



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
NÚCLEO DE GERENCIAMENTO COSTEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERENCIAMENTO COSTEIRO



RENAN COSTA MACHADO

**Caracterização molecular dos estoques de miragaia *Pogonias cromis*
(Sciaenidae) no Atlântico Sul Ocidental como subsídio para a gestão da
pesca**

Rio Grande, RS
2018

RENAN COSTA MACHADO

**Caracterização molecular dos estoques de miragaia (*Pogonias cromis*,
Sciaenidae) no Atlântico Sul Ocidental como subsídio para a gestão da
pesca**

Versão Original

Dissertação apresentada ao Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande para obtenção do título de Mestre em Gerenciamento Costeiro pelo Programa de Pós-graduação em Gerenciamento Costeiro.

Área de Concentração:
Gerenciamento Costeiro Integrado

Linha de Pesquisa:
Caracterização e Diagnóstico de Sistemas Marinhos e Costeiros

Orientador:
Prof. Dr. Manuel Haimovici

Co-orientadora:
Profa. Dra. Maira Proietti

Rio Grande, RS
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Universidade Federal do Rio Grande. Instituto de Oceanografia)

M149c Machado, Renan Costa.
Caracterização molecular dos estoques de miragaia
Pogonias cromis (Sciaenidae) no Atlântico Sul Ocidental como
subsídio para a gestão da pesca / Renan Costa Machado. – 2018.
58 p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio
Grande –FURG, Programa de Pós-Graduação em Gerenciamento
Costeiro, Rio Grande/RS, 2018.

Orientador: Dr. Manuel Haimovici.

Coorientadora: Dra. Maira Carneiro Proietti.

1. Pesca 2. Pogonias cromis 3. mtDNA 4. Manejo 5.
Diversidade genética I. Haimovici, Manuel II. Proietti, Maira
Carneiro III. Título.

CDU 574.62

Nome: MACHADO, Renan Costa

Título: Caracterização molecular dos estoques de miragaia *Pogonias cromis* (Sciaenidae) no Atlântico Sul Ocidental como subsídio para a gestão da pesca

Dissertação apresentada ao Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande para obtenção do título de Mestre em Gerenciamento Costeiro pelo Programa de Pós-graduação em Gerenciamento Costeiro.

Área de Concentração:
Gerenciamento Costeiro Integrado

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Manuel Haimovici, Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Prof (a). Dr (a). Maíra Proietti, Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Prof. Dr. Jorge Pablo Castello, Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Prof. Dr. Rodrigo Maggioni, Universidade Federal do Ceará - UFC

Dedico este trabalho à minha querida e amada vó Elza.

Agradecimentos

Aos meus amados pais Valério e Ângela, aos meus irmãos Márcio e Lelo, ao pequeno Heitor meu sobrinho e cunhadas, Rosana e Gabriela por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos.

À Bia, minha namorada amada, pelo companheirismo, pelo apoio e por me ouvir sempre que precisei.

Ao meu orientador Manuel Haimovici pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, ensinamentos profissionais e empenho dedicado para realizar este trabalho.

À minha co-orientadora Maíra Proietti, pelas sugestões, ensinamentos e todo aprendizado que consegui obter com sua ajuda.

À querida amiga Cristina Flores, que ensinou com paciência tudo sobre as técnicas de laboratório e ferramentas moleculares com clareza, objetividade sempre com muita vontade e carinho.

Aos meus amigos de Universidade e laboratório, Christopher, Pedro, Wilson, Milena, Gabriel, Ana Luzia, Paula, Lucas, Dona Mara, Ana Mai, Samanta, Sarah, Ileana, Mari, Cíntia, Lu, Marcos, Roberta, Rony, Felipe e Camila, pela companhia e amizade.

Aos amigos Alexandre Bitencourt, Alexandre Atinkson, Henrique Lorea, Lennon, Matheus, Vitor e Ruth que contribuíram com jogatinas, conselhos, conversas sobre a vida e colaborações para assuntos sobre games, quadrinhos e filmes.

A todos, muito obrigado.

‘Muito a aprender você ainda tem,
paciência você deve ter.’
(Mestre Yoda)

RESUMO

MACHADO, Renan, Costa. Caracterização molecular dos estoques de miragaia *Pogonias cromis* (Sciaenidae), no Atlântico Sul Ocidental como subsídio para a gestão da pesca. 2018. 58p. Dissertação (Mestrado em Gerenciamento Costeiro) – Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2018.

A delimitação de unidades de manejo é um aspecto importante para o desenvolvimento e implementação de programas de gestão e uso sustentável de recursos pesqueiros. Análises genéticas podem fornecer informações úteis para a definição de unidades populacionais, taxas de migração, e mudanças nos tamanhos efetivos de população em grandes escalas de tempo. A miragaia *Pogonias cromis* é um peixe que habita estuários, baías e águas costeiras de ambos os hemisférios do Atlântico Ocidental, incluindo o Brasil, Uruguai e Norte de Argentina. Intensamente explorada no estuário da Lagoa dos Patos no Sul do Brasil, seu estoque local considera-se colapsado e desde 2014 consta na Lista Nacional de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. Neste estudo avaliamos a genética populacional de *Pogonias cromis* do sul do Brasil e das margens Argentina e Uruguia do Rio da Prata, utilizando a região controle do DNA mitocondrial. Mostramos que no extremo sul de sua distribuição a espécie *Pogonias cromis* constitui uma população panmítica em leve expansão e com elevada diversidade e conectividade genética. Estas características favorecem a resiliência da população diminuindo o risco de extinção dos estoques locais. No entanto, a lenta recuperação da miragaia após o colapso da sua pescaria na Lagoa dos Patos mostra que o processo de recolonização é lento e que o estoque desovante local, impactado pela pesca na região, pode ser considerado um estoque unitário em termos de manejo, independente das estratégias de manejo dos estoques Uruguai e Argentina. No

entanto, idealmente um plano de manejo integrado deve ser considerado para esta população panmítica, uma vez que impactos e esforços de conservação são compartilhados entre as áreas.

ABSTRACT

MACHADO, Renan, Costa. Molecular characterization of black drum *Pogonias cromis* (Sciaenidae) stocks in the Western South Atlantic as a basis for fisheries management. 2018. 58 p. Thesis (Master of Science in Coastal Management) – Oceanography Institute, Federal University of Rio Grande, Rio Grande, 2018.

The delimitation of management units is an important aspect for the development and implementation of fishery stock management and sustainable use programs. Genetic analyses can provide useful information for the definition of population units, migration rates and changes in effective population sizes over long time frames. The black drum *Pogonias cromis* is a fish that inhabits estuaries, bays and coastal waters of both hemispheres of the Western Atlantic, including Brazil, Uruguay and Northern Argentina. Intensely exploited at the Patos Lagoon Estuary in South Brazil, its local stock is considered collapsed and since 2014 it is included in the National List of Endangered Fauna. Here we studied the population genetics of *Pogonias cromis* from South Brazil and the Argentinean and Uruguayan margins of the La Plata River, using the mitochondrial DNA control region. We showed that at the extreme south of its distribution, *Pogonias cromis* constitutes a panmictic population undergoing subtle expansion and with elevated genetic diversity and connectivity. These characteristics favor resilience of the population, decreasing the extinction risk of local stocks. However, the slow recovery after the black drum fisheries collapse at Patos Lagoon indicated that the recolonization process is slow and that the local reproductive stock, impacted by regional fisheries, can be considered a unique stock in terms of management, independent of Uruguayan and Argentinean management strategies. However, ideally an integrated

management plan should be considered for this panmictic population, since impacts and conservation efforts are shared between areas.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Toneladas anuais de *Pogonias cromis* desembarcadas pela frota pesqueira no sul do Brasil, Uruguai e Argentina entre 1976 e 2016. Fonte de dados: CEPRG, CTMFM e MAGyP. 20
- Figura 2. Locais de amostragem de *Pogonias cromis*, com o número de amostras coletadas: Baía de Samborombón, Argentina, Litoral Uruguaio e Estuário da Lagoa dos Patos, RS (seta em vermelho)..... 24
- Figura 3. Perfil eletroforético das bandas de mtDNA amplificadas (~950 pb da região D-Loop) em gel de agarose 1%. 28
- Figura 4. Rede de haplótipos de *Pogonias cromis* nas regiões estudadas. Cada círculo representa um haplótipo distinto, sendo o tamanho proporcional à frequência dos mesmos. Cores representam os diferentes locais de amostragem e traços representam o número de mutações entre haplótipos. ... 32
- Figura 5. Distribuição *mismatch*, modelos simulados de expansão e valores dos testes Tajimas's D e Fu'sFs com probabilidade associada para as regiões amostradas, com base no D-Loop do mtDNA. 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes e suas concentrações finais em cada reação de PCR. .27

Tabela 2. Diversidade da região controle do DNA mitocondrial de *Pogonias cromis* das três áreas amostradas. H = número de haplótipos, h = diversidade haplotípica e π = diversidade nucleotídica.31

Tabela 3. Índice de fixação (F_{ST}) entre as regiões de amostragem de *Pogonias cromis*. Valores de F_{ST} se encontram abaixo da diagonal, e o respectivo p-valor acima da diagonal.33

Tabela 4. Parâmetros demográficos das populações estudadas: número de sítios polimórficos (S); tamanho da população antes da expansão (θ_0); tamanho da população após a expansão (θ_1); parâmetro de expansão (τ); tempo desde possíveis expansões populacionais (t) (anos); soma dos desvios quadrados (SSD) e valor p associado; índice de *Raggedness* valor p associado.36

Tabela 5. Índices de diversidade nucleotídica encontrados para espécies marinhas e estuarinas no Atlântico Sul Ocidental. ELP: Estuário da Lagoa dos Patos; LU: Litoral Uruguaio; BS: Baía de Samborombón.38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO GERAL	22
3. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Amostragem e área de estudo	23
4.2 Extração de DNA genômico	25
4.3 Amplificação e sequenciamento da região controle do mtDNA.....	26
4.4 Análise dos dados	28
5. RESULTADOS	30
6. DISCUSSÃO	36
6.1 Diversidade genética	36
6.2 Estrutura e conectividade populacional.....	39
6.3 Demografia histórica.....	43
6.4 Implicações para conservação e gerenciamento	44
6.5 Conclusões	45
6.6 Sugestões para futuros trabalhos.....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

A delimitação de unidades de manejo é um aspecto importante para a implementação de programas de conservação e uso sustentável de recursos pesqueiros (Begg & Waldman, 1999; Cadrin *et al*, 2014). Na literatura pesqueira a menor unidade à qual podem ser aplicadas medidas de manejo se denomina estoque unitário (Gulland, 1983; Avise, 1998). Um estoque unitário tem uma distribuição geográfica particular e pode estar composto por uma ou mais populações que tenham ciclos de vida e parâmetros populacionais suficientemente parecidos para que possam ser manejados em conjunto (Hilborn & Walters, 1992). O termo estoque é utilizado para se referir a um conjunto de populações ou partes destas que são afetadas por uma pescaria, mas que não são necessariamente unidades de manejo por ocorrerem e serem afetadas pela pesca em outras regiões geográficas (Cadrin *et al*, 2014). Por outro lado, populações panmíticas são aquelas nas quais todos os componentes são parceiros sexuais potenciais sem restrições genéticas ou comportamentais, e possuem um pool genético homogêneo (Carvalho & Hauser, 1994). Na área da genética, o termo estoque é comumente utilizado para se referir a populações. Diferentes enfoques, incluindo estudos sobre a história de vida, dinâmica populacional, distribuição geográfica e características genéticas devem ser considerados em conjunto para identificar populações e estoques (Waldman, 1999).

Estudos genéticos podem fornecer informações importantes para a delimitação de unidades populacionais, para a caracterização de unidades populacionais, avaliação dos padrões de conectividade e estimação de

mudanças nos tamanhos efetivos de populações em grandes escalas de tempo (Thorpe *et al*, 2000; Carvalho & Hauser, 1994). Acredita-se que a história demográfica e evolutiva das populações marinhas e estuarinas foi afetada pelas glaciações do pleistoceno em regiões tropicais e temperadas (Santos *et al*, 2006; Gonzalez-Wevar *et al*, 2015). As regressões no nível do mar devido aos eventos de glaciação impactaram os ecossistemas através da transformação do litoral, resultando em barreiras físicas ou oceanográficas e promovendo diferenciações entre populações e espécies (Durant *et al*, 2005; Santos *et al*, 2006). Outro objetivo dos estudos genéticos é a avaliação da variabilidade genética (Antonovics, 1990). A redução da abundância e o colapso das populações podem ocasionar uma diminuição da diversidade genética e conseqüentemente reduzir sua probabilidade de adaptação e sobrevivência, podendo levar à extinção local de unidades populacionais (Ovenden, 1990).

Marcadores moleculares comumente usados para a avaliação da diversidade e diferenciação de populações naturais incluem fragmentos do DNA mitocondrial (mtDNA), em especial a região controle ou D-Loop (Harrison, 1989; Harpending, 1994). Esta região contém os principais elementos reguladores para a replicação e expressão do genoma mitocondrial, e devido ao seu pequeno tamanho e herança materna com ausência de recombinação, representam um bom modelo para estudos evolutivos e populacionais. Por apresentar acúmulo de mutações relativamente alto, a região D-Loop tem importante papel na investigação de diferenças genéticas intraespecíficas, podendo auxiliar na delimitação de grupos distintos de uma mesma espécie (Harrison, 1989; Cadrin *et al*, 2014).

A identificação de estoques pesqueiros que apresentam distribuições contínuas, como é o caso de muitas espécies de peixes marinhos costeiros como os da família Sciaenidae, tem ganhado importância nas últimas décadas (Cadrin *et al*, 2014). Para este tipo de recurso, que não apresenta delimitação espacial clara, a identificação de unidades genéticas populacionais é particularmente importante para auxiliar a estabelecer medidas adequadas de manejo. Casey *et al* (2016) destacam a crescente importância da utilização de informações genéticas nos planos de gestão de pescarias na União Europeia. No entanto, a definição de unidades de manejo envolve outros aspectos além dos genéticos e populacionais, como a distribuição do recurso e das frotas que o pescam, dados sobre a atividade pesqueira e aspectos jurisdicionais que envolvem a aplicabilidade de medidas de manejo em maiores escalas espaciais (Cadrin *et al*, 2014; Secor, 2014).

A família Sciaenidae inclui corvinas e pescadas, muitas das quais são recursos pesqueiros valiosos, que habitam principalmente fundos moles em estuários e áreas marinhas costeiras (Nelson *et al*, 2016). Uma das espécies que atingem maior tamanho da família é a miragaia, burriquete ou piraúna (*Pogonias cromis*), que pode alcançar mais de 1400 mm de comprimento total e 60 kg (Murphy & Taylor, 1989; Haimovici, 1997). Esta espécie é considerada estuarino-dependente e tolera uma ampla variação de salinidade e temperatura, habitando águas costeiras, baías e estuários do litoral ocidental do Oceano Atlântico, desde a Nova Inglaterra nos Estados Unidos, até o Golfo San Matías na Argentina, incluídos o Golfo do México e Caribe (Nieland & Wilson, 1993). Adultos de *Pogonias cromis* formam grandes agregações que se

concentram em águas costeiras e estuarinas onde desovam (Murphy & Taylor 1989; Macchi *et al*, 2002).

No extremo sul de sua distribuição, no Sul do Brasil, Uruguai e Argentina, miragaia jovens são encontradas em estuários, lagoas costeiras e águas costeiras com destaque para o estuário do Rio da Prata e a região estuarina da lagoa dos Patos (Haimovici *et al*, 1996; Urteaga & Perrotta, 2001). A alimentação da espécie é baseada principalmente em invertebrados bentônicos, como moluscos gastrópodes, bivalves e crustáceos, que são triturados utilizando seus poderosos dentes filiformes faríngeos (Blasina *et al*, 2010). No Rio da Prata a desova da miragaia ocorre na área interna do estuário, onde ocorrem os maiores gradientes horizontais de salinidade de fundo na frente salina do estuário (Militelli *et al*, 2013). *Pogonias cromis* desova de forma múltipla ao longo de vários meses, apresentando uma elevada taxa de fecundidade (Macchi *et al*, 2002). No Rio da Prata, a desova ocorre entre outubro e janeiro (Urteaga & Perrotta, 2001) e no Sul do Brasil, fêmeas com ovócitos em maturação avançada ocorrem a partir de outubro e novembro, podendo ser observadas em menor frequência até março (Haimovici M, com. pes.).

No Rio da Prata a pesca desta espécie ocorre entre fevereiro e novembro, com maior esforço de junho a agosto (MAGyP, 2018; CTMFM, 2018). No Sul do Brasil ocorre ao longo de todo o ano, com um pico entre agosto e novembro (IBAMA/CEPRG, 2011). No estuário da Lagoa dos Patos e suas adjacências, a pesca comercial da miragaia se desenvolveu a partir da metade do século XIX para elaboração de peixe salgado e seco (Odebrecht, 2003). Junto com a corvina e o bagre, a miragaia foi um dos principais alvos da

pesca no estuário da Lagoa dos Patos até fins do século XX (Haimovici *et al*, 2014). Os registros médios anuais de desembarque de miragaia em Rio Grande (Rio Grande do Sul) entre os anos de 1945 a 1980 foram de 996 t. A intensa captura com redes de emalhe levou ao colapso da pesca artesanal na região estuarina a partir da década de 1980 quando houve uma diminuição drástica dos desembarques para 129 toneladas média entre 1981 e 2011 (Haimovici & Cardoso, 2016). As quedas nas capturas de *Pogonias cromis* fizeram com que esta espécie tenha sido recentemente introduzida na Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção do Ministério do Meio Ambiente (Portaria 445 de 2014), categorizada como 'em perigo de extinção'.

Três décadas após o colapso da pesca da miragaia no sul do Brasil, houve um recrutamento significativo em 2013, quando miragaias jovens (de um a três anos de idade) voltaram a ser pescadas no Estuário da Lagoa dos Patos (Santos *et al*, 2016; Haimovici & Cardoso, 2016). No Uruguai vêm sendo desembarcados vários centos de toneladas anuais desde 1982 (CTMFM, 2018). Na Argentina os desembarques começaram a ultrapassar as 100 toneladas anuais em 1996 (MAGyP, 2017). Nestes dois últimos países as maiores capturas provem do estuário do Rio da Prata, ocorrendo entre março e outubro (máximo no mês de agosto), e a soma dos desembarques de ambos os países se situa na faixa de 500 a 1000 t anuais (Figura 1).

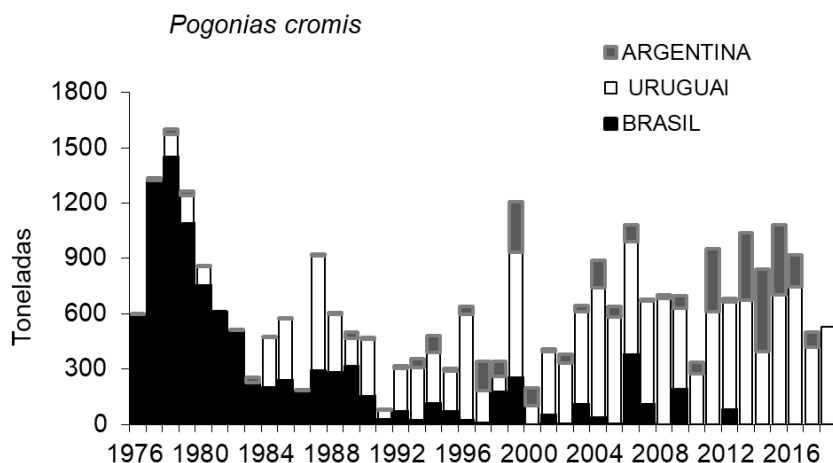


Figura 1. Toneladas anuais de *Pogonias cromis* desembarcadas pela frota pesqueira no sul do Brasil, Uruguai e Argentina entre 1976 e 2016. Fonte de dados: CEPRG, CTMFM e MAGyP.

Crítérios fenotípicos e bioecológicos são cruciais para a avaliação de unidades populacionais de estoques pesqueiros. Dados genéticos também devem ser considerados para a definição de unidades de manejo, uma vez que fornecem informações importantes quanto à diferenciação de populações em termos de patrimônio genético (Reiss, 2009; Casey *et al*, 2016). A estrutura genética populacional de *Pogonias cromis* foi estudada até hoje apenas no Atlântico norte (Leidig *et al*, 2015) onde foram identificadas duas unidades populacionais com algum grau de intercâmbio entre o Golfo do México e a costa Atlântica dos Estados Unidos. Para o Atlântico sul não existem informações genéticas descritas para essa espécie.

Trabalhos recentes apontam para o problema da falta de integração da informação genética em planos de gestão de pesca, o que contrasta com os atuais avanços nos campos da genética e genômica (Hauser & Carvalho, 2008; Valentini *et al*, 2016). Processos de gerenciamento que incorporam dados genéticos na delimitação de unidades de gerenciamento são ainda escassos;

no entanto a partir de 2014 o aconselhamento técnico científico sobre pesca da União Europeia recomenda que ferramentas genéticas sejam utilizadas na delimitação de estoque de peixes marinhos comercialmente importantes, como o bacalhau *Gadus morhua* (Casey *et al*, 2016).

Levando em consideração a importância do uso de ferramentas genéticas como delimitadores de estoques no gerenciamento de pescarias (Hilborn, 2005; Reiss, 2009), aliado ao declínio dos desembarques de *Pogonias cromis* no sul do Brasil e sua inclusão na lista nacional de espécies em risco de extinção, o objetivo desse trabalho foi definir a diversidade e estrutura genética de populações dessa espécie entre o sul do Brasil, Uruguai e a Argentina. O entendimento da conectividade entre os estoques desovantes no estuário da Lagoa dos Patos e no estuário do Rio da Prata deve contribuir para a elaboração de planos de manejo adequados para proporcionar a conservação e gestão sustentável da espécie na região.

2. OBJETIVO GERAL

Determinar a diversidade genética e conectividade populacional de *Pogonias cromis* entre os estuários da Lagoa dos Patos - RS, Brasil, e do Rio da Prata, Uruguai/Argentina.

3. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar a diversidade genética das miragaias pescadas em ambas as regiões.
- Avaliar a estrutura populacional e a história demográfica da espécie no extremo sul de sua distribuição.
- Discutir os resultados obtidos no contexto do manejo sustentável da espécie na região.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem e área de estudo

Ao todo, 91 espécimes de *Pogonias cromis* foram amostrados para este estudo. Trinta indivíduos medindo entre 685 a 1027 mm de comprimento total foram importados *in natura* do Uruguai, em 2013 sem informação sobre o local preciso de procedência. No entanto a pesca comercial de miragaia no Uruguai provem predominantemente do estuário do Rio da Prata. Trinta e um exemplares medindo entre 600 e 800 mm de comprimento total foram amostrados em San Clemente de Tuyú, Argentina, em 2016 e provieram da pesca de pequena escala com redes de emalhe na Baía de Samborombón. Trinta exemplares medindo entre 372 e 525 mm de comprimento total foram obtidos da pesca de pequena escala no estuário da Lagoa dos Patos em 2014 (Figura 2). Todos os espécimes foram armazenados a - 10 °C para a conservação do tecido. Em laboratório, uma pequena porção (~ 2 g) de músculo de cada animal foi retirada e armazenada em etanol 90% a - 20 °C para a realização das análises genéticas.

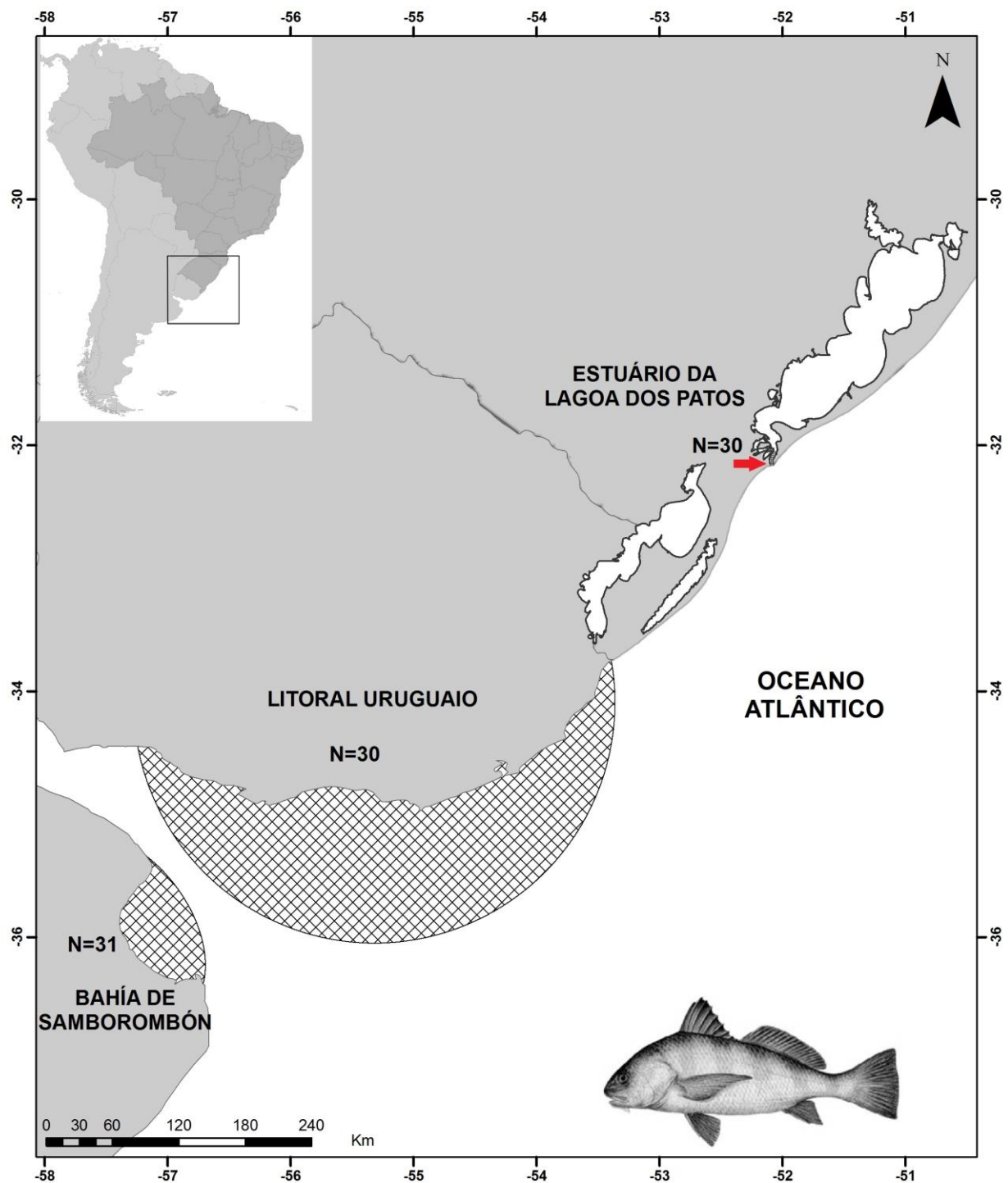


Figura 2. Locais de amostragem de *Pogonias cromis*, com o número de amostras coletadas: Baía de Samborombón, Argentina, Litoral Uruguai e Estuário da Lagoa dos Patos, RS (seta em vermelho).

4.2 Extração de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído através de purificação salina segundo Aljanabi & Martinez (1997), com algumas modificações como descrito a seguir. As amostras de tecido muscular foram cortadas dentro de um microtubo de 1,5 ml, onde foram adicionados 550 µl de tampão de lise (LACEM) e 11 µl de proteinase K (20 mg/ml). Os microtubos foram colocados em banho-maria a 60 °C durante 2 horas para total digestão do tecido. Foi adicionado 350 µl de NaCl 5 molar, e os microtubos foram levemente agitados. As amostras foram então colocadas em centrífuga a 11.000 xg durante 25 minutos. 500 µl do sobrenadante foram retirados e colocados em microtubos, com adição de 1000 µl de etanol absoluto gelado a cada tubo. Após leve agitação, as amostras foram colocadas no freezer por 12 horas. A seguir, as amostras foram centrifugadas a 11.000 xg durante 30 minutos, e o sobrenadante foi retirado e descartado. Em seguida, 1000 µl de etanol 70% foram adicionados às amostras, e estas centrifugadas a 7.000 xg durante 5 minutos; o sobrenadante foi então descartado, sendo esse procedimento repetido três vezes. Os tubos contendo DNA foram colocados em estufa a 37 °C para retirar o excesso de etanol, e após secos, 30 µl de tampão TE foram adicionados, sendo as amostras em seguida incubadas a 37 °C por 30 minutos para diluição do DNA. A concentração de DNA foi avaliada qualitativamente através de eletroforese em gel de agarose 1%, e quantificada através de espectrofotometria de ácidos nucleicos utilizando o equipamento BioDrop.

4.3 Amplificação e sequenciamento da região controle do mtDNA

Reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em um termociclador modelo: Veriti 96-Well ThermalCycler, para amplificação da região controle (D-loop) do DNA mitocondrial com *primers* (iniciadores) específicos inéditos, desenhados aqui para a espécie alvo do estudo. Os *primers* (Pogo 100: 5' CCCACCACTAACTCCCAAAGCTAGTA 3' e Pogo 1100: 5' CGGAGCTTTCTAGGGCTCATCTTAAC) foram desenvolvidos com base em alinhamentos de sequências da região controle do mtDNA das seguintes espécies: *Argyrosomus amoyensis*, *Chrysochir aureus*, *Collichthys niveatus*, *Larimichthys crocea*, *Protonibea diacanthus*. Estes *primers* amplificaram um fragmento de aproximadamente 950 pares de bases (pb).

Os volumes e concentrações das soluções de trabalho dos reagentes usados nas reações de PCR estão descritos na Tabela 1. As condições das PCRs foram: desnaturação inicial de 2 minutos a 94 °C, 5 ciclos de 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a 60 °C, 1,5 minuto a 72 °C, 30 ciclos de 1 minuto a 93 °C, 1 minuto a 59 °C, 1,5 minuto a 72 °C e uma extensão final a 72 °C durante 5 minutos. Para assegurar a confiabilidade das PCRs, controles negativos foram utilizados em todas as reações.

Tabela 1. Reagentes e suas concentrações finais em cada reação de PCR.

Reagente	Volume μl
H ₂ O	14.75 μl
Solução tampão (10X)	2.5 μl
MgCl ₂ (50 mM)	1.25 μl
dNTP (10 mM)	1.0 μl
Primer F - POGO 100 (10 ng)	0.5 μl
Primer R - POGO 1100 (10 ng)	0.5 μl
Taq DNA polimerase (5 U por μL)	0.5 μl
DNA (250 ng)	4.0 μl
Volume final	25.0 μl

Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1%) com tampão Tris/Borato/EDTA (TBE), para avaliação da eficiência da amplificação do fragmento. Um marcador de peso molecular (100 pb ou 1 kb, KASVI) foi usado para comparação dos fragmentos amplificados, sendo o resultado visualizado em transiluminador ultravioleta utilizando-se o intercalante de ácidos nucleicos Gel Red® a 0,002 $\mu\text{g/ml}$, aplicado diretamente às amostras (Figura 3).

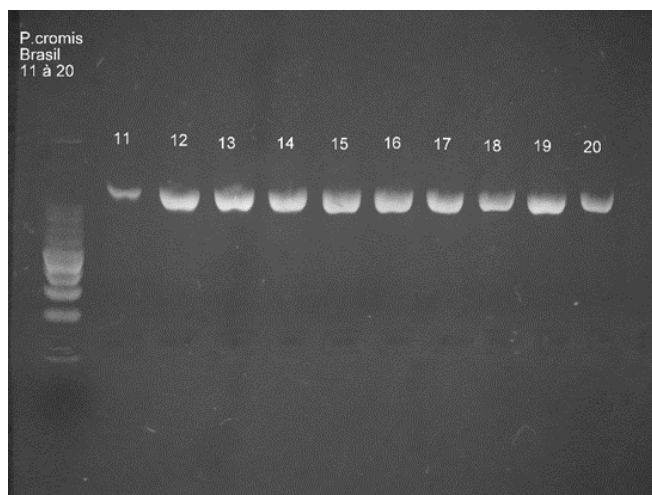


Figura 3. Perfil eletroforético das bandas de mtDNA amplificadas (~950 pb da região D-Loop) em gel de agarose 1%.

O material amplificado foi purificado através da precipitação com Polietileno Glicol (PEG) 8000 15% (Hartley & Bowen, 1996), que capta fragmentos de 500 a 1000 pb, e ressuspensão em tampão TE pH 7. Após verificação em gel de agarose, os produtos purificados foram sequenciados em ambas as direções pelo método de terminação de cadeia amplificada por dideoxinucleotídeos, através de sequenciadores capilares na empresa privada Macrogen (<http://dna.macrogen.com/eng/>).

4.4 Análise dos dados

As sequências obtidas foram avaliadas visualmente, editadas e alinhadas no programa BioEdit 7.0 (Hall, 1999). Foi possível obter um total de 841pb para todas as amostras, sendo que 825 pertencem à região D-Loop e os 16 pares de bases finais pertencem à região inicial do tRNA da fenilalanina. Para avaliar a diversidade genética das populações, o número de haplótipos do D-Loop foi determinado no programa DnaSP 4.10.9 (Rozas & Rozas, 1999), e o número de sítios polimórficos (s), diversidade haplotípica (h) e diversidade nucleotídica

(π) foram estimados no programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Uma rede haplotípica foi construída através do software PopART (Bandelt *et al*, 1999) para mostrar as relações entre os haplótipos.

A estrutura genética e consequentemente a conectividade entre as três localidades foi avaliada através de Índices de Fixação (F_{ST}), usando o modelo Tamura-Nei de substituição de nucleotídeos (Tamura & Nei, 1993); este modelo foi considerado o mais adequado para o conjunto de dados de acordo com o programa de teste de modelos jModel test 2.1.10 (1000 permutações); (Darriba *et al*, 2012). Para avaliar a possível correlação entre distância genética e distância geográfica, um teste de Mantel (Mantel, 1967) foi implementado no Arlequin 3.5, sendo as distâncias calculadas através da comparação das matrizes de F_{ST} e de distância geográfica, utilizando 1000 permutações. As distâncias geográficas entre os locais foram calculadas através do Google Earth utilizando a linha de costa como base de cálculo.

A história demográfica de *Pogonias cromis* foi inferida através de uma análise da distribuição de diferenças nucleotídicas entre sequências, Arlequin 3.5 (*Mismatch Distribution Analysis*) (Rogers & Harpending, 1992). O modelo prediz que uma população demograficamente estável ou que sofreu uma súbita redução do tamanho populacional (gargalo populacional) mostra uma distribuição de diferenças multimodal, enquanto a distribuição unimodal indica expansão populacional recente ou expansão da distribuição geográfica com alta taxa de migração entre populações próximas (Rogers & Harpending, 1992). Testes de neutralidade Tajima's D (Tajima, 1989) e Fu's FS (Fu, 1997) foram também efetuados para detectar possíveis expansões ou reduções populacionais. Índices de *Raggedness* (Harpending, 1994) foram calculados no

Arlequin 3.5, e a soma dos desvios quadrados (Sum of Squared Deviations – SSD) entre a distribuição *mismatch* observada e simulada foi utilizada para validar o modelo de expansão (Schneider & Excoffier, 1999). A significância do SSD foi avaliada através de inicialização paramétrica, que é a probabilidade de se observar um ajuste inadequado entre o modelo e a distribuição aleatória observada. Este teste também foi usado para estimar os parâmetros de mutação antes ($\theta_0 = 2N_0 u$) e após ($\theta_1 = 2N_1 u$) a expansão e o modo da distribuição mismatch (τ), onde N_0 é o tamanho efetivo da população inicial, N_1 o novo tamanho populacional e u a taxa de mutação da sequência. O tempo desde a expansão da população (t) foi calculado através da equação $\tau = 2ut$ (Rogers & Harpending, 1992), sendo u a taxa de mutação da sequência, calculada como $u = 2\mu k$, onde μ é a taxa de mutação por nucleotídeo e k é o número de nucleotídeos. Para esta análise foi utilizada a taxa de mutação de um nucleotídeo, por cada 3,6% milhão de anos proposta por Donaldson & Wilson (1999). Todos os testes consideraram uma significância de 95%.

5. RESULTADOS

A região D-Loop das *Pogonias cromis* analisadas para as três regiões apresentou grande diversidade, com um total de 60 haplótipos definidos por 67 sítios polimórficos. As sequências obtidas serão depositadas no *GenBank* do *National Center for Biotechnological Information* (NCBI). Entre os sítios polimórficos, 51 foram parcimoniosamente informativos e 16 variáveis únicos. As diversidades haplotípicas das miragaia das três regiões foram altas, com as maiores observadas na Baía de Samborombón – AR ($h = 0,995 \pm 0,009$) e litoral uruguaio ($h = 0,993 \pm 0,010$), e sendo um pouco menor no Estuário da

Lagoa dos Patos – BR ($h = 0,889 \pm 0,042$). A diversidade nucleotídica também foi semelhante nos três locais amostrados, com a da Lagoa dos Patos, apresentando $\pi = 0,014$, e o litoral Uruguaio e Baía de Samborombón apresentando a mesma diversidade $\pi = 0,013$. Os índices de diversidade da região controle do DNA mitocondrial (número de haplótipos, diversidades haplotípicas e nucleotídicas) podem ser encontrados na Tabela 2.

Tabela 2. Diversidade da região controle do DNA mitocondrial de *Pogonias cromis* das três áreas amostradas. H = número de haplótipos, h = diversidade haplotípica e π = diversidade nucleotídica.

Locais	H	h	π
Lagoa dos Patos	14	$0,889 \pm 0,042$	$0,014 \pm 0,007$
Litoral Uruguaio	27	$0,993 \pm 0,010$	$0,013 \pm 0,007$
Baía de Samborombón	29	$0,995 \pm 0,009$	$0,013 \pm 0,006$
Total	60	Média = 0,959	Média = 0,013

Como pode ser observado na rede de haplótipos, apenas dois haplótipos (17 e 24) foram compartilhados entre os três grupos. No entanto, não há separação regional da distribuição de haplótipos entre os três grupos analisados, com pequenas distâncias genéticas entre os haplótipos de todas as regiões (Figura 4). O estuário da Lagoa dos Patos e a Baía de Samborombón não apresentam haplótipos compartilhados; já o Estuário da Lagoa dos Patos e o litoral uruguaio apresentaram o haplótipo 35 compartilhado. Os haplótipos 2, 5, 9, 12, 21 e 22 foram compartilhados entre o litoral uruguaio e a Baía de Samborombón. Os demais haplótipos foram exclusivos de cada região.

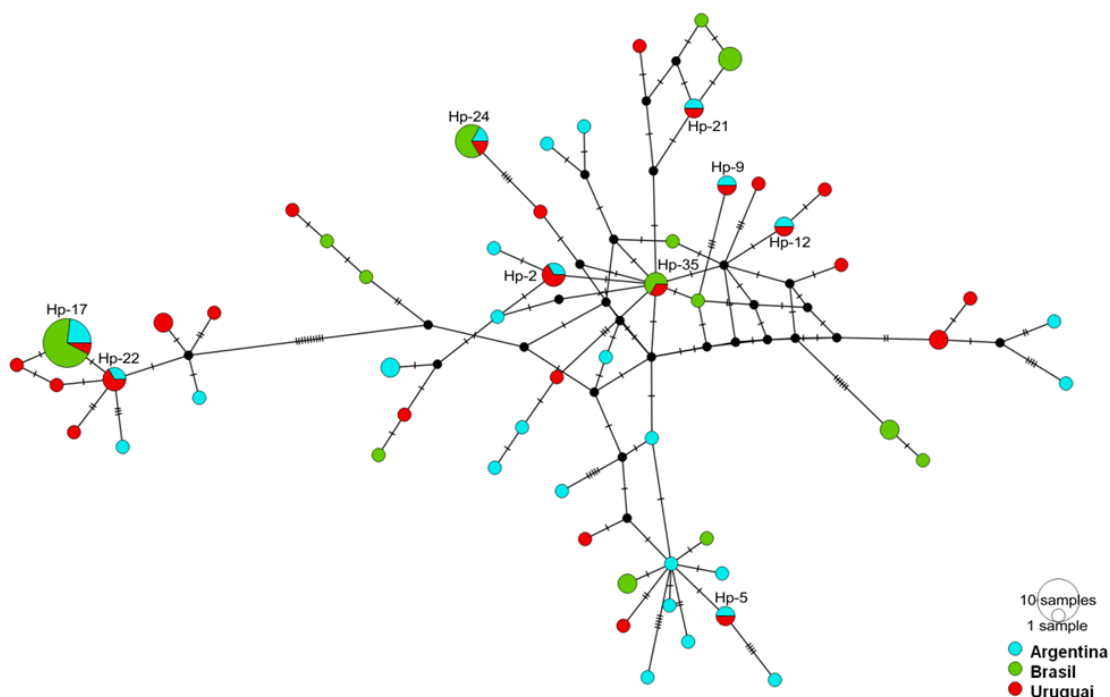


Figura 4. Rede de haplótipos de *Pogonias cromis* nas regiões estudadas. Cada círculo representa um haplótipo distinto, sendo o tamanho proporcional à frequência dos mesmos. Cores representam os diferentes locais de amostragem e traços representam o número de mutações entre haplótipos.

Os índices de diferenciação genética (F_{ST}) mostraram diferenciação muito baixa entre os grupos das três localidades estudadas. A estruturação entre o Estuário da Lagoa dos Patos e o litoral uruguaio apresentou um F_{ST} de - 0,011 ($p = 0,62$), o F_{ST} entre a Baía de Samborombón e o Estuário da Lagoa dos Patos foi de 0,013 ($p = 0,19$) e a comparação entre o litoral uruguaio e a Baía de Samborombón, apresentou um valor de F_{ST} de - 0,008 ($p = 0,55$) (Tabela 3). O coeficiente de correlação (r) entre distâncias genéticas e geográficas, calculado pelo teste de Mantel, foi de $r = 0,654$ ($p = 0,33$), indicando que as três regiões são efetivamente muito próximas geograficamente para o acúmulo de diferenças genéticas.

Tabela 3. Índice de fixação (F_{ST}) entre as regiões de amostragem de *Pogonias cromis*. Valores de F_{ST} se encontram abaixo da diagonal, e o respectivo p-valor acima da diagonal.

	Estuário da Lagoa dos Patos	Litoral Uruguaio	Baía de Samborombón
Estuário da Lagoa dos Patos	-	0,627	0,192
Litoral Uruguaio	-0,011	-	0,551
Baía de Samborombón	0,013	-0,008	-

A distribuição *mismatch* mostrou distribuições multimodais para todos os grupos de amostras, indicando equilíbrio demográfico (Figura 5). Porém, apenas o grupo brasileiro apresentou distribuição verdadeiramente multimodal, com os grupos do Uruguai e Argentina apresentando distribuições bimodais. Segundo os testes de Tajimas's D e Fu's F_s , o grupo amostrado da Lagoa dos Patos se encontra em equilíbrio demográfico ($D = 0,76$ e $F_s = 1,23$). Já para os grupos amostrados das regiões do litoral uruguaio e Baía de Samborombón, os índices contrariaram os resultados do *mismatch* e indicam expansão demográfica ($D = -0,24$ e $F_s = -13,38$, $D = -0,62$ e $F_s = -17,64$) (Figura 5).

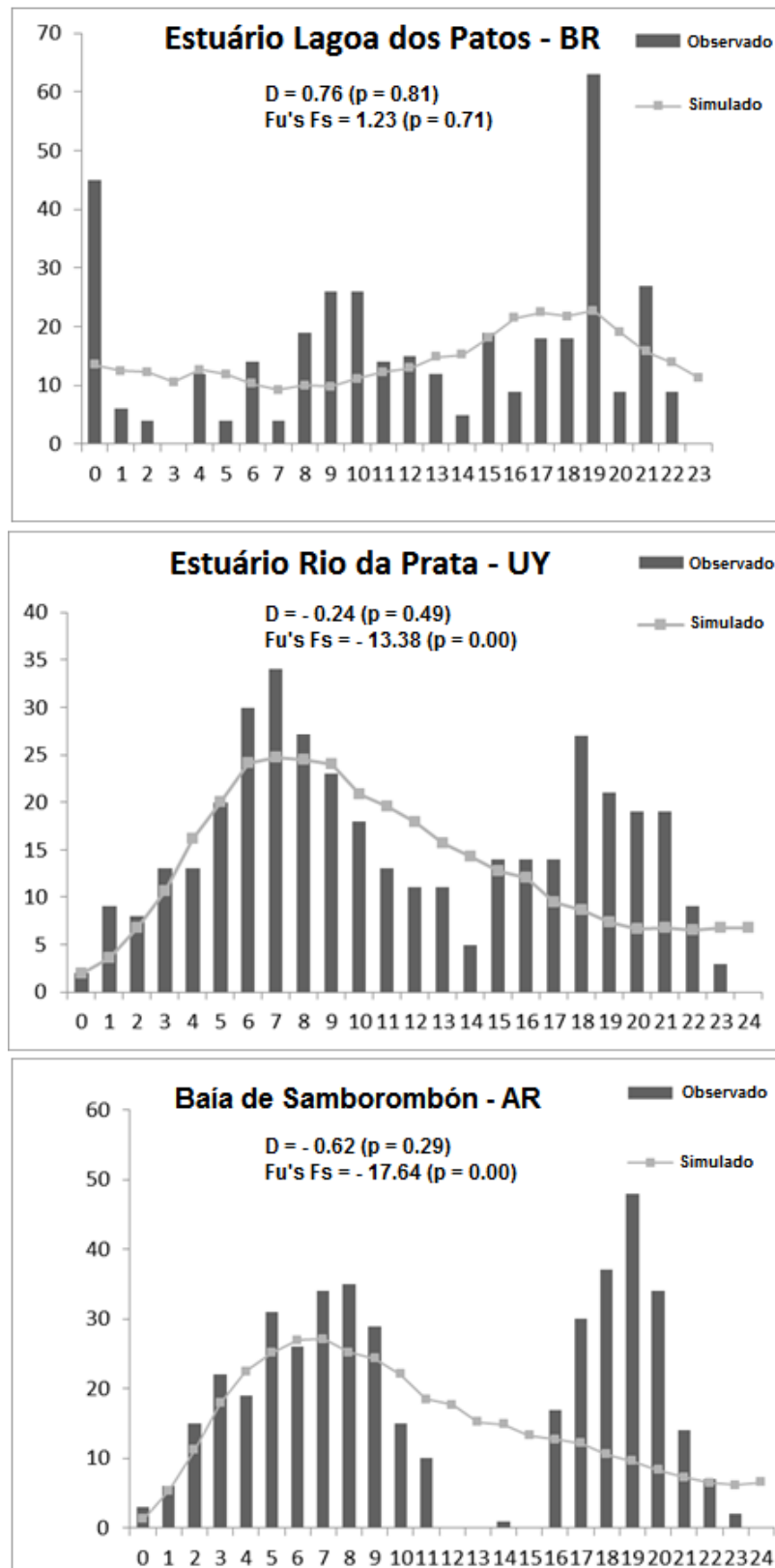


Figura 5. Distribuição *mismatch*, modelos simulados de expansão e valores dos testes Tajimas's D e Fu's Fs com probabilidade associada para as regiões amostradas, com base no D-Loop do mtDNA.

Os valores encontrados de SSD (P_{SSD}) juntamente com o índice de *Raggedness* (Tabela 4) concordam parcialmente com os modelos de distribuição descritos na Figura 5. O índice de *Raggedness* corroborou equilíbrio demográfico para o grupo do Brasil ($p < 0.05$), mas o SSD indicou expansão ($p > 0.05$). Para o grupo do Uruguai, tanto o índice de *Raggedness* quanto o SSD indicaram expansão demográfica ($p > 0.05$). Já para o grupo da Baía de Samborombón, o índice de *Raggedness* indicou equilíbrio ($p < 0.05$) e o SSD expansão ($p > 0.05$) (Tabela 4). O tempo estimado de expansão indica que o grupo do Estuário da Lagoa dos Patos passou por este processo a mais tempo, cerca de 163 mil anos atrás, seguida do litoral uruguaio e Baía de Samborombón, respectivamente há 27 e 36 mil anos. Desta forma, é mais provável que o grupo brasileiro esteja realmente em equilíbrio, enquanto os grupos do Uruguai e Argentina estejam em expansão.

Tabela 4. Parâmetros demográficos das populações estudadas: número de sítios polimórficos (S); tamanho da população antes da expansão (θ_0); tamanho da população após a expansão (θ_1); parâmetro de expansão (τ); tempo desde possíveis expansões populacionais (t) (anos); soma dos desvios quadrados (SSD) e valor p associado; índice de *Raggedness* valor p associado.

Parâmetros	Estuário da Lagoa dos Patos	Litoral Uruguaio	Baía de Samborombón
S	14	27	29
θ_0	0,000	11,781	0,000
θ_1	99999,0	99999,0	99999,0
τ	19,811	3,270	4,381
t (anos)	163,586	27,002	36,175
SSD	0,025	0,024	0,091
p (SSD)	0,099	0,154	0,000
Raggedness	0,056	0,010	0,006
p (Raggedness)	0,034	0,470	1,000

6. DISCUSSÃO

6.1 Diversidade genética

Neste estudo analisamos pela primeira vez a diversidade genética, estrutura populacional e história demográfica de *Pogonias cromis* do Atlântico Sul Ocidental, utilizando amostras do extremo sul do Brasil, litoral uruguaio e estuário do Rio da Prata. Os resultados obtidos mostraram uma elevada diversidade genética e baixa estruturação genética, indicando não haver diferenciação genética entre os exemplares amostrados das três localidades, formando um único grupo populacional panmítico.

Os três grupos apresentam elevada diversidade genética, com maiores valores na Baía de Samborombón e litoral uruguaio ($h = 0,995$ e $0,993$; respectivamente) e um pouco menor no estuário da Lagoa dos Patos ($h = 0,889$). Diversidades haplotípicas elevadas também foram observadas por Leidig *et al* (2015) para *Pogonias cromis* do Golfo do México e costa Atlântica dos Estados Unidos, com valores variando de 0,47 a 0,89 e indicando alto fluxo gênico entre grupos. As diversidades nucleotídicas nas regiões do nosso estudo foram baixas (média = 0,013), mas levemente superiores comparando com outros peixes marinhos e estuarinos estudados no Atlântico Sul Ocidental. Diversidades menores foram encontradas para *Menticirrhus americanus* (Freitas *et al*, 2017), *Atherinella brasiliensis* (Cortinhas *et al*, 2016), *Micropogonias furnieri* (Pereira *et al*, 2009), *Cynoscion guatucupa* (Iriarte *et al*, 2011) e *Macrodon atricauda* (Rodrigues *et al*, 2014) (Tabela 5). Essa baixa diversidade nucleotídica junto com a elevada diversidade haplotípica pode ser atribuída a um acúmulo de mutações de poucas bases entre haplótipos, podendo ser atribuído a um rápido crescimento populacional após um período de baixa população efetiva (Iriarte *et al*, 2011).

Tabela 5. Índices de diversidade nucleotídica encontrados para espécies marinhas e estuarinas no Atlântico Sul Ocidental. ELP: Estuário da Lagoa dos Patos; LU: Litoral Uruguaio; BS: Baía de Samborombón.

Espécie	Índices de diversidade	Local	Referência
<i>Atherinella brasiliensis</i>	0,001	ELP	Cortinhas <i>et al</i> , 2016
<i>Cynoscion guatucupa</i>	0,002	Rio da Prata	Iriarte <i>et al</i> , 2011
<i>Macrodon atricauda</i>	0,001/ 0,0008	Rio da Prata/ELP	Rodrigues <i>et al</i> , 2014
<i>Menticirrhus americanos</i>	0,003	Rio da Prata	Freitas <i>et al</i> , 2017
<i>Micropogonias furnieri</i>	0,007	LU	Pereira <i>et al</i> , 2009
<i>Pogonias cromis</i>	0,014/ 0,013/ 0,013	ELP LU BS	Este trabalho

Três haplótipos foram compartilhados entre os exemplares amostrados nas três regiões, e não houve compartilhamento de haplótipos entre as regiões mais distantes entre si (Sanborombón e Lagoa dos Patos) (Figura 2). A maioria dos haplótipos foram exclusivos para cada localidade, embora os haplótipos dos diferentes locais tenham apresentado poucas diferenças entre si. Isto pode ser observado na rede de haplótipos (Figura 2), que exibe um padrão não estruturado, com poucos haplótipos centrais compartilhados e muitos haplótipos exclusivos. A distribuição dos haplótipos dentro da rede indica que as populações possuem uma alta diversidade haplotípica, que juntamente com a baixa diversidade nucleotídica também pode indicar uma expansão populacional após período de baixo tamanho efetivo (Grant & Bowen 1998). Redes de haplótipos do DNA mitocondrial com formato similar já foram observadas para outras espécies de cienídeos da região: *Macrodon atricauda*,

com mistura entre exemplares amostrados na Argentina e o Rio Grande do Sul (Rodrigues *et al*, 2014); e *Cynoscion guatucupa*, sem distinção entre a Argentina e o litoral de São Paulo (Iriarte *et al*, 2011).

6.2 Estrutura e conectividade populacional

Não foi observado isolamento genético entre os exemplares de *Pogonias cromis* amostrados do Estuário da Lagoa dos Patos, litoral uruguaio e Baía de Samborombón. Os índices muito baixos de F_{ST} observado neste estudo sugerem uma homogeneidade populacional entre indivíduos amostrados nestas regiões. Nos peixes marinhos de desova pelágica, o fluxo genético entre regiões vizinhas sem barreiras ambientais pode ser mantido pela mobilidade de adultos de diferentes regiões durante a reprodução. Ainda, esse fluxo pode ocorrer através da dispersão de ovos e larvas que recrutam em áreas de criação distantes do local de desova. Por exemplo, em grupos de peixes da espécie *Gadus macrocephalus* no nordeste do Oceano Pacífico, o fluxo genético foi mantido por um número pequeno de migrantes que variou de um até dez indivíduos por geração (Cunningham *et al*, 2009). Ainda que possa ocorrer fluxo gênico entre populações distantes em espécies que apresentam distribuição contínua, é provável que exista uma maior reprodução entre indivíduos geograficamente próximos (Cunningham *et al*, 2009).

Estudos de marcação e recaptura nos Estados Unidos mostraram que juvenis e adultos (comprimento total de 150 a 414 mm) de *Pogonias cromis* tem a capacidade de realizar longos deslocamentos (Murphy *et al*, 1998; Leidig *et al*, 2015). Embora tenha sido relatado que a maioria dos indivíduos marcados no estado da Geórgia foram recuperados em regiões próximas às quais foram

liberados (sul da Flórida e norte da Carolina do Norte), alguns exemplares realizaram longas migrações, percorrendo distâncias de até 1.370 km em apenas alguns meses. Os autores indicam a proximidade entre estuários e baías na região como um dos motivos para a maioria dos indivíduos marcados terem sido capturados em regiões próximas à soltura (Music & Pafford, 1984; Murphy *et al*, 1998).

Fatores como geomorfologia costeira, temperatura, disponibilidade de alimento e correntes oceânicas podem influenciar as migrações de animais marinhos (Beheregaray *et al*, 2002; Lima *et al*, 2016). A circulação costeira entre o norte da Argentina e o Sul do Brasil é dominada pelos fluxos para norte de águas mais frias do ramo oeste da corrente das Malvinas, também chamada corrente Patagônica, que se mistura com a descarga do Rio da Prata e o fluxo para o sul de águas costeiras mais quentes e salinas, que nos meses quentes avança para o sul. No inverno o encontro destas massas de água forma sobre a plataforma do sul do Brasil a Frente Subtropical de Plataforma que se desloca no verão para maiores latitudes (Möller *et al*, 2008). Esta feição oceanográfica não parece representar uma barreira ambiental para o deslocamento da miragaia, já que muitas espécies de teleósteos e elasmobrânquios realizam migrações sazonais entre ambas as regiões (Haimovici *et al*, 1997; Vooren, 1997). De fato, a homogeneidade genética entre o sul do Brasil e o norte da Argentina já foi notada também para diversos peixes e crustáceos como *Macrodon atricauda* (Rodrigues *et al*, 2014), *Mugil liza* (Mai *et al*, 2014), *Atherinella brasiliensis* (Cortinhas *et al*, 2016), *Artemesia longinaris* (Dumont *et al*, 2009), *Litopenaeus schmitti* (Maggioni *et al*, 2003) e *Callinectes sapidus* (Lacerda *et al*, 2016). Contrariamente, um recente estudo

com a região D-Loop do mtDNA de *Menticirhus americanus* evidenciou uma separação entre as populações do Rio da Prata e do sul do Brasil (Márquez *et al*, 2017); no entanto, este estudo analisou um número muito baixo de indivíduos do Rio Grande do Sul, o que pode ter influenciado este resultado. Desta forma, fatores bioecológicos e da história de vida de cada espécie podem se sobressair em relação a barreiras oceanográficas e circulação oceânica.

Apesar de não haver impedimentos para o fluxo gênico que mantém a homogeneidade genética da miragaia entre ambas as regiões. A falta de recuperação do estoque de miragaia no sul do Brasil após mais de 30 anos do colapso da pescaria indica que o número de migrantes da espécie entre esta região e o Rio da Prata pode ser pequeno. No entanto, este número pode ser suficiente para estabelecer conectividade entre as regiões: se um a dez indivíduos por geração migra entre locais e se reproduzem, a estruturação genética já pode não ser detectada (Slatkin, 1987; Palumbi, 2003). Dessa forma, explicações para a lenta recuperação do estoque brasileiro podem ser propostas analisando as informações disponíveis sobre deslocamentos sazonais e migratórios, além da estratégia reprodutiva da espécie. No litoral da Argentina foram reportados deslocamentos paralelos à costa em direção a o sul a partir de novembro, após o período reprodutivo no estuário do Rio da Prata (Urteaga & Perrotta, 2001). Esta migração é bem conhecida por pescadores esportivos, que organizam torneios de pesca de miragaia próximo da desembocadura do Rio da Prata em novembro (Sentí La Pesca, 2016), e no sul da Província de Buenos Aires em fevereiro (Sentí La Pesca, 2018). Já no sul do Brasil, pescadores relatam a migração reprodutiva da miragaia em

direção à região estuarina da Lagoa dos Patos na primavera e movimentos paralelos à costa no resto do ano, mas não há relatos de uma migração direcional como a que ocorre na Argentina. De fato, os desembarques de miragaia provenientes da pesca de arrasto industrial na região sul do Brasil ocorrem ao longo de todo o ano (IBAMA/CEPRG 2012), o que pode ser interpretado como indicativo de deslocamentos mais limitados dos desovantes do Estuário da Lagoa dos Patos em relação aos desovantes no Rio da Prata.

Estudos sobre a reprodução da miragaia no Rio da Prata mostram que a desova ocorre em águas estuarinas de baixa salinidade (Macchi *et al*, 2002), o que limita a possibilidade de ovos depositados em um estuário se desenvolverem e eclodirem em outros estuários distantes. Esse fato pode suportar a hipótese de que o transporte de ovos e larvas entre os estuários seja limitado. Como as áreas de criação também são estuarinas, pode ocorrer também um isolamento relativo de peixes jovens entre regiões. A drástica queda na abundância que seguiu o colapso da pesca da miragaia na Lagoa dos Patos na década de 1980 perdurou por três décadas, e apenas em 2010 houve um início da reversão do processo, com o recrutamento de juvenis de *Pogonias cromis* sendo observado a partir da pesca artesanal no estuário da Lagoa dos Patos (Santos *et al*, 2016). Porém, ainda não há a presença de desovantes de grande porte como ocorria nas décadas anteriores ao colapso da pescaria (Haimovici & Cardoso, 2016). Este fato pode ser interpretado como consequência de recrutamentos exitosos de poucos desovantes, que podem ser locais ou oriundos de outras regiões.

6.3 Demografia histórica

As populações estudadas apresentaram distribuições *mismatch* multimodais, indicando equilíbrio demográfico. Os valores dos índices de neutralidade (Tajima's D e Fu's Fs) confirmam que as amostras do sul do Brasil estão em equilíbrio demográfico. Já para os grupos da Argentina e Uruguai, esses índices indicam uma sutil expansão, contrariando os resultados obtidos na distribuição *mismatch*. No entanto, as distribuições *mismatch* destes dois grupos foram bimodais, o que pode representar uma expansão recente após uma redução anterior e consequentemente gerar índices de neutralidade que indicam esta expansão (Strasburg *et al*, 2007). Isto foi observado para o bonito do Atlântico (*Sarda sarda*), que apresentou distribuição *mismatch* bimodal e índices de neutralidade que sugeriram uma população em expansão (Viñas *et al*, 2004). Desta forma, os grupos de *Pogonias cromis* estudadas aqui aparentemente estão próximas do equilíbrio, possivelmente após uma expansão recente. Isto está de acordo com os tempos estimados desde a expansão populacional, explanados a seguir.

Os grupos de *Pogonias cromis* da Baía de Samborombón e o litoral uruguaio apresentaram menor tempo desde a expansão em relação a o Estuário da Lagoa dos Patos (respectivamente 36,175; 27,002 e 163,586 mil anos), indicando uma expansão mais recente dos grupos destes dois primeiros locais durante o Pleistoceno. Esta época foi caracterizada por diversas transgressões e regressões do nível do mar, causando expansões e retrações das espécies em todo o mundo e afetando diretamente sua distribuição e demografia (Hewitt, 1996). No sul do Brasil, principalmente no Estuário da Lagoa dos Patos, sabe-se que houve ao menos quatro ciclos de

transgressões/regressões do nível do mar que ocorreram após as glaciações do quaternário há 230 mil anos e influenciaram fortemente a plataforma continental regional, moldando o atual sistema da Lagoa de Patos – Mirim (Villwock, 1984; Norris & Hull, 2012). Estes ciclos de regressão e transgressão que formaram o estuário podem ter influenciado a movimentação de *Pogonias cromis*, acompanhando a formação do ambiente estuarino do sistema Lagoa dos Patos – Mirim. Desta forma, o grupo da espécie que vivia próximo ao Estuário da Lagoa dos Patos e que teve sua expansão demográfica há cerca de 163,586 mil anos pôde se conectar com os grupos do estuário do Rio da Prata.

6.4 Implicações para conservação e gerenciamento

A *Pogonias cromis* está atualmente classificada como ameaçada de extinção no Brasil devido à drástica redução de sua abundância no Rio Grande do Sul nos anos 1980. Apesar de estar em recuperação, o grupo de miragaia no RS ainda apresenta baixa abundância, sobretudo em relação aos adultos de maior porte. Embora as análises genéticas tenham mostrado que o estoque de miragaia do Sul do Brasil faz parte de uma unidade populacional que inclui regiões onde a abundância não sofreu uma redução tão drástica, este ainda não se recuperou aos níveis das outras regiões, sugerindo certo isolamento e maior tempo necessário para sua recuperação. Além disso, por serem exploradas por frotas diferentes em jurisdições nacionais distintas, em termos de manejo e conservação as miragaias do Rio da Prata e do Sul do Brasil podem ser consideradas como estoques unitários distintos que podem ser manejados separadamente neste momento. Considerando que o estoque

desovante na Lagoa dos Patos está tecnicamente colapsado, com capturas em menos de 10% dos máximos históricos, a prioridade de manejo é a recuperação da estrutura de tamanhos e idades que garantam a manutenção do estoque no estuário da Lagoa dos Patos. As medidas em vigor de proibição total da pesca coíbem a pesca dirigida a espécie, mas não a pesca incidental, e os grandes adultos são vulneráveis à intensa pesca de emalhe e arrasto que ocorre na região (Santos *et al*, 2016). A princípio, a elevada fecundidade da miragaia permite que um pequeno número de reprodutores tem o potencial de recuperar a produção de recrutas no Estuário da lagoa dos Patos como ocorreu no início dos anos 2010. No entanto a falta miragaia adultas nos desembarques é uma evidencia de que mesmo pequenas capturas incidentais são suficientes para afetar a recuperação do estoque e limitar os efeitos práticos da proibição (Pauly, 2013).

6.5 Conclusões

O estudo da região controle do mtDNA de *Pogonias cromis* descreveu com sucesso a conectividade genética desta espécie no extremo sul de sua distribuição, definindo-a como uma população panmítica em leve expansão, com elevada diversidade genética quando comparado a outras espécies da região, pouca estruturação geográfica e alta conectividade. Estas características favorecem a resiliência da população diminuindo o risco de extinção dos estoques locais. No entanto a baixa recuperação posterior ao colapso da pescaria na Lagoa dos Patos mostra que o processo de recolonização é lento. O estoque desovante local afetado pela pesca na região deve ser considerado um estoque geneticamente unitário em termos de

manejo, independente das estratégias de manejo dos estoques do Uruguai e Argentina. No entanto, considerando o alto grau de conectividade revelado no presente estudo, um plano integrado de manejo deve ser considerado.

6.6 Sugestões para futuros trabalhos

Neste trabalho investigamos a genética populacional da miragaia utilizando apenas um marcador molecular, a região controle do mtDNA. Embora este marcador seja comumente usado e tenha mostrado alta conectividade entre as populações do sul do Brasil, litoral Uruguio e Baía de Samborombón, o uso de múltiplos marcadores é indicado para obter um retrato mais completo das relações interpopulacionais e melhor descrever a variação genética e evolução das populações (Sala-Bozano *et al*, 2009). Por exemplo, marcadores nucleares como microssatélites poderiam levar a resultados mais detalhados, pois possuem alto polimorfismo e taxas de mutações elevadas, revelando padrões mais recentes de conectividade (Goldstein & Pollock, 1997). Desta forma, sugerimos que futuros trabalhos explorem diferentes marcadores moleculares para aprofundar as análises das populações da miragaia. Além disso, a adição de locais de amostragem mais ao norte da região de estudo poderiam esclarecer se existe uma diferenciação de populações ao longo da sua distribuição, e se sim, quantas unidades populacionais existem na costa do Atlântico Sul Ocidental. Estudos de marcação e de identificação dos locais de criação de adultos através de marcadores de isótopos também poderiam contribuir para esta definição e consequentemente para a elaboração

adequada dos planos de manejo e conservação deste recurso pesqueiro nas águas do Atlântico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALJANABI, S. M & MARTINEZ, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR - based techniques. *Nucleic Acids Research*. 25, 4692-4693.

ANTONOVICS, J. 1990. Genetically based measures of uniqueness. In: ORIAN, G. H. BROWN, G. M. KUNIN, W. E. SWIERZBINSKI, J. E. *The Preservation and Valuation of Biological Resources*. Seattle: University of Washington Press. 314 p.

AVISE, J. C. 1998. Conservation genetics in the marine realm. *Journal of Heredity*. 89, 377-382.

BANDELT, N. FORSTER, P. ROHL, A. 1999. Median-joining networks for inferring intra specific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*. 16, 37-48.

BEGG, G. A & WALDMAN, J. R. 1999. An holistic approach to the stock identification. *Fisheries Research*. 43, 35-44.

BEHEREGARAY, L. B. SUNNUCKS, P. BRISCOE, D. A. 2002. A rapid fish radiation associated with the last sea-level changes in southern Brazil: the silverside *Odontesthes perugiae* complex. *Proceedings Biological Sciences*. 269, 65-73.

BLASINA, G. E. BARBINI, S. A. DÍAZ DE ASTARLOA, J. M. 2010. Trophic ecology of the black drum, *Pogonias cromis* (Sciaenidae), in Mar Chiquita coastal lagoon (Argentina). *Journal of Applied Ichthyology*. 26 (4), 528-534.

CADRIN, S. X. FRIEDLAND, K. D. WALDMAN, J. 2014. Stock Identification Methods: In: CADRIN, S. X. KERR, L. A. MARIANI, S. (eds). *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science*. Academic Press, Cambridge. p. 1-5.

CARVALHO, G. R & HAUSER, L. 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 4, 326-350.

CASEY, E. JARDIM, E. MARTINSOHN, J. T. 2016. The role of genetics in fisheries management under the E.U. common fisheries policy. *Journal of Fish Biology*. 89, 2755-2767.

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.

CTMFM (Comisión Técnica Mixtadel Frente Marítimo). 2018. <http://ctmfm.org/archivos-de-captura/>, (acesso, 20 Março2018).

CUNNINGHAM K. M. CANINO M. F. SPIES I. B. HAUSER L. 2009. Genetic isolation by distance and localized fjord population structure in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*): limited effective dispersal in the northeastern Pacific Ocean. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 66, 153-166.

DARRIBA, D. TABOADA, G. L. DOALLO, R. POSADA, D. 2012. jModel Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9, 772.

DONALDSON, K. A. WILSON, R. R. 1999. Amphi-panamic geminates of snook (Percoidei: Centropomidae) provide a calibration of the divergence rate in the mitochondrial DNA central region of fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 13, 208-213.

DUMONT, L. F. C. HWANG, G. MACLEAN, N. 2009. The mtDNA control region of the barba-ruça shrimp *Artemesia longinaris* (Decapoda: Penaeidae) and its potential use as a marker for population analysis. *Atlantica*. 31, 199-207.

DURAND, J. D. TINE, M. PANFILI, J. THIAW, O. T. LAE, R. 2005. Impact of glaciations and geographic distance on the genetic structure of a tropical estuarine fish, *Ethmalosa fimbriata* (Clupeidae, S. Bowdich, 1825). *Molecular Phylogenetics Evolution*. 36, 277-287.

EXCOFFIER, L & LISCHER, H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of program stopper form population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10, 564-567.

FREITAS, A. S. SILVA, R. SAMPAIO, I. SCHNEIDER, H. 2017. The mitochondrial control region reveals genetic structure in southern king croaker populations on the coast of the Southwestern Atlantic. *Fisheries Research*. 191, 87-94.

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

GOLDSTEIN, D. B & POLLOCK, D. D. 1997. Launching Microsatellites. A Review of Mutation Processes and Methods of Phylogenetic Inference. The Journal of Heredity. 88, 335-342.

GONZÁLEZ-WEVAR, C. A. SALINAS, P. HÜNE, M. SEGOVIA, N. I. VARGAS-CHACOFF, L. ASTORGA, M. CAÑETE, J. I. POULIN, E. 2015. Phylogeography in *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1848) along two biogeographical provinces in the Chilean coast. PLoS ONE.10, 1-20.

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

GULLAND, J. A. 1983. Fish stock assessment. A manual of basic methods. FAO/Wiley Series on Food and Agriculture. John Wiley. 1, 223 p.

HAIMOVICI, M. MARTINS, A. S. VIEIRA, P. C. 1996. Distribuição e abundância de peixes teleósteos demersais sobre a plataforma continental do sul do Brasil. Revista Brasileira de Biologia. 56, 27-50.

HAIMOVICI, M. 1997. Recursos pesqueiros demersais da região sul. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal (MMA), Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (CIRM) e Fundação dos Estudos do Mar, FEMAR, 80 p.

HAIMOVICI, M. CASTELLO, J. P. ABDALLAH, P. R. 2014. Desenvolvimento da pesca industrial sediada em Rio Grande: uma visão histórica sob a ótica de atores privilegiados. Em: Haimovici, M. ANDRIGUETTO, J. M. SUNYE, P. S. (eds.). A pesca marinha e estuarina no Brasil. Estudos de caso multidisciplinares. Rio Grande, Editora da Furg. p. 17-28.

HAIMOVICI, M & CARDOSO, L. G. 2016. Long-term changes in the fisheries in the Patos Lagoon estuary and adjacent coastal waters in Southern Brazil, *Marine Biology Research*. 13(1), 135-150.

HALL, T. A. 1999. Bioedit. A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*. Ser. 41, 95-98.

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

HARRISON, R. G. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology & Evolution*. 4, 6-11.

HARTLEY, J. L & BOWEN, H. 1996. PEG precipitation for selective removal of small DNA fragments. In: CUPO, D. (ed.). *CFLP mutation detection*. Focus, 28 p.

HAUSER, L & CARVALHO, G. R. 2008. Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. *Fish and Fisheries*. 9, 333-362.

HEWITT, G. M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. 58, 247-276.

HILBORN, R & WALTERS, C. J. 1992. *Quantitative Fisheries Stock Assessment: choice, dynamics & uncertainty*. Chapman and Hall, New York, 570 p.

HILBORN, R. ORENSANZ, J. M. PARMA, A. M. 2005. Institutions, incentives and the future of fisheries. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences*. 360, 47-57.

IBAMA/CEPRG. 2011. Desembarque de pescados no Rio Grande do Sul 2009. Rio Grande, 37 p.

IRIARTE, P. J. F. ALONSO, M. P. SABADIN, D. E. ARAUZ, P. A. IUDICA, C. M. 2011. Phylogeography of weakfish *Cynoscion guatucupa* (Perciformes: Sciaenidae) from the southwestern Atlantic. *Scientia Marina*. 75(4), 701-706.

LACERDA, A. L. F. KERSANACH, R. CORTINHAS, M. C. S. PRATA, P. F. S. DUMONT, L. F. C. PROIETTI, M. C. MAGGIONI, R. D'INCAO, F. 2016. High Connectivity among Blue Crab (*Callinectes sapidus*) Populations in the Western South Atlantic. *PLoS ONE* 11(4): e0153124.

LEIDIG, J. M. SHERVETTE, V. R. MCDONOUGH, C. J. DARDEN, T. L. 2015. Genetic Population Structure of Black Drum in U.S. Waters. *North American Journal of Fisheries Management*. 35, 464-477.

LIMA, M. O. CIRANO, M. MATA, M. M. GOES, M. GONI, G. BARINGER, M. 2016. An assessment of the Brazil Current baroclinic structure and variability near 22° S in Distinct Ocean Forecasting and Analysis Systems. *Ocean Dynamics*. 66, 893-916.

MACCHI, G. J. ACHA, E. M. LASTA, C. A. 2002. Reproduction of black drum (*Pogonias cromis*) in the Rio de la Plata estuary, Argentina. *Fisheries Research*. 59, 83-92.

MAGGIONI, R. ROGERS, A. D. MACLEAN, N. 2003. Population structure of *Litopenaeus schmitti* (decapoda, Penacidae) from the Brazilian coast identified using six polymorphic microsatellite loci. *Molecular Ecology*. 12, 3213-3217.

MAGyP. 2017. Ministerio de Agricultura, Ganaderia y Pesca. http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/pesca_maritima/desembarques/, (acesso 20 março 2018).

MAI, A. C. G. MIÑO, C. I. MARINS, L. F. F. MONTEIRO-NETO, C. MIRANDA, L. SCHWINGEL, P. R. LEMOS, V. M. GONZALES-CASTRO, M. CASTELLO, J. P. VIEIRA, J. P. 2014. Microsatellite variation and genetic structuring in *Mugiliza* (Teleostei: Mugilidae) populations from Argentina and Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 149, 80-86.

MANTEL, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*. 27, 209-220.

MÁRQUEZ, A. SOLÉ-CAVA, A. M. PEREIRA, A. N. VASCONCELLOS, A. LESSA, E. P. 2017. Deep genetic divergence in the Southern king croaker *Menticirrhus americanus* in its southern most distribution. *Brazilian Journal of Oceanography*. 65(3), 515-519.

MILITELLI, M. I. MACCHI, G. J. RODRIGUES, K. A. 2013. Comparative reproductive biology of Sciaenidae family species in the Río de la Plata and Buenos Aires Coastal Zone, Argentina. *Journal of the Marine biological Association of the UK*. 93(2), 413-23.

MMA - Ministério do Meio Ambiente. 2014. Portaria nº 445, de 17 de Dezembro de 2014. *Diário Oficial da União*. Brasília, 18 de dezembro de 2014. Nº 245, Seção 1: 110 p.

MÖLLER JR, O. O. PIOLA, A. R. FREITAS, A. C. CAMPOS, E. J. D. 2008. The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. *Continental Shelf Research*. 28, 1607-1624.

MURPHY, M. D & TAYLOR, R. G. 1989. Reproduction and growth of black drum, *Pogonias cromis* in northeast Florida. *Northeast Gulf Science*. 10, 127-137.

MURPHY, M. D. ADAMS, D. H. TREMAIN, D. M. WINNER, B. L. 1998. Direct validation of ages determined for adult Black Drum, *Pogonias cromis*, in east-central Florida, with notes on Black Drum migration. *U.S. National Marine Fisheries Service Fishery Bulletin*. 96, 382-387.

MUSIC, J. L & PAFFORD, J. M. 1984. Population dynamics and life history aspects of major marine sport fishes in Georgia's coastal waters. Georgia Department of Natural Resources, Federal Aid in Fish Restoration Act, Project F- 31-6.

NELSON, J. S. GRANDE, T. C. WILSON, M. V. H. 2016. *Fishes of the world*. 5 ed. John Wiley & Sons. 752 p

NIELAND, D. L & WILSON, C. A. 1993. Reproductive biology and annual variation of reproductive variables of black drum in the Northern Gulf of México. *Transactions of the American Fisheries Society*. 122, 318-327.

NORRIS, R. D. HULL, P. M. 2012. The temporal dimension of marine speciation. *Evolutionary Ecology*. 26, 393-415.

ODEBRECHT, C. 2003. *A Lagoa dos Patos no século XIX na visão do naturalista Hermann von Ihering*. Editora Ecoscientia, Rio Grande, 100 p.

OVENDEN, J. R. 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assessment: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*. 41, 835-853.

PALUMBI, S. R. 2003. Population Genetics, Demographic Connectivity, and the Design of Marine Reserves. *Ecological Applications*. 13(1), 146-158.

PAULY, D. 2013. Beyond Duplicity And Ignorance In Global Fisheries. In *Ecological Dimensions for Sustainable Socio Economic Development*, East Carolina University, USA. 64, 519-535.

PEREIRA, A. N. MÁRQUEZ, A. MARIN. M. MARIN, Y. 2009. Genetic evidence of two stocks of the white mouth croaker *Micropogonias furnieri* in the Río de la Plata and oceanic front in Uruguay. *Journal of Fish Biology*. 75, 321-331.

REISS, H. HOARAU, G. DICKEY-COLLAS, M. WOLFF, W. J. 2009. Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries*. 10, 361-395.

RODRIGUES, R. SANTOS, S. HAIMOVICI, M. SAINT-PAUL, U. SAMPAIO, I. SCHNEIDER, H. 2014. Mitochondrial DNA reveals population structuring in *Macrodon atricauda* (Perciformes: Sciaenidae): a study covering the whole geographic distribution of the species in the southwestern Atlantic. *Mitochondrial DNA*. 25(2), 150-156.

ROGERS, A. R. HARPENDING, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9, 552-569.

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

SALA-BOZANO, M. KETMAIER, V. MARIANI, S. 2009. Contrasting signals from multiple markers illuminate population connectivity in a marine fish. *Molecular Ecology*. 18, 4811-4826.

SANTOS, S. HRBEK, T. FARIAS, I. P. SCHNEIDER, H. SAMPAIO, I. 2006. Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology*. 15, 4361-4373.

SANTOS, P. R. EINHARDT, C. M. C. VELASCO, G. 2016. A pesca artesanal da miragaia (*Pogonias cromis*, Sciaenidae) no estuário da lagoa dos patos, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*. 42, 89-101.

SECOR, D. H. 2014. The unit stock concept: bounded fish and fisheries. In: CADRIN, S. X. KERR, L. A. MARIANI, S. (eds). *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science*. Academic Press, Cambridge. p. 7-28.

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

Sentí La Pesca. 2016. (<http://www.sentilapesca.com.ar/261116-50-fiesta-nacional-de-la-corvina-negra/>), (acesso Abril, 2018).

Sentí La Pesca. 2018. (<http://www.sentilapesca.com.ar/febrero-2018-57o-edicion-24-hs-de-la-corvina-negra/>), (acceso Maio de 2018).

SLATKIN, M. 1987. Gene Flow and the Geographic Structure of Natural Populations. *Science*. 236, 787-792.

STRASBURG, J. L. KEARNEY, M. MORITZ, C. TEMPLETON, A. R. 2007. Combining Phylogeography with Distribution Modeling: Multiple Pleistocene Range Expansions in a Parthenogenetic Gecko from the Australian Arid Zone. *PLoS ONE*, 2(8): e 760. doi:10.1371.

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

TAMURA, K. NEI, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology Evolution*. 10, 510-526.

THORPE, J. P. SOLÉ-CAVA, A. M. WATTS, P. C. 2000. Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. *Hydrobiologia*. 420, 165-184.

URTEAGA, J. R. PERROTTA, R. G. 2001. Estudio preliminar de la edad, el crecimiento, área de distribución y pesca de la corvina negra, *Pogonias cromis* (Linnaeus, 1766) (Perciformes: Sciaenidae) en el litoral de la Provincia de Buenos Aires. Informe Técnico INIDEP, Argentina. 43, 1-22.

VALENTINI, A. TABERLET, P. MIAUD, C. CIVADE, R. HERDER, J. THOMSEN, P. F. BELLEMAIN, E. BESNARD, A. COISSAC, E. BOYER, F. GABORIAUD, C. JEAN, P. POULET, N. ROSET, N., COPP, G. H. GENIEZ, P. PONT, D. ARGILLIER, C. BAUDOIN, J. M. PEROUX, T. CRIVELLI, A. J.

OLIVIER, A. ACQUEBERGE, M. LE BRUN, M. MOLLER, P. R. WILLERSLEV, E. DEJEAN, T. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*. 25, 929-942.

VILLWOCK, J. A. 1984. Geology of the coastal province of Rio Grande do Sul, southern Brazil. A synthesis. *Pesquisas em Geociências*. 16 (16), 5-49.

VIÑAS, J. BREMER, J. A. PLAB, C. 2004. Phylogeography of the Atlantic bonito (*Sarda sarda*) in the northern Mediterranean: the combined effects of historical vicariance, population expansion, secondary invasion, and isolation by distance. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 33, 32-42.

VOOREN, C. M. 1997. Demersal elasmobranchs. Em: SEELIGER, U. ODEBRECHT, C. CASTELLO, J. P. (Ed.). *Subtropical convergence environment: the coast and the sea in the Southwestern Atlantic*. Berlim: Springer. p. 41-146.

WALDMAN, J. R. 1999. The importance of comparative studies in stock analysis. *Fisheries Research*. 43, 237-246.