em todo o percurso atingido (GARCIA et al., 2017). A chegada da lama ao estuário do rio Doce e áreas marinhas próximas modificou imediatamente as concentrações de elementos químicos, como ferro, alumínio e magnésio, por exemplo (NETO, 2016) que continuaram a se mover em direção ao oceano e se acumular nos sedimentos, aumentando progressivamente os riscos biológicos às populações locais (QUEIROZ et al., 2018; FERNANDES et al., 2020).

Assim, a presente área de estudo compreende dois estuários do litoral capixaba e um do litoral sul baiano, a saber: I. Rio Doce; II. Rio São Mateus; e III. Rio Mucuri, respectivamente. Ademais, amostragens também serão realizadas em áreas recifais: I. APA Costa das Algas, que compreende a área direta de impacto e duas áreas controle – II. Recifes Esquecidos e III. Recifes adjacentes da RESEX Cassurubá (Figura 1)

O intuito deste desenho amostral é comparar amostras de peixes coletados em áreas diretamente afetadas pelo rompimento da barragem com outras amostras de peixes

das mesmas espécies em áreas que não foram diretamente expostas aos metais contaminantes.

### **3.2 Procedimento Amostral**

#### **Capítulo 2**

Serão obtidos, no mínimo, 50 exemplares da espécie selecionada, de onde serão retiradas as amostras para análise genética, em cada uma das áreas escolhidas para este estudo.

Em áreas marinhas protegidas da pesca, a captura dos peixes será realizada por meio de coleta manual, executada por mergulhadores, utilizando puçás. Já em áreas não protegidas as amostras serão obtidas através de visitas a desembarques pesqueiros nas cidades de Porto Seguro (BA) e Itacaré (BA). As amostras consistem em um pedaço de tecido de aproximadamente 5 cm<sup>2</sup>, que serão retirados da nadadeira caudal de cada exemplar, através de uma pequena incisão para retirada do tecido.

Todos os tecidos amostrados serão acondicionados em criotubos contendo álcool PA, devidamente identificados com os códigos dos indivíduos e os locais de amostragem e serão armazenados, em laboratório, em ambiente refrigerado a -20°C até o momento da extração.

#### **Capítulo 3**

As amostras de tecidos utilizadas nesta etapa do estudo para obtenção do material genético serão obtidas de, no mínimo, 50 exemplares de 3 espécies de peixes: 2 estuarinas e 1 recifal. Os exemplares das espécies alvo serão capturados a partir da visitação a desembarques pesqueiros em cada localidade do estudo.

Porções de tecidos contendo fragmentos de músculos, preferencialmente associados à gordura para posterior análise toxicológica, serão adquiridos a partir de uma pequena incisão realizada com uma tesoura limpa, e posteriormente, serão armazenados em criotubos, devidamente identificados, contendo álcool PA e mantidos refrigerados (-20°C), em laboratório, até o momento do processamento e extração.

### **3.3 Extração, amplificação e genotipagem**

#### **Capítulo 2/ Capítulo 3**

Todo o processo de extração, amplificação e genotipagem do DNA a serem realizados, nos capítulos 2 e 3 deste estudo, seguirá protocolo padronizado pelo Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, da RRDM e será desenvolvido no laboratório LECOMAR.

A extração do DNA das amostras será baseada no protocolo de Sambrook et. al., (1989), que consiste, basicamente, na digestão proteica do tecido amostrado pela enzima proteinase, decantação do DNA através da adição de etanol, lavagens para remover as contaminações e, finalmente, eluição do DNA. A quantidade e verificação de contaminação das amostras extraídas serão realizadas no equipamento Qubit Fluorométric Quantitation (ThermoFisher Scientific).

O processo de amplificação a partir da reação da polimerase em cadeia (PCR) será realizado, a partir do DNA nuclear, com marcadores moleculares microssatélites. Caso as espécies escolhidas ainda não tenham locos microssatélites descritos na literatura, será realizada a prospecção de locos específicos para a espécie em questão, a partir de serviço

contratado. Para o *S. trispinosus*, por exemplo, já existem locos microssatélites (SruC127, Sru-D5, Sru-A7, Sru-A8, Sru-A9) descritos por Carlon e Lippé, 2007 .

As amplificações serão efetuadas no Termociclador Veriti 96 (Applied Biosystems), utilizando-se os reagentes do protocolo, iniciadores (primers) específicos para o gene escolhido, 1 unidade da enzima Taq polimerase e 1 µl de solução de extração do DNA. As condições da termociclagem da PCR, com temperatura e rotação adequados, ainda serão testados e protocolados, pois variam entre as espécies. Os segmentos de DNA amplificados resultantes serão visualizados após eletroforese em gel de agarose a 1%.

Após a purificação das amostras, usando kit ExoSAP- T, as fitas do DNA amplificadas serão genotipadas em um sequenciador automático modelo SeqStudio Genétic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) e os alelos serão visualizados através do programa GeneMapper ID-X (ThermoFisher Scientific).

## **4. ANÁLISE DA DADOS**

### **Capítulo 1**

Será realizado um estudo meta-analítico, selecionando publicações de impacto que detalhem a relação entre estressores antrópicos e a diversidade genética das populações relacionadas. A diversidade de revistas será estimada através do índice de diversidade de Shannon-Wiener [ $H' = -\sum p_i * \ln p_i$ ], ( $p_i = n_i/N$ ), em que  $p_i$  é a abundância relativa de revistas,  $n_i$  o número de revistas em um intervalo de tempo e  $N$  o número total de revistas. As análises de correlação múltipla e a Análise de Componentes Principais (PCA) serão realizadas utilizando o software R 4.0.2 (R Core Team, 2020).

### **Capítulo 2/ Capítulo 3**

Os genótipos resultantes serão testados para verificar se há evidência de desvio do equilíbrio de Hardy- Weinberg (EHW), através do teste de Guo e Thompson (1992). A heterozigosidade esperada (HE), a heterozigosidade observada (HO), o coeficiente de endogamia (FIS), a riqueza alélica e o número de alelos por loco (A), serão utilizados como índices de diversidade cujos testes serão realizados pelo Software Arlequin 3.5.1.3 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010).

Para identificar erros de genotipagem que podem ocorrer durante o processo de amplificação e avaliar a existência de alelos nulos e/ou a perda de alelos será utilizado o programa Micro-Checker V.2.2.3. (VAN OOSTERHOUT et al., 2004).

Uma análise de variância molecular (AMOVA) será realizada para testar a heterogeneidade genética e espacial entre os genótipos utilizando o programa Arlequin 3.5.1.3 (EXCOFFIER et al., 2005) e a estatística F de Wright (1949, 1965), sendo a significância estatística do FST (índice de fixação) determinada por permutações não paramétricas (EXCOFFIER, et al., 1992). A Estatística F de Wright (1949, 1965) quantifica o efeito de endocruzamento da subdivisão populacional denominado índice de fixação. Esse índice é um excelente indicador da diferenciação genética, pois permite uma comparação objetiva do efeito geral da estrutura populacional entre diferentes organismos (HARTL; CLARK, 2010). Segundo Wright (1978), os valores de Fst entre 0 e 0,05 indicam uma baixa estruturação genética, entre 0,05 e 0,15 estruturação moderada, entre 0,15 e 0,25 alta e acima de 0,25 uma forte estruturação genética.

Para avaliar a neutralidade do processo de seleção natural serão usados os testes de  $F_s$  de  $F_u$  (FU, 1997) e  $D$  de Tajima (TAJIMA, 1989) executados no programa DnaSP. Se o resultado destes testes indicarem não significativos podemos dizer que as populações estão em equilíbrio genético. Para estimar os valores  $F$  e  $D$  de  $F_u$  e  $L_i$  que são testes de neutralidade mais sensíveis aos eventos de seleção foi utilizado o software Arlequin 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010).

Para detectar alterações recentes no tamanho efetivo populacional, será utilizado o programa BOTTLENECK (PIRY et al., 1999). As análises, a partir de modelos independentes, verificam se as populações se encontram em equilíbrio entre mutação e deriva genética. O programa prova a hipótese de  $H_e > H_{eq}$  sob os modelos citados acima, sendo  $H_e$  = heterozigosidade esperada e  $H_{eq}$  = heterozigosidade esperada no equilíbrio entre mutação e deriva (PIRY et al., 1999).

Por fim, para avaliar a existência de subdivisões entre as populações amostradas, será utilizado o programa Structure 2.3.3 (Pritchard; Web 2004). Os resultados finais gerados no Structure serão analisados utilizando-se o Structure Harvester (EARL; VON HOLDT, 2012), a partir da avaliação do número mais provável de distintos clusters (EVANNO et al., 2005).

## 5. IMPACTOS DO ESTUDO PARA A CONSERVAÇÃO

A diversidade genética é a chave para a capacidade adaptativa das populações, principalmente quando genótipos importantes para a aptidão são sujeitos à seleção em ambientes extremos e variáveis (KETCHUM, 2015). A homogeneidade genética pode levar a diminuição do potencial adaptativo das populações em ambientes sob condições estressoras e de mudança (KETCHUM, 2015). Estudos genéticos podem ajudar a determinar a capacidade de adaptação das populações e a prever como uma determinada espécie pode se comportar em condições de mudanças ambientais (BURT et al., 2009; PINSKY; PALUMBI, 2014).

Desta maneira, o presente estudo pretende obter dados da estrutura e da diversidade genética de peixes que são expostos a impactos antrópicos extremos em comparação com indivíduos da mesma espécie que vivem em áreas menos perturbadas, e a partir dessa comparação, ter base para discutir sobre os possíveis efeitos destes impactos sobre a diversidade e a estrutura genética populacional das espécies envolvidas nestes processos. Além disso, este estudo também fornecerá informações importantes para o estudo da genética populacional e para planos de manejo e recuperação das áreas estudadas nesta tese.

## REFERÊNCIAS

- ALLENDORF, F. W.; ENGLAND, P. R.; LUIKART, G.; RITCHIE, P. A.; RYMAN, N. Genetic effects of harvest on wild animal populations. *Trends in Ecology & Evolution* v. 23: p. 327–337, 2008.
- BICKHAM JW, SANDHU S, HEBERT PDN, et al. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations, implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutat Res – Ver.* v. 463: p. 33-51, 2000.
- BURT, J., BARTHOLOMEW, A., USSEGLIO, P., BAUMAN, A., SALE, P.F. Are artificial reefs surrogates of natural habitats for corals and fish in Dubai, United Arab Emirates? *Coral Reefs*. V.28: p. 663–675, 2009.



CAVALCANTI, G., GREGORACCI, G.B., MOURA, R.L., AMADO-FILHO, G., LONGO, L.L., BASTOS, A.C., FERREIRA, C.M., FRANCINI-FILHO, R.B., PARANHOS, R., GHISOLFI, R.D., KRÜGER, R., GÜTH, A.Z., SUMIDA, P.Y.Z., MAIA-NETO, O., SANTOS, E.O., LIDA, T., THOMPSON, F.L. Sinkholes-like structures as bioproductivity hotspots in the Abrolhos Bank. *Continental Shelf Research*, v. 70, pp. 126–134, 2013.

DLUGOSCH, K. M.; PARKER, I. M. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, Lag times and introduced fishes in Hawai'i and the role of multiple introductions. *Mol. Ecol.* v. 1, p. 431–449, 2008.

DUTRA, G. F., CAMARGO, E., SANTOS, C. A. P. D., & CEOTTO, P. Abrolhos: desafios para a conservação e o desenvolvimento sustentável na área com a maior biodiversidade marinha do Atlântico Sul. *Field Actions Science Reports. The journal of field actions*, v. 3 (3): p. 0-6, 2011.

EARL, D. A.; VON HOLDT, B.M. Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resource*, V. 4, p. 359-361, 2012.

EHLERS, A., WORM, B., REUSCH, T.B. Importance of genetic diversity in eelgrass *Zostera marina* for its resilience to global warming. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* v. 355, p. 1–7, 2008.

EVANNO, G. REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, v. 14, p. 2611 – 2620, 2005.

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(3), 564- 567.

EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S. ARLEQUIN. An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* v. 1: p. 47-50, 2005.

EXCOFFIER, L., SMOUSE, P.E., QUATTRO, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.

FRANKHAM, R., BALLOU, J. D. & BRISCOE, D. A. *Introduction to Conservation Genetics* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K), 2002.

FREITAS, M.O., Auto- Ecologia De *Epinephelus Morio* E *Mycteroperca Bonaci* Epinefelídeos Comercialmente Importantes E Ameaçados No Banco Dos Abrolhos. Tese (Doutorado em Ecologia e Conservação) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

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

GARCIA, L.C.; RIBEIRO, D.B.; ROQUE, F.DE O.; OCHOA-QUINTERO, J.M.; LAURANCE, W.F. Brazil's worst mining disaster: Corporations must be compelled to pay the actual environmental costs. *Ecological Applications*. v. 27(1), p. 5-9, 2017.

GAITHER M.R.; TOONEN, R. J.; BOWEN, B.W. Coming out of the starting blocks: extended lag time rearranges genetic diversity in introduced marine fishes of Hawai'i. *Proc. R. Soc. B.* v. 279, p. 3948–3957, 2012.

GUO, S.W.; THOMPSON, E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, v. 48, p. 361 – 372, 1992.

JAKOBSDÓTTIR, K. B. et al. Historical changes in genotypic frequencies at the Pantophysin locus in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in Icelandic waters: evidence of fisheries-induced selection? *Evol Appl.* v. 4(4): p. 562–573, 2011.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. *Princípios de Genética de Populações*. 4ª ed. Editora Artmed: Porto Alegre, 2010.

- KETCHUM, R. N. et al. Levels of genetic diversity and taxonomic status of *Epinephelus* species in United Arab Emirates fish markets. *Marine Pollution Bulletin*, 2015.
- KENCHINGTON, E.L.; HEINO, M.; NIELSEN, E. EG. The effects of fishing on species and genetic diversity. *Responsible Fisheries in the Marine Ecosystem*, p. 235, 2003.
- MATHISEN, OLE A. Human population effects on genetic diversity of salmonid fishes. *Geojournal*. v. 40: p. 165-169, 1996.
- MATTHEWS-CASCON, H., BEZERRA, L.E.A., BARROSO, C.X., RABAY, S.G., MOREIRA, A.K., ROCHA, V.P., DE OLIVEIRA SOARES, M. Marine benthic communities affected by the Doce River (southwestern Atlantic): Baseline before a mining disaster. *Marine Pollution Bulletin* v. 135, p. 1000-1006, 2018.
- MCCUSKER, M.R.; BENTZEN, P. Positive relationships between genetic diversity and abundance in fishes. *Molecular Ecology*, v. 19, p. 4852–4862, 2010.
- MCMILLAN, A. M. et al. Genetic diversity and structure of an estuarine fish (*Fundulus heteroclitus*) indigenous to sites associated with a highly contaminated urban harbor. *Ecotoxicology* v. 15: p. 539–548, 2006.
- MOURA, R. L., SECCHIN, N. A., AMADO-FILHO, G. M., FRANCINI-FILHO, R. B., FREITAS, M. O., MINTE-VERA, C. V., BASTOS, A. C. Spatial patterns of benthic megahabitats and conservation planning in the Abrolhos Bank. *Continental Shelf Research*, v. 70, pp. 109–117, 2013.
- NETO, R. The Worst Brazilian Environmental Disaster Altered the Distribution of Metals in Water at the Doce River Estuary and Marine Region. *Proceedings of the 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment*, 2016.
- PÉREZ-RUZAFÁ, Á., et al. Effects of fishing protection on the genetic structure of fish populations. *Biological Conservation*. v. 129. p. 244 – 255, 2006.
- PINSKY, M.L.; PALUMBI S.R. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations. *Mol Ecol*. v. 23(1): p. 29-39, 2014.
- PIRY, S., LUIKART, G., CORNUET, J.M. 1999. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90, 502-503.
- PRITCHARD, J. K.; WEN, W. Documentation for Structure software: version 2. Chicago (IL). Department of Human Genetics, University of Chicago, 2004.
- QUEIROZ, H.M., NÓBREGA, G.N., FERREIRA, T.O., ALMEIDA, L.S., ROMERO, T.B., SANTAELLA, S.T., BERNARDINO, A.F., OTERO, X.L. The Samarco mine tailing disaster: A possible timebomb for heavy metals contamination?. *Science of the Total Environment*. v. 637, p. 498-506, 2018.
- REUSCH T.B.H; EHLERS A.; HÄMMERLI A.; WORM B. Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc Natl Acad Sci USA* v. 102: p. 2826–2831, 2005.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.; MANIATS, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Press, New York, 1989.
- SILVA-OLIVEIRA, G. C. et. al. Genetic characterisation of populations of the critically endangered Goliath grouper (*Epinephelus itajara*, Serranidae) from the Northern Brazilian coast through analyses of mtDNA. *Genetics and Molecular Biology*, 31, 4, p. 988-994, 2008.
- SPIELMAN, D.; BROOK, B. W.; FRANKHAM, R. Most Species Are Not Driven to Extinction before Genetic Factors Impact Them. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v. 101(42): p.15261–64, 2004.

- TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, v. 123: p. 585-595, 1989.
- THEODORAKIS C.W; WIRGIN I. Genetic Responses As Population-Level Biomarkers Of Stress In Aquatic Ecosystems. In: Adams SM (ed), *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Health*, pp 123-149, 2002.
- THEODORAKIS C.W. Establishing Causality between Population Genetic Alterations and Environmental Contamination in Aquatic Organisms, *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, v. 9:1, p. 37-58, 2003.
- VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS D.P.M.; SHIPLEY, P. Microchecker: Software for indentifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, v.4, p.535 – 538, 2004.
- WILLI, Y.; VAN BUSKIRK, J.; HOFFMANN, A. A. Limits to the adaptive potential of small populations. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, v. 37: p. 433–458, 2006.
- WRIGHT S. Population structure in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. V. 93(6): p. 471- 478, 1949.
- WRIGHT S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*; v. 19(3): p. 395-420, 1965.
- WRIGHT S. *Evolution and genetics of populations: variability within and among natural populations*. Chicago: University of Chicago Press, 1978.