



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE BRAGANÇA
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

REBECA SABRINA CUNHA MARCOS

**CARACTERIZAÇÃO MITOGENÔMICA DE *Elops affinis* (REGAN, 1909) E AS
IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS PARA A FAMÍLIA ELOPIDAE**

BRAGANÇA-PA

2026

REBECA SABRINA CUNHA MARCOS

**CARACTERIZAÇÃO MITOGENÔMICA DE *Elops affinis* (REGAN, 1909) E AS
IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS PARA A FAMÍLIA ELOPIDAE**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Faculdade de Ciências Biológicas, do Campus Universitário de Bragança, da Universidade Federal do Pará, como requisito final para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Petry Corrêa de Sousa.

BRAGANÇA-PA

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M321c Marcos, Rebeca Sabrina Cunha.
CARACTERIZAÇÃO MITOGENÔMICA DE *Elops affinis*
(REGAN, 1909) E AS IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS PARA
A FAMÍLIA ELOPIDAE / Rebeca Sabrina Cunha Marcos. — 2026.
vi, 42 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Petry Corrêa de Sousa
Trabalho de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Pará,
Campus Universitário de Bragança, Faculdade de Ciências
Biológicas, Bragança, 2026.

1. Elopiformes. 2. Espécies crípticas. 3. Filogenia
molecular. 4. Genoma mitocondrial. 5. Mitogenoma. I. Título.

CDD 576

REBECA SABRINA CUNHA MARCOS

**CARACTERIZAÇÃO MITOGENÔMICA DE *Elops affinis* (REGAN, 1909) E AS
IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS PARA A FAMÍLIA ELOPIDAE**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à
Faculdade de Ciências Biológicas, do Campus
Universitário de Bragança, da Universidade
Federal do Pará, como requisito final para
obtenção do título de Licenciado em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Petry Corrêa de
Sousa.

Data da aprovação: 13/07/2026.

Conceito: Excelente.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo Petry Corrêa de Sousa
Orientador
Instituto de Estudos Costeiros/Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Adam Rick Bessa da Silva
Examinador Externo
Instituto de Estudos Costeiros/Universidade Federal do Pará

Prof. Me. Carla Denise Bessa de Brito
Examinadora Externa
Instituto de Estudos Costeiros/Universidade Federal do Pará

Dedico este trabalho à minha filha Angelina, minha luz e eterna motivação. À minha mãe, mulher de inteligência admirável que sempre me inspira e me apoia. Ao meu irmão Lucas, que foi um dos pilares da minha trajetória acadêmica, e ao meu irmão Hugo por ser parte fundamental da minha história.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à força divina que me guiou e sustentou em cada etapa desta jornada, sendo o alicerce fundamental para a concretização deste sonho. Dedico esta graduação à memória do meu irmão, Lucas Marcos, grande incentivador da minha educação, cujo apoio foi decisivo para que eu ingressasse na universidade e persistisse nesta trajetória. Da mesma forma, agradeço à minha filha Angelina Marcos Maximo; embora sua presença tenha sido breve, a busca por ser um exemplo para ela me deu as forças necessárias para superar todos os obstáculos.

À minha mãe, Hosana da Silva, agradeço por ser minha eterna fonte de inspiração e por estar presente em todos os momentos com seu apoio. Ao meu irmão, Hugo Marcos, deixo meu carinho e o desejo de que a conclusão desta minha trajetória o inspire a encontrar e seguir o seu próprio caminho. Às minhas amigas de curso, Alana Raissa Marinho, Carla Leticia Gomes, Maria Eduarda Amorim e Dayra de Paula Ribeiro, agradeço pela parceria e pelos momentos compartilhados que tornaram o cotidiano acadêmico mais leve.

Expresso minha profunda gratidão ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Rodrigo Petry Corrêa de Sousa, pelo apoio, incentivo constante e pela paciência dedicada ao longo deste trabalho. Por fim, agradeço à Universidade Federal do Pará, ao Instituto de Estudos Costeiros, à Faculdade de Ciências Biológicas por todas as experiências proporcionadas, que foram fundamentais para o meu amadurecimento pessoal e para a construção da minha identidade profissional.

RESUMO

A família Elopidae (Elopiformes) representa uma das primeiras linhagens divergentes de teleósteos e desempenha papel importante para a compreensão da evolução dos peixes ósseos modernos. Apesar de sua ampla distribuição geográfica e relevância ecológica, os representantes dessa família ainda permanecem relativamente pouco explorados sob a perspectiva molecular, limitando inferências mais robustas sobre sua sistemática, filogenia e história evolutiva. Entre as espécies do gênero *Elops*, *Elops affinis* destaca-se por sua distribuição restrita ao Pacífico Oriental, constituindo um modelo promissor para estudos mitogenômicos e evolutivos. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo montar, caracterizar e analisar o genoma mitocondrial completo de *E. affinis*, investigando sua organização gênica, composição nucleotídica, padrões de uso de códons e relações filogenéticas. O genoma mitocondrial foi obtido por sequenciamento de nova geração (NGS), seguido de montagem, anotação e análises comparativas com mitogenomas disponíveis para representantes de Elopidae. O mitogenoma apresentou 16.712 pb e organização gênica típica de vertebrados, contendo 13 genes codificadores de proteínas, 22 genes transportadores de RNA, dois genes ribossomais e uma região controle, sem evidências de rearranjos gênicos ou repetições em tandem. As análises de composição nucleotídica evidenciaram predominância de A+T em relação a G+C e padrões de assimetria composicional compatíveis com os descritos para outros teleósteos. O uso de códons revelou viés na utilização de códons sinônimos, com predominância dos aminoácidos leucina e serina. As análises filogenéticas recuperaram o gênero *Elops* como um grupo monofilético dentro de Elopidae e posicionaram *E. affinis* como a linhagem mais divergente entre as espécies analisadas. Os resultados ampliam os recursos mitogenômicos disponíveis para Elopidae e fornecem novas evidências para estudos de sistemática, filogenia, evolução molecular, biogeografia, genética populacional e conservação.

Palavras-chave: Elopiformes; Espécies crípticas; Filogenia molecular; Genoma mitocondrial; Mitogenoma.

ABSTRACT

The family Elopidae (Elopiformes) represents one of the most basal lineages of teleost fishes and plays an important role in understanding the evolution of modern bony fishes. Despite its wide geographic distribution and ecological importance, this family remains poorly explored from a molecular perspective, limiting robust inferences regarding its systematics, phylogeny, and evolutionary history. Among the species of the genus *Elops*, *Elops affinis* is particularly noteworthy due to its restricted distribution in the Eastern Pacific, making it a promising model for mitogenomic and evolutionary studies. In this context, the present study aimed to assemble, characterize, and analyze the complete mitochondrial genome of *E. affinis*, investigating its gene organization, nucleotide composition, codon usage patterns, and phylogenetic relationships. The mitochondrial genome was obtained through next-generation sequencing (NGS), followed by genome assembly, annotation, and comparative analyses with available mitogenomes from other Elopidae species. The mitogenome comprised 16,712 bp and exhibited the typical vertebrate gene organization, containing 13 protein-coding genes, 22 transfer RNA genes, two ribosomal RNA genes, and a control region, with no evidence of gene rearrangements or tandem repeats. Nucleotide composition analyses revealed an A+T bias over G+C and compositional asymmetry patterns consistent with those reported for other teleost fishes. Codon usage analysis indicated a bias in synonymous codon usage, with leucine and serine being the most abundant amino acids encoded by the mitochondrial genome. Phylogenetic analyses recovered *Elops* as a monophyletic group within Elopidae and placed *E. affinis* as the most divergent lineage among the species analyzed. These findings expand the mitogenomic resources available for Elopidae and provide new insights into the systematics, phylogeny, molecular evolution, biogeography, population genetics, and conservation of this group.

Keywords: Elopiformes; Cryptic species; Molecular phylogeny; Mitochondrial genome; Mitogenome.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	7
1. INTRODUÇÃO GERAL	8
1.1 Aspectos morfológicos, ecológicos e evolutivos da ordem Elopiformes	8
1.2 Distribuição geográfica, ecologia e diversidade da família Elopidae.....	10
1.3 Problemas taxonômicos em Elopidae e a relevância do genoma mitocondrial para estudos filogenéticos	11
1.4 <i>Elops affinis</i> como modelo para estudos mitogenômicos em Elopidae	12
2. JUSTIFICATIVA.....	13
3. OBJETIVOS	14
3.1 Objetivo geral.....	14
3.2 Objetivos Específicos	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
CAPÍTULO II	17
RESUMO	18
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÕES	33
AGRADECIMENTOS	34
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	34
DECLARAÇÃO DE DISPONIBILIDADE DE DADOS.....	34
CONFLITOS DE INTERESSE.....	34
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO III.....	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS	42

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os peixes constituem o grupo mais diverso de vertebrados aquáticos da atualidade, com origem remontando ao Paleozoico e expressiva diversificação durante o período Devoniano, frequentemente denominado “Era dos Peixes” (Benton, 2014; Nelson; Grande; Wilson, 2016). Atualmente, desempenham papéis ecológicos fundamentais nos ecossistemas marinhos e de água doce, atuando em diferentes níveis tróficos, desde herbívoros e detritívoros até predadores de topo (Nelson; Grande; Wilson, 2016).

Entre os peixes ósseos, os teleósteos representam o grupo mais diverso e bem-sucedido evolutivamente, correspondendo à maior parte das espécies de peixes atuais (Betancur-R *et al.*, 2017). Sua ampla radiação adaptativa ao longo da história evolutiva permitiu a ocupação de uma grande variedade de nichos ecológicos, resultando em elevada diversidade morfológica, fisiológica e comportamental (Nelson; Grande; Wilson, 2016; Betancur-R *et al.*, 2017). Dessa forma, os teleósteos assumem papel central nos estudos sobre biodiversidade, ecologia e evolução dos ambientes aquáticos.

Dentro dos teleósteos, a superordem Elopomorpha é considerada uma das primeiras linhagens divergentes, preservando importantes características ancestrais que contribuem para a compreensão da evolução dos peixes ósseos modernos (Near *et al.*, 2012; Chen; Lavoué; Mayden, 2013). Esse grupo compreende as ordens Elopiformes, Albuliformes, Anguilliformes, Notacanthiformes e Saccopharyngiformes, abrangendo espécies com ampla diversidade morfológica, ecológica e comportamental distribuídas em ambientes marinhos, estuarinos e de água doce (Nelson; Grande; Wilson, 2016).

Apesar dessa diversidade, os elopomorfos compartilham características diagnósticas importantes, destacando-se a presença da larva leptocéfala, considerada uma sinapomorfia do grupo (Inoue *et al.*, 2004). Em razão de sua posição entre as primeiras linhagens divergentes dos teleósteos e da conservação de diversos caracteres ancestrais, os Elopomorpha constituem um modelo importante para investigações filogenéticas e evolutivas, contribuindo para o entendimento dos processos de diversificação e da história evolutiva dos teleósteos.

1.1 Aspectos morfológicos, ecológicos e evolutivos da ordem Elopiformes

A ordem Elopiformes compreende principalmente as famílias Elopidae (ladyfishes) e Megalopidae (tarpons), representando uma das primeiras linhagens divergentes dentro de Elopomorpha, cujas espécies compartilham diversas características morfológicas ancestrais,

mas diferem em aspectos ecológicos, biogeográficos e de história de vida (Nelson; Grande; Wilson, 2016). Entre essas famílias, Elopidae destaca-se por sua ampla distribuição geográfica e pela diversidade de espécies do gênero *Elops*, tornando-se um grupo particularmente relevante para estudos sobre evolução, sistemática e estruturação populacional em ambientes costeiros e estuarinos.

Os representantes dessa ordem apresentam características morfológicas relativamente conservadas ao longo da evolução dos teleósteos, incluindo corpo alongado e fusiforme, escamas cicloides bem desenvolvidas e uma única nadadeira dorsal posicionada na região posterior do corpo (Nelson; Grande; Wilson, 2016). As espécies ocorrem predominantemente em ambientes marinhos costeiros tropicais e subtropicais, embora possam utilizar estuários e outros ambientes de transição durante diferentes fases do ciclo de vida (Nelson; Grande; Wilson, 2016; Adams *et al.*, 2014).

Uma característica marcante dos Elopiformes é a presença da larva leptocéfala, estágio larval compartilhado pelos membros de Elopomorpha e considerado uma importante sinapomorfia do grupo (Inoue *et al.*, 2004). Nos Elopiformes, essas larvas apresentam corpo fortemente comprimido lateralmente, transparente e adaptado à dispersão oceânica (Reece *et al.*, 2011). Durante esse estágio, os indivíduos podem permanecer por vários meses em mar aberto antes de sofrerem metamorfose e recrutarem para habitats costeiros rasos, estuarinos ou lagunares, onde ocorre o desenvolvimento juvenil (Greenwood *et al.*, 1966; Pfeiler, 1986).

Essa fase pelágica favorece a dispersão em longas distâncias e desempenha papel fundamental na conectividade genética entre populações geograficamente separadas (Reece *et al.*, 2011). Evidências paleontológicas indicam que a linhagem possui uma longa história evolutiva, com registros que remontam a aproximadamente 160 milhões de anos (Betancur-R *et al.*, 2013; Elias, 2022). Estudos baseados em marcadores nucleares e mitocondriais corroboram a posição basal dos Elopiformes dentro de Elopomorpha, reforçando sua importância para a compreensão da origem e diversificação dos teleósteos modernos (Inoue *et al.*, 2004; Betancur-R *et al.*, 2013).

Além de sua relevância evolutiva, os Elopiformes possuem importância ecológica e econômica em diversas regiões costeiras do mundo. Por utilizarem ambientes costeiros e estuarinos durante parte significativa de seu ciclo de vida, essas espécies são particularmente suscetíveis aos impactos decorrentes da degradação ambiental, perda de habitat e sobrepesca (Adams *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2022). Embora a reprodução ocorra predominantemente em áreas oceânicas, os estágios juvenis dependem de habitats costeiros rasos que funcionam como áreas de crescimento e recrutamento (Reece *et al.*, 2011; Adams *et al.*, 2014).

Entre as principais ameaças aos Elopiformes destacam-se as mudanças climáticas e a pressão pesqueira, em que o aumento da temperatura dos oceanos pode alterar processos fisiológicos essenciais, como crescimento, metabolismo e reprodução, afetando a sobrevivência e a distribuição das populações. Adicionalmente, a pesca excessiva reduz o tamanho populacional e compromete a manutenção da diversidade genética, potencializando os efeitos de outras perturbações ambientais. Dessa forma, a conservação dos habitats costeiros e o manejo sustentável dos recursos pesqueiros são fundamentais para a manutenção das populações e dos serviços ecológicos desempenhados por essas espécies (Ohlberger, 2022).

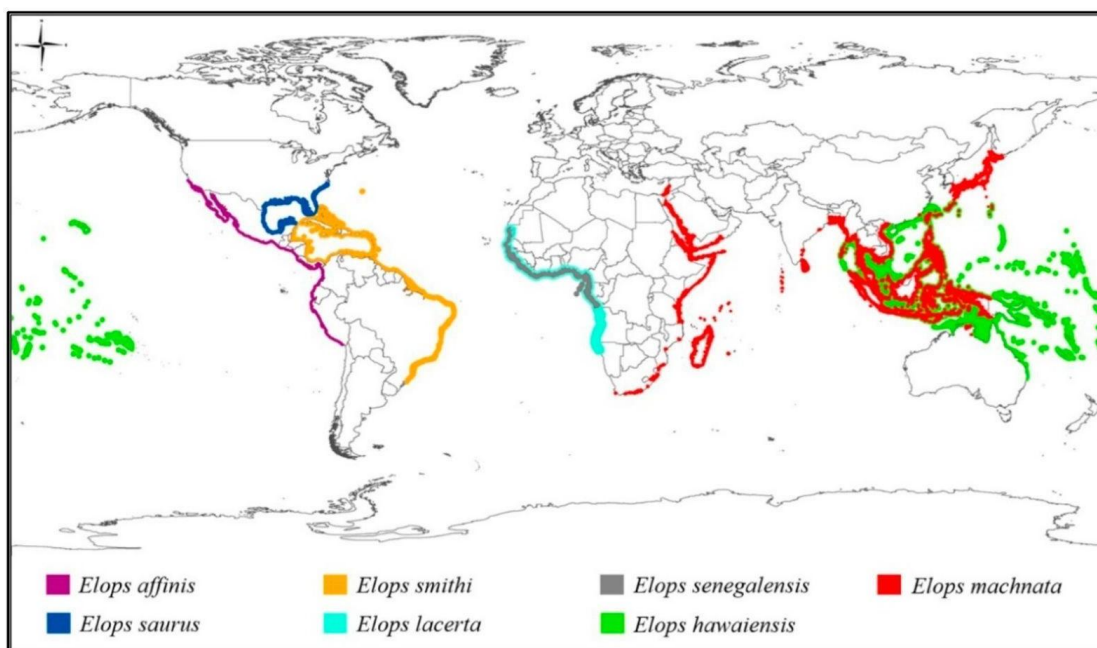
1.2 Distribuição geográfica, ecologia e diversidade da família Elopidae

Embora Elopidae e Megalopidae compartilhem uma origem evolutiva comum dentro dos Elopiformes, a família Elopidae apresenta particular interesse científico devido à ampla distribuição geográfica de suas espécies e à presença exclusiva do gênero *Elops*, cujos representantes têm sido frequentemente utilizados em estudos taxonômicos, ecológicos, filogeográficos e genômicos (Sousa *et al.*, 2022; Williford *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2025). Dessa forma, a compreensão dos padrões de diversidade e distribuição dessa família é fundamental para o entendimento da evolução dos Elopiformes e dos processos históricos que moldaram sua atual distribuição.

A família Elopidae atualmente é composta por sete espécies válidas, sendo o grupo mais variado dentro dos Elopiformes (McBride *et al.*, 2010; Sousa *et al.*, 2022). Devido à sua extensa distribuição por ambientes marinhos e estuarinos de regiões tropicais e subtropicais, são em sua maioria alopátricas, vivendo em contexto de isolamento geográfico, com exceção de algumas espécies simpátricas, que compartilham uma mesma região (Sousa *et al.*, 2022).

De acordo com Adams *et al.* (2014) e Sousa *et al.* (2022), *Elops senegalensis* e *Elops lacerta* habitam o Atlântico oriental; *Elops hawaiiensis* e *Elops machnata* estão na região do Indo-Pacífico; *Elops saurus* e *Elops smithi* vivem em sua maioria separados no Atlântico ocidental, com uma parcela ínfima coexistindo no Golfo do México e no sudeste dos Estados Unidos; *Elops affinis*, com uma distribuição menos expressiva localizada, exclusivamente, no Pacífico oriental (Figura 1).

Figura 1. Mapa da distribuição geográfica das espécies de *Elops*.



Fonte: Sousa *et al.* (2022).

1.3 Problemas taxonômicos em Elopidae e a relevância do genoma mitocondrial para estudos filogenéticos

Apesar de sua relevância ecológica, econômica e evolutiva, a família Elopidae ainda permanece relativamente pouco explorada sob a perspectiva molecular, o que limita interpretações mais robustas acerca de sua sistemática, filogenia e história evolutiva (Sousa *et al.*, 2020). Contudo, nos últimos anos, avanços importantes foram obtidos com a incorporação de ferramentas moleculares aos estudos taxonômicos do grupo. Sousa *et al.* (2021; 2022) utilizaram marcadores mitocondriais associados a informações citogenéticas para investigar as relações filogenéticas e os problemas taxonômicos do gênero *Elops*. Os resultados demonstraram que abordagens moleculares complementam de forma eficiente os dados morfológicos tradicionais, permitindo a identificação mais precisa das espécies e auxiliando na correção de erros taxonômicos recorrentes, especialmente entre *Elops saurus* e *Elops smithi*.

Entre as ferramentas mais empregadas para a identificação molecular de espécies destaca-se o DNA barcode, baseado principalmente em sequências do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (*COI*). Essa metodologia funciona como uma “identidade molecular” das espécies, permitindo comparações rápidas e eficientes entre organismos e auxiliando na delimitação taxonômica (Hebert *et al.*, 2003). Em Elopidae, análises utilizando os genes mitocondriais *COI* e *Cyt b* forneceram informações importantes para a

distinção entre espécies e para o esclarecimento de suas relações evolutivas (Sousa *et al.*, 2021; 2022; Williford *et al.*, 2022). Entretanto, esses marcadores representam apenas uma pequena fração da informação genética disponível no genoma mitocondrial.

Com o avanço das tecnologias de sequenciamento, os genomas mitocondriais completos passaram a desempenhar papel cada vez mais relevante em estudos evolutivos e filogenéticos. Os mitogenomas dos vertebrados são geralmente compostos por 37 genes, incluindo 13 genes codificadores de proteínas, 22 genes transportadores de RNA, dois genes ribossomais e uma região controle não codificante, constituindo uma fonte rica de informações para análises comparativas (Sato *et al.*, 2016). Em comparação com marcadores isolados, os mitogenomas fornecem maior quantidade de caracteres informativos, aumentando o poder de resolução das inferências filogenéticas e permitindo investigações sobre organização gênica, composição nucleotídica, padrões de uso de códons e processos evolutivos associados à diversificação das linhagens.

Apesar dos avanços alcançados nas últimas décadas, ainda são escassos os estudos baseados em genomas mitocondriais completos para representantes de Elopidae, com apenas 3 espécies com genomas publicados até o presente estudo, *Elops saurus*, *Elops hawaiiensis* e *Elops machnata* (Inoue *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2025). Essa lacuna limita a compreensão dos processos históricos de diversificação, das relações filogenéticas entre as espécies e da evolução genômica do grupo. Nesse contexto, a caracterização e a análise comparativa de mitogenomas completos representam uma abordagem promissora para complementar as evidências morfológicas, citogenéticas e moleculares já disponíveis. Além de contribuir para o refinamento da sistemática da família, essa estratégia pode fornecer novas evidências sobre a história evolutiva e os processos de divergência dentro da família, ampliando o conhecimento sobre a evolução dos Elopiformes e dos teleósteos.

1.4 *Elops affinis* como modelo para estudos mitogenômicos em Elopidae

Elops affinis Regan, (1909) é uma das sete espécies válidas reconhecidas para o gênero *Elops*, apresentando distribuição restrita ao Pacífico oriental, desde a costa da Califórnia (Estados Unidos) até o Peru, incluindo o Golfo da Califórnia e regiões costeiras da América Central (Adams *et al.*, 2014; McBride *et al.*, 2010). Assim como os demais representantes da família Elopidae, a espécie ocupa ambientes costeiros, estuarinos e lagunares durante parte significativa de seu ciclo de vida, desempenhando papel ecológico relevante como predador de níveis tróficos intermediários.

Historicamente, a delimitação taxonômica das espécies de *Elops* foi dificultada pela

elevada conservação morfológica observada no grupo, o que resultou em frequentes erros de identificação e em incertezas acerca da distribuição geográfica de algumas espécies (McBride *et al.*, 2010; Sousa *et al.*, 2022). Embora *E. affinis* seja atualmente reconhecida como uma espécie válida e distinta das demais espécies do gênero, ainda existem lacunas importantes relacionadas à sua caracterização genômica e ao seu posicionamento evolutivo dentro de Elopidae.

Dessa forma, *E. affinis* constitui um excelente sistema de estudo particularmente relevante para estudos mitogenômicos em Elopidae, especialmente por representar uma linhagem geograficamente isolada no Pacífico oriental em relação às espécies do Atlântico. A montagem e caracterização de seu genoma mitocondrial poderão fornecer informações inéditas sobre a evolução do gênero *Elops*, além de contribuir para análises comparativas com outras espécies da família, ampliando o conhecimento sobre os processos de diversificação e a história evolutiva dos Elopiformes.

2. JUSTIFICATIVA

O avanço das tecnologias de sequenciamento tem ampliado significativamente o número de genomas mitocondriais disponíveis para peixes teleósteos, fornecendo novas perspectivas para estudos de evolução molecular, filogenia e genômica comparativa. Em Elopidae, embora já existam genomas mitocondriais descritos para algumas espécies do gênero *Elops* (Inoue *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2025), a cobertura taxonômica ainda permanece incompleta, limitando análises comparativas mais abrangentes sobre a evolução do grupo.

Nesse contexto, a obtenção e caracterização do genoma mitocondrial de *E. affinis* contribui para ampliar a representatividade genômica do gênero, permitindo comparações entre espécies distribuídas em diferentes regiões biogeográficas. Considerando que *E. affinis* ocorre exclusivamente no Pacífico oriental, sua inclusão em estudos comparativos poderá fornecer informações relevantes sobre os processos evolutivos que moldaram a diversificação das espécies de *Elops* e sua distribuição atual.

Além de complementar os recursos genômicos disponíveis para a família, a análise do mitogenoma de *E. affinis* permitirá investigar aspectos relacionados à organização gênica, composição nucleotídica, padrões de uso de códons e relações filogenéticas. Tais informações são fundamentais para a compreensão da evolução molecular do grupo e podem servir de base para estudos futuros em sistemática, biogeografia, genética populacional e conservação.

Dessa forma, o presente estudo justifica-se pela necessidade de ampliar o conhecimento mitogenômico disponível para Elopidae, fornecendo dados inéditos para uma espécie ainda pouco explorada sob a perspectiva genômica e fortalecendo as bases para investigações evolutivas e comparativas no gênero *Elops*.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar o genoma mitocondrial completo de *E. affinis* e investigar sua contribuição para a compreensão das relações filogenéticas e da evolução molecular da família Elopidae.

3.2 Objetivos específicos

- Sequenciar, montar e anotar o genoma mitocondrial completo de *E. affinis* a partir de dados de sequenciamento de nova geração (NGS);
- Descrever a organização gênica e as características estruturais do mitogenoma, incluindo composição nucleotídica, genes codificadores de proteínas, RNAs transportadores, RNAs ribossomais e região controle;
- Reconstruir as relações filogenéticas entre *E. affinis* e as demais espécies de Elopidae com base em dados mitogenômicos, contribuindo para o entendimento da evolução do gênero *Elops* e da família Elopidae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, Aaron J. et al. Global conservation status and research needs for tarpons (Megalopidae), ladyfishes (Elopidae) and bonefishes (Albulidae). **Fish and Fisheries**, v. 15, n. 2, p. 280-311, 2014.

BENTON, Michael J. **Vertebrate palaeontology**. John Wiley & Sons, 2014.

BETANCUR-R, Ricardo et al. The tree of life and a new classification of bony fishes. **PLoS currents**, v. 5, p. ecurrents. tol. 53ba26640df0ccae75bb165c8c26288, 2013.

BETANCUR-R, Ricardo et al. Phylogenetic classification of bony fishes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, n. 1, p. 162, 2017.

- CHEN, Wei-Jen; LAVOUÉ, Sébastien; MAYDEN, Richard L. Evolutionary origin and early biogeography of otophysan fishes (Ostariophysi: Teleostei). **Evolution**, v. 67, n. 8, p. 2218-2239, 2013.
- ELIAS, Felipe Alves. **PaleoZoo Brasil - Elopiformes (Elopiforms)**. 2022. Disponível em: < <https://www.paleozoobr.com/elopiformes-elopiforms>>. Acesso em: 18 mai. 2026.
- GREENWOOD, Peter Humphry et al. Phyletic studies of teleostean fishes, with a provisional classification of living forms. **Bulletin of the AMNH**, v. 131, article 4. 1966.
- HEBERT, Paul DN et al. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313, 2003.
- INOUE, Jun G. et al. Mitogenomic evidence for the monophyly of elopomorph fishes (Teleostei) and the evolutionary origin of the leptocephalus larva. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 274-286, 2004.
- LI, Jia-Yu et al. The First Complete Mitogenome Characterization and Phylogenetic Implications of *Elops machnata* (Teleostei: Elopiformes: Elopidae). **Biology**, v. 14, n. 7, p. 739, 2025.
- MCBRIDE, Richard S. et al. A new species of ladyfish, of the genus *Elops* (Elopiformes: Elopidae), from the western Atlantic Ocean. **Zootaxa**, v. 2346, n. 1, p. 29-41, 2010.
- NEAR, Thomas J. et al. Resolution of ray-finned fish phylogeny and timing of diversification. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 34, p. 13698-13703, 2012.
- NELSON, Joseph S.; GRANDE, Terry C.; WILSON, Mark VH. **Fishes of the World**. John Wiley & Sons, 2016.
- OHLBERGER, Jan et al. Non-stationary and interactive effects of climate and competition on pink salmon productivity. **Global Change Biology**, v. 28, n. 6, p. 2026-2040, 2022.
- PFEILER, Edward. Towards an explanation of the developmental strategy in leptocephalous larvae of marine teleost fishes. **Environmental Biology of Fishes**, v. 15, n. 1, p. 3-13, 1986.
- REECE, Joshua S. et al. Comparative phylogeography of four Indo-Pacific moray eel species

(Muraenidae) reveals comparable ocean-wide genetic connectivity despite five-fold differences in available adult habitat. **Marine Ecology Progress Series**, v. 437, p. 269-277, 2011.

SATOH, Takashi P. et al. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 719, 2016.

SOUSA, Rodrigo Petry Corrêa et al. Exploring the diversity of Elopidae (Teleostei; Elopiformes) using DNA barcoding analysis. **Diversity**, v. 14, n. 11, p. 1008, 2022.

SOUSA, Rodrigo Petry Corrêa et al. The role of the chromosomal rearrangements in the evolution and speciation of Elopiformes fishes (Teleostei; Elopomorpha). **Zoologischer Anzeiger**, v. 290, p. 40-48, 2021.

WILLIFORD, Damon et al. Phylogenetic origins and age-based proportions of Malacho (*Elops smithi*) relative to Ladyfish (*Elops saurus*): Species on the move in the western Gulf of Mexico. **Gulf and Caribbean Research**, v. 33, n. 1, p. 46-59, 2022.

CAPÍTULO II

Proposta de artigo a ser submetido a revista *Journal of Fish Biology* (A3), fator de impacto 2,0.

CARACTERIZAÇÃO MITOGENÔMICA DE *Elops affinis* (REGAN, 1909) E AS IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS PARA A FAMÍLIA ELOPIDAE

Rebeca Sabrina C. Marcos¹ e Rodrigo Petry Corrêa de Sousa¹

¹Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Laboratório de Evolução, Bragança-PA, Brazil.

Autor correspondente: rodrigopetry@ufpa.br; +5591980876649.

RESUMO

Elops affinis é uma espécie pertencente à família Elopidae, grupo basal de teleósteos caracterizado por elevada conservação morfológica e relações filogenéticas ainda pouco resolvidas. Neste estudo, descrevemos pela primeira vez o genoma mitocondrial completo de *E. affinis* obtido por sequenciamento de nova geração. O mitogenoma apresentou 16.712 pb e exibiu a organização gênica típica de vertebrados, contendo 13 genes codificadores de proteínas (PCGs), 22 genes transportadores de RNA (tRNAs), dois genes ribossomais (12S e 16S rRNA) e uma região controle. A organização gênica mostrou-se altamente conservada, sem evidências de rearranjos ou repetições in tandem na região controle. A composição nucleotídica revelou predominância de A+T (52,6%) em relação a G+C (47,4%), além de valores positivos de AT-skew e negativos de GC-skew, indicando assimetria composicional típica de genomas mitocondriais de vertebrados. Os genes do complexo NADH apresentaram enriquecimento em citosina, enquanto o gene *nad6* exibiu padrão composicional distinto devido à sua localização na fita leve. A análise do uso relativo de códons sinônimos (RSCU) revelou viés no uso de códons, enquanto a análise da frequência dos aminoácidos codificados indicou predominância de leucina e serina. As análises filogenéticas baseadas nos 13 PCGs mitocondriais, utilizando métodos de Máxima Verossimilhança, recuperaram *Elops* como um grupo monofilético dentro de Elopidae. *Elops hawaiiensis* e *Elops machnata* foram recuperadas como espécies irmãs, enquanto *E. affinis* ocupou a posição mais divergente dentro do clado. Os resultados ampliam os recursos mitogenômicos disponíveis para Elopidae e fornecem informações relevantes para estudos de sistemática, evolução molecular e filogenia de Elopiformes.

Palavras-chave: Elopiformes; Elopomorpha; Evolução molecular; Mitogenoma; NGS; Teleósteos.

INTRODUÇÃO

A ordem Elopiformes pertence à infraclasse Teleostei, dentro do clado Elopomorpha, que representa uma das primeiras linhagens divergentes dos teleósteos atuais. Este clado inclui as ordens Anguilliformes, Albuliformes, Notacanthiformes, Saccopharyngiformes e Elopiformes, sendo esta última composta pelas famílias Elopidae e Megalopidae (Bray, 2016; Nelson; Grande; Wilson, 2016). Estudos filogenéticos sustentam a monofilia de Elopomorpha e posicionam Elopiformes entre as primeiras linhagens divergentes do grupo, refletindo uma longa história evolutiva dentro dos teleósteos (Forey *et al.*, 1996; Inoue *et al.*, 2004). Em razão da conservação de diversas características morfológicas ancestrais, representantes de Elopiformes são frequentemente considerados linhagens com elevada conservação morfológica (Adams *et al.*, 2014). Além disso, uma característica marcante desse grupo é a presença da larva do tipo leptocephalus, estágio larval translúcido compartilhado com outros elopomorfos e considerado uma importante sinapomorfia evolutiva do clado (Miller, 2009; Bray, 2016).

A família Elopidae compreende os peixes popularmente conhecidos como “ladyfishes”, caracterizados por corpo alongado, hidrodinâmico e hábitos predominantemente costeiros e estuarinos. Atualmente, a família inclui sete espécies válidas distribuídas no gênero *Elops*: *Elops affinis* (Regan, 1909), *Elops hawaiiensis* (Regan, 1909), *Elops lacerta* (Valenciennes, 1847), *Elops machnata* (Forsskål, 1775), *Elops senegalensis* (Regan, 1909), *Elops saurus* (Linnaeus, 1766) e *Elops smithi* (McBride *et al.*, 2010) (McBride *et al.*, 2010; Adams *et al.*, 2014). Os representantes da família apresentam ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, ocupando ambientes marinhos costeiros, estuários e lagoas costeiras (Adams *et al.*, 2014). Ecologicamente, esses peixes desempenham importante papel trófico em ecossistemas costeiros, atuando como predadores oportunistas de pequenos peixes, crustáceos e outros invertebrados aquáticos (Santos-Martínez; Arboleda, 1993).

Apesar de sua ampla distribuição geográfica e relevância ecológica, a sistemática e taxonomia de Elopidae ainda apresentam desafios significativos. A elevada conservação morfológica entre as espécies, associada à ocorrência de distribuições simpátricas e alopátricas, dificulta a delimitação taxonômica e o reconhecimento preciso das espécies (Adams *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2022). Estudos prévios sugerem a existência de espécies crípticas dentro do gênero *Elops*, evidenciando que abordagens baseadas exclusivamente em caracteres morfológicos podem ser insuficientes para resolver as relações evolutivas do grupo (McBride

et al., 2010; Adams *et al.*, 2014). Embora análises moleculares utilizando genes mitocondriais, como *cytb* e *COI*, tenham contribuído para avanços na identificação de espécies e inferências filogenéticas, ainda existe uma carência expressiva de dados genômicos completos para a família, limitando interpretações mais robustas acerca da história evolutiva e da diversificação do grupo (Sousa *et al.*, 2022).

Entre as espécies da família, *E. affinis* destaca-se por apresentar distribuição restrita ao Pacífico Tropical Oriental, ocorrendo desde a Califórnia até o Peru e habitando principalmente regiões costeiras e estuarinas (McBride *et al.*, 2010; Adams *et al.*, 2014). Diferentemente de outras espécies do gênero que apresentam áreas de sobreposição geográfica, *E. affinis* é considerada a única espécie totalmente alopátrica do grupo, permanecendo geograficamente isolada das demais espécies de *Elops* (Adams *et al.*, 2014). Essa condição biogeográfica singular torna a espécie particularmente interessante para investigações evolutivas e filogenéticas envolvendo padrões de diversificação dentro de Elopidae. Além disso, a dependência de habitats costeiros e estuarinos torna esses organismos altamente suscetíveis aos impactos antrópicos, incluindo degradação ambiental, poluição costeira, sobrepesca e perda de habitats, fatores que podem comprometer a manutenção de suas populações naturais (Adams *et al.*, 2014).

Nesse contexto, os genomas mitocondriais têm se consolidado como ferramentas amplamente empregadas em estudos de sistemática, filogenia, genética populacional e evolução molecular em peixes (Boore, 1999; Satoh *et al.*, 2016). O DNA mitocondrial apresenta características particularmente vantajosas para esse tipo de abordagem, incluindo herança predominantemente materna, ausência de recombinação, elevada taxa evolutiva e organização gênica relativamente conservada (Bernt *et al.*, 2013). Em vertebrados, o mitogenoma consiste geralmente em uma molécula circular de aproximadamente 16–18 KB, composta por 13 genes codificadores de proteínas, 22 genes transportadores de RNA, dois genes ribossomais e uma região controle não codificante (Boore, 1999). A disponibilidade de genomas mitocondriais completos possibilita análises mais robustas da composição nucleotídica, padrões de uso de códons, pressões seletivas e relações filogenéticas, contribuindo significativamente para o entendimento da história evolutiva de diferentes linhagens de peixes (Sun *et al.*, 2020).

Entretanto, apesar dos avanços recentes em estudos moleculares envolvendo Elopidae, os recursos mitogenômicos disponíveis para o grupo ainda permanecem escassos, especialmente para *E. affinis*. A ausência de descrições detalhadas do genoma mitocondrial completo dessa espécie limita análises comparativas e dificulta inferências mais refinadas sobre a evolução e diversificação do gênero *Elops*. Dessa forma, o presente estudo descreve e

caracteriza, pela primeira vez, o genoma mitocondrial completo de *E. affinis* obtido por sequenciamento de nova geração (NGS). Além da caracterização estrutural do mitogenoma, foram investigados aspectos relacionados à composição gênica, organização genômica e relações filogenéticas dentro de Elopidae. Os resultados fornecem novos subsídios para o entendimento da evolução mitocondrial, taxonomia e sistemática do grupo, além de contribuir para futuras estratégias de conservação e manejo de espécies costeiras e estuarinas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem e extração de DNA

Três espécimes de *E. affinis* foram coletados na costa do Pacífico da Costa Rica, sob licença da Comisión Institucional de Biodiversidad (CBio-UCR-R-359), sendo um deles selecionado para as análises do genoma mitocondrial. Fragmentos de tecido muscular foram removidos e preservados em álcool 90%, sendo posteriormente armazenados a 4 °C até a realização das análises moleculares. O DNA genômico total foi extraído a partir de tecidos musculares e de nadadeiras utilizando o kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega Corporation, Madison, WI, EUA), seguindo as instruções do fabricante. A integridade do DNA extraído foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1% corado com GelRed e visualizado sob luz ultravioleta.

Preparação das bibliotecas e sequenciamento

Após a extração, a qualidade e a pureza do DNA genômico foram avaliadas em espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), enquanto a concentração foi determinada utilizando o fluorímetro Qubit 3.0 (Invitrogen, Waltham, MA, EUA). Apenas amostras com concentração igual ou superior a 60 ng/μL foram selecionadas para a construção das bibliotecas genômicas.

As bibliotecas foram preparadas a partir de aproximadamente 50 ng de DNA genômico utilizando o DNA Prep Tagmentation Kit (Illumina, San Diego, California, USA), com etapa de tagmentação conduzida por 25-30 minutos. A concentração das bibliotecas foi determinada no fluorímetro Qubit 3.0 (Invitrogen, Waltham, MA, EUA), enquanto a distribuição do tamanho dos fragmentos foi avaliada em sistema Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies).

O sequenciamento foi realizado na plataforma NextSeq 2000 (Illumina, San Diego, CA, EUA), empregando o kit NextSeq 1000/2000 P2 (300 ciclos), gerando leituras pareadas de 150 pb e tamanhos de inserto variando entre 459 e 526 pb.

Montagem e anotação do mitogenoma

As leituras brutas de sequenciamento em formato FASTQ foram processadas na plataforma Galaxy Web Server (<https://usegalaxy.eu/>) (Afgan *et al.*, 2018), integrando as etapas de controle de qualidade, filtragem, montagem e anotação. Inicialmente, a qualidade das leituras foi avaliada utilizando o FastQC v0.11.9 (Andrews, 2010), considerando parâmetros como distribuição da qualidade das bases, conteúdo GC e presença de adaptadores.

As sequências foram posteriormente filtradas e trimadas utilizando o Trimmomatic v0.39 (Bolger; Lohse; Usadel, 2014), visando remover adaptadores, leituras de baixa qualidade e regiões contendo baixos escores de qualidade Phred. Após a filtragem, os arquivos foram convertidos do formato FASTQ para FASTA dentro do ambiente Galaxy para posterior montagem.

A montagem do genoma mitocondrial completo foi realizada utilizando o software NOVOPlasty v4.3.1 (Dierckxsens; Mardulyn; Smits, 2016), desenvolvido para a reconstrução de genomas organelares a partir de dados de sequenciamento de nova geração. Para a montagem, foi utilizado como sequência semente (*seed*) o gene cytochrome b (*cytb*) de *E. machnata*, bem como o genoma mitocondrial completo da mesma espécie (GenBank: PV294982.1) como referência para orientar a reconstrução. A anotação gênica foi conduzida utilizando as plataformas MITOS2 e MitoFish/MitoAnnotator (Bernt *et al.*, 2013), permitindo a identificação e delimitação dos genes codificadores de proteínas (PCGs), genes ribossomais (rRNAs) e genes transportadores de RNA (tRNAs). As estruturas secundárias dos genes transportadores de RNA foram preditas por meio da plataforma MITOS2.

A procura de regiões repetitivas *in tandem* no genoma mitocondrial, especialmente na região controle, foi feita utilizando o programa Tandem Repeats Finder (Benson, 1999), permitindo a detecção e caracterização de sequências repetitivas consecutivas ao longo do mitogenoma.

As análises de composição nucleotídica, uso de códons e organização genômica foram realizadas a partir da sequência mitocondrial anotada. As representações gráficas e figuras foram elaboradas utilizando o Microsoft Excel 365.

Construção do banco de dados e análises filogenéticas

O conjunto de dados filogenéticos foi composto pelo mitogenoma obtido neste estudo e por mitogenomas completos adicionais de espécies da família Elopidae recuperados do NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Tabela S1). A seleção das espécies e validação taxonômica foram realizadas com base nos registros disponíveis no FishBase (<https://www.fishbase.se/search.php>).

As reconstruções filogenéticas foram realizadas com base nas sequências nucleotídicas dos 13 genes codificadores de proteínas mitocondriais (PCGs). Para isso, as sequências foram alinhadas individualmente utilizando o software MAFFT v7.313 (Katoh; Standley, 2013) e, posteriormente, concatenadas no SequenceMatrix v1.10 (Vaidya; Lohman; Meier, 2011). A matriz concatenada foi empregada na inferência filogenética por máxima verossimilhança no IQ-TREE v3.0.1 (Nguyen *et al.*, 2015). O suporte estatístico dos nós foi estimado por meio de bootstrap ultrarrápido, com 1.000 pseudorreplicações, e a seleção do modelo evolutivo mais adequado para cada partição foi realizada pelo ModelFinder (Kalyaanamoorthy *et al.*, 2017), integrado ao IQ-TREE. As árvores filogenéticas obtidas foram visualizadas e editadas no software FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2018).

RESULTADOS

Caracterização geral do genoma mitocondrial de *Elops affinis*

O genoma mitocondrial completo de *E. affinis* foi obtido a partir de dados de sequenciamento de nova geração, resultando em uma molécula circular de 16.712 pb (Figura 1). O mitogenoma apresentou a organização típica de vertebrados, contendo 37 genes, incluindo 13 genes codificadores de proteínas (PCGs), 22 genes de RNA transportador (tRNAs), dois genes ribossomais (12S e 16S rRNA) e uma região controle (Tabela 1).

A organização gênica mostrou-se conservada, sem evidências de rearranjos gênicos. A maior parte dos genes encontra-se codificada na fita pesada (H), enquanto o gene *nad6* e oito genes de tRNA (*trnQ*, *trnA*, *trnN*, *trnC*, *trnY*, *trnSer*, *trnE* e *trnP*) estão localizados na fita leve (L), padrão característico de genomas mitocondriais de vertebrados.



Gene	Localização Início-Fim	Sobreposição e espaço Intergênico	Tamanho (pb)	Códon Iniciação - Parada	Fita
tRNA-Phe	1/70	0	71		H
12S RNA	71/1027	0	957		H
tRNA-Val	1028/1099	0	72		H
16S RNA	1100/2801	0	1702		H
tRNA-Leu	2802/2876	0	75		H
ND1	2877/3851	0	975	ATG/TAA	H
tRNA-Ile	3860/3931	8	72		H

tRNA-Gln	3931/4001	1	71		L
tRNA-Met	4001/4069	1	69		H
ND2	4070/5114	0	1045	ATG/T--	H
tRNA-Trp	5115/5186	0	72		H
tRNA-Ala	5188/5256	1	69		L
tRNA-Asn	5258/5329	1	72		L
tRNA-Cys	5367/5434	37	68		L
tRNA-Tyr	5435/5505	0	71		L
COXI	5507/7102	1	1596	ATG/AGG	H
tRNA-Ser	7094/7164	9	71		L
tRNA-Asp	7173/7244	8	72		H
COXII	7259/7949	14	691	ATG/T--	H
tRNA-Lys	7950/8023	0	74		H
ATPase8	8025/8192	1	168	ATG/TAA	H
ATPase6	8183/8865	-8	683	ATG/TA-	H
COXIII	8866/9650	0	785	ATG/TA-	H
tRNA-Gly	9651/9722	0	72		H
ND3	9723/10071	0	349	ATG/T--	H
tRNA-Arg	10072/10141	0	70		H
ND4L	10142/10438	0	297	ATG/TAA	H
ND4	10432/11812	-5	1381	ATG/T--	H
tRNA-His	11813/11881	0	69		H
tRNA-Ser	11882/11949	0	68		H
tRNA-Leu	11951/12023	1	73		H
ND5	12024/13865	0	1842	ATG/TAG	H
ND6	13862/14383	-2	522	ATG/TAA	L
tRNA-Glu	14384/14452	0	69		L
Cytb	14458/15598	5	1141	ATG/T--	H
tRNA-Thr	15599/15671	0	73		H
tRNA-Pro	15675/15744	3	70		L
Região controle	15745/16712	0	968		H

H- Pesada; L- Leve. Os valores negativos (-) e positivos (+) na coluna 3 representa sobreposição gênica e espaço intergênico, respectivamente.

O genoma mitocondrial apresentou organização compacta, caracterizada por curtos espaços intergênicos e regiões de sobreposição entre genes adjacentes. Foram observadas sobreposições gênicas entre *atp8–atp6* (-8 pb), *nad4l–nad4* (-5 pb) e *nad5–nad6* (-2 pb), enquanto os maiores espaços intergênicos ocorreram entre *trnN–trnC* (37 pb) e *trnAsp–cox1* (14 pb).

Os valores positivos representam espaços intergênicos entre genes adjacentes, enquanto os valores negativos indicam regiões de sobreposição gênica. A região controle apresentou comprimento de 968 pb, localizando-se entre os genes *trnP* e *trnF*, sem evidências de repetições in tandem. O gene 12S rRNA localiza-se entre *trnF* e *trnV*, enquanto o 16S rRNA encontra-se entre *trnV* e *trnL1*. Os genes ribossomais apresentaram comprimentos de 957 pb e 1702 pb, respectivamente, conforme observado em outros peixes teleósteos. Em relação aos tRNAs, suas estruturas secundárias apresentaram elevado grau de conservação, com a maioria dos genes exibindo a conformação típica em trevo (cloverleaf), composta pelos braços aceitador, DHU, anticódon e TΨC, contudo, o *trnS1* apresentou uma variação estrutural, sem o braço de dihidrouridina (braço DHU) (Figura S1).

Composição nucleotídica e assimetria de bases

A composição nucleotídica dos genes codificadores de proteínas revelou distribuição assimétrica das bases nitrogenadas, com predomínio de citosina e adenina e menor proporção relativa de guanina (Tabela 2).

Tabela 2. Composição nucleotídica (%) e valores de assimetria do mitogenoma de *E. affinis*.

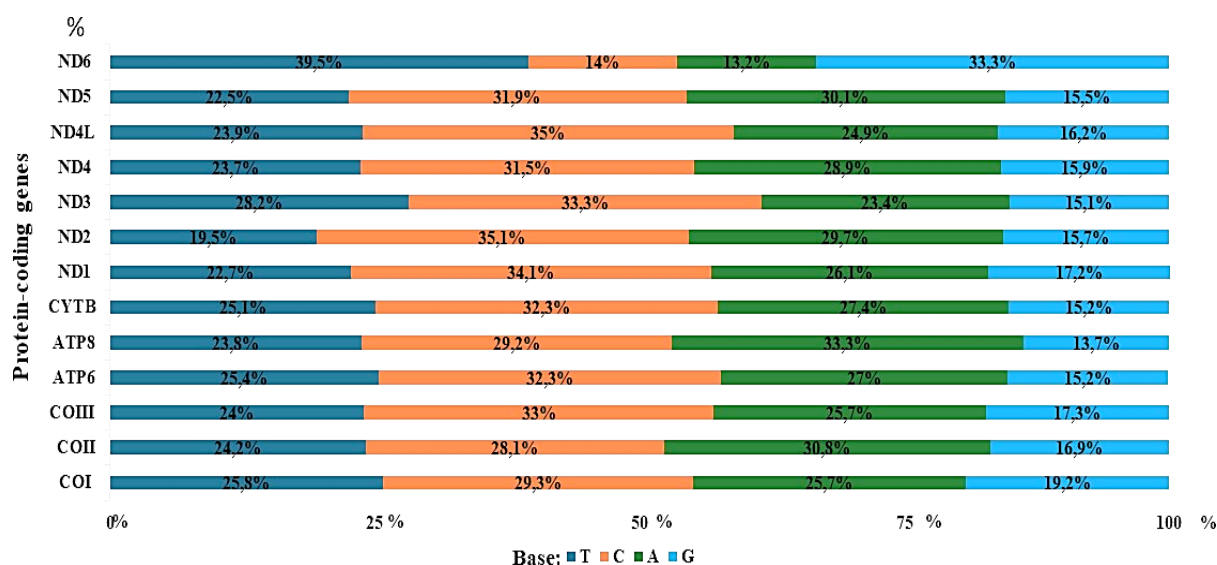
A (%)	T (%)	C (%)	G (%)	A+T (%)	G+C (%)	AT-skew	GC-skew
29,8	22,8	30,0	17,4	52,6	47,4	0,133	-0,266

O mitogenoma de *E. affinis* apresentou predominância de A+T (52,6%) em relação a G+C (47,4%). Os valores positivos de AT-skew (0,133) e negativos de GC-skew (-0,266) indicam maior frequência de adenina em relação à timina e de citosina em relação à guanina (Tabela 2). Os genes do complexo NADH desidrogenase (*nad1–nad5* e *nad4l*) apresentaram enriquecimento em citosina, variando entre 31,5% em *nad4* e 35,1% em *nad2*. A adenina variou entre 23,4% (*nad3*) e 30,1% (*nad5*), enquanto a guanina apresentou os menores valores em todos os genes analisados, variando entre 15,1% e 17,2% (Figura 2).

Os genes da Citocromo c Oxidase (*cox1–cox3*) exibiram distribuição mais homogênea

entre as bases, embora mantendo baixas proporções de guanina. O gene *cox1* apresentou a maior frequência relativa de guanina entre os PCGs analisados (19,2%) (Figura 2). O gene *atp8* destacou-se pelo maior conteúdo de adenina (33,3%), enquanto *atp6* apresentou distribuição nucleotídica mais equilibrada. O gene *nad6*, localizado na fita leve, exibiu padrão distinto dos demais PCGs, com aumento relativo de timina e guanina (Figura 2). De modo geral, esse padrão composicional é amplamente descrito em genomas mitocondriais de vertebrados.

Figura 2: Proporção das bases (ATCG) nos 13 PCGs de *E. affinis*.



Uso de códons e frequência de aminoácidos

A análise do uso relativo de códons sinônimos (RSCU) revelou padrões não aleatórios de utilização dos códons nos genes codificadores de proteínas do mitogenoma de *E. affinis* (Figura 3A).

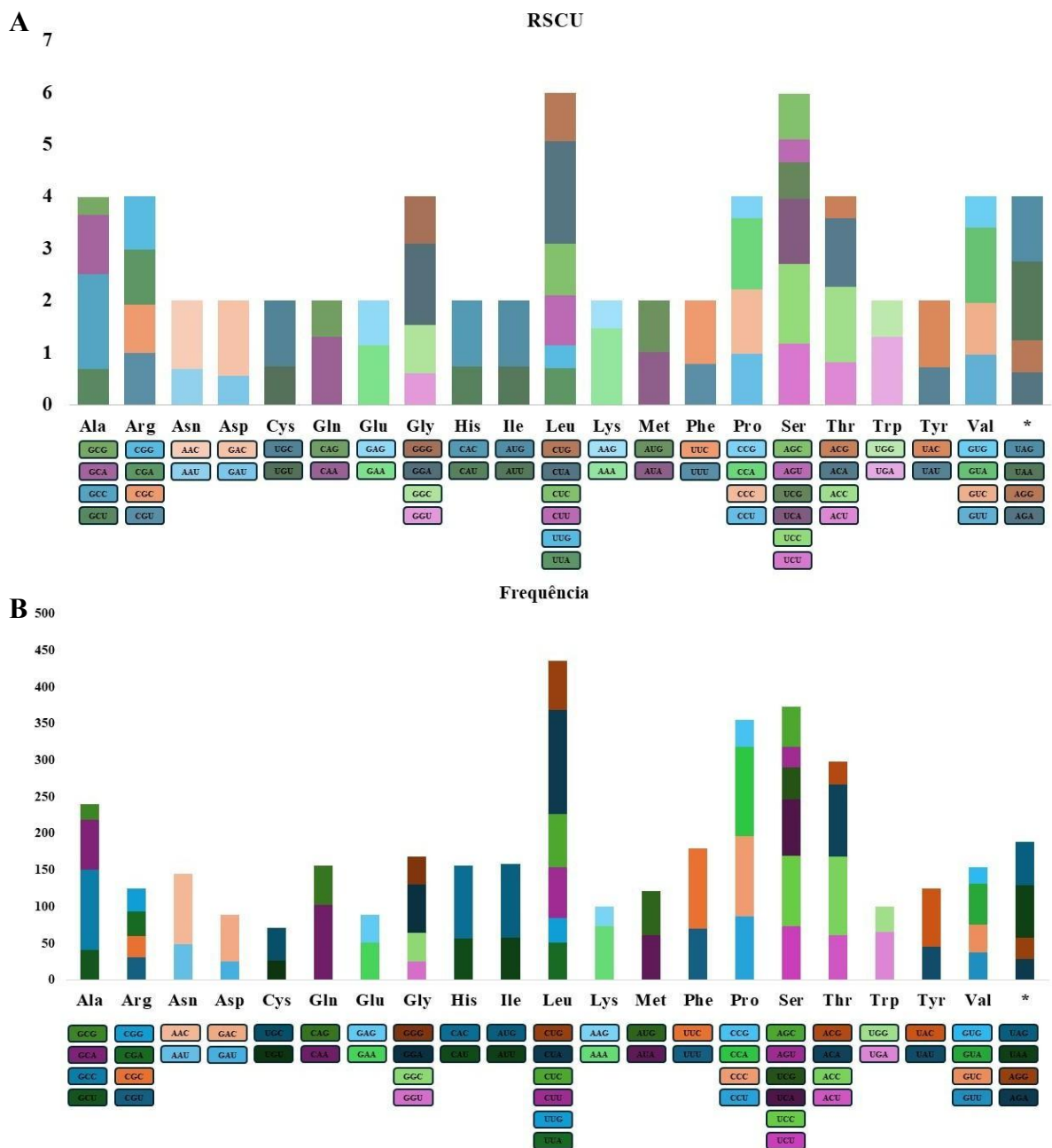
Os aminoácidos leucina e serina apresentaram os maiores valores de frequência e maior diversidade de códons utilizados, correspondendo aos aminoácidos mais frequentes nas proteínas codificadas pelo mitogenoma (Figura 3). Entre os códons de leucina, observou-se maior frequência de CUG, CUA, CUC, CUU, UUG e UUA, enquanto para serina destacaram-se AGC, AGU, UCG, UCA, UCC e UCU.

Aminoácidos como alanina, glicina, prolina, treonina e valina apresentaram frequências intermediárias e distribuição relativamente equilibrada entre os códons sinônimos. Por outro lado, cisteína, triptofano e tirosina exibiram menor frequência de utilização (Figura 3B).

Os valores de RSCU indicaram preferência por determinados códons sinônimos, evidenciando viés no uso de códons dos PCGs mitocondriais de *E. affinis* (Figura 3A). A

análise da frequência dos aminoácidos codificados pelos PCGs mitocondriais revelou predominância de leucina, seguida por serina, prolina e treonina, enquanto triptofano e cisteína apresentaram as menores frequências relativas (Figura 3B).

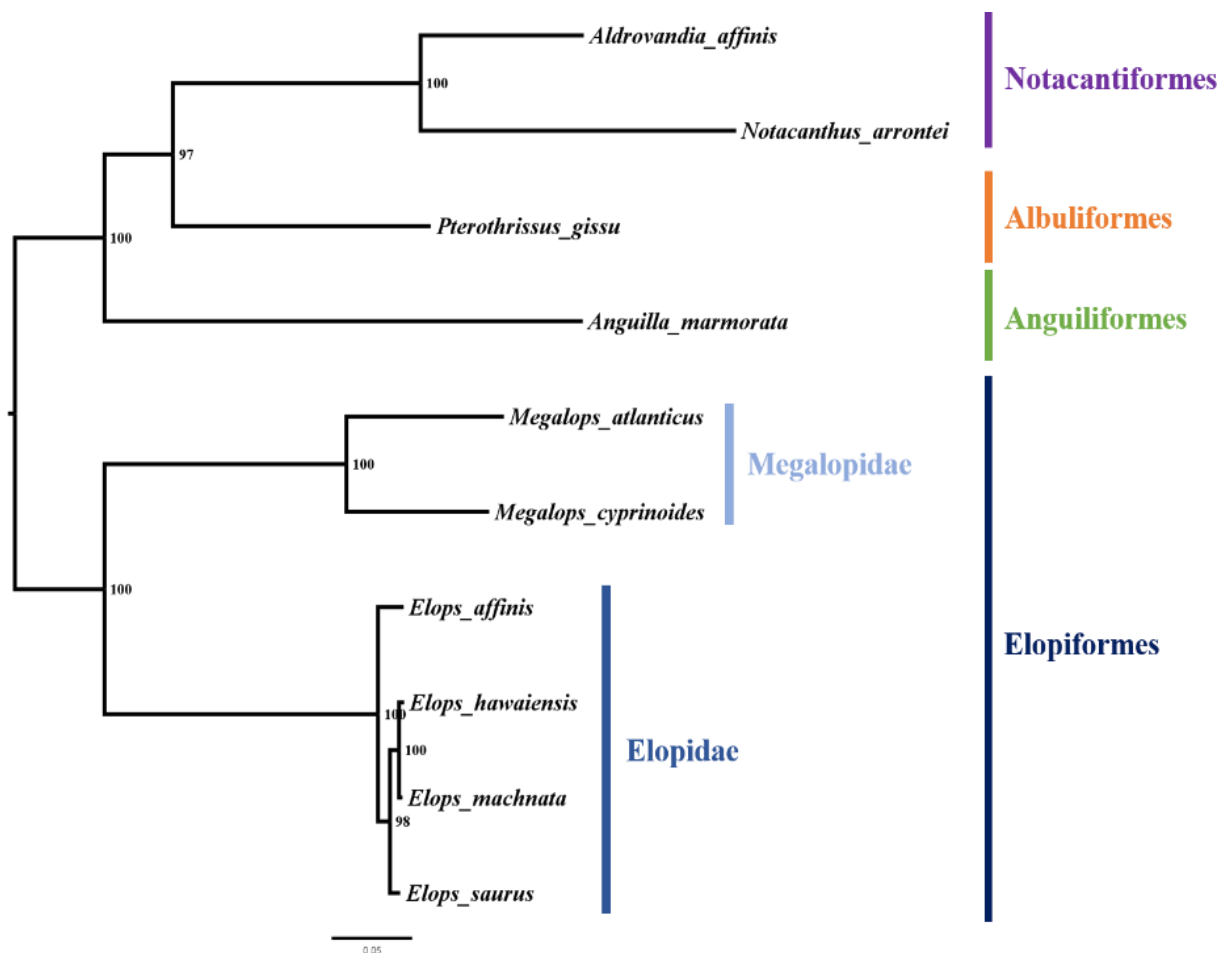
Figura 3: Uso de códons nos genes codificadores de proteínas (PCGs) do genoma mitocondrial de *Elops affinis*. (A) Valores de uso relativo de códons sinônimos (RSCU). (B) Frequência dos aminoácidos codificados pelos PCGs mitocondriais.



Análise filogenética

A análise filogenética recuperou uma topologia consistente e com alto valor de suporte entre as espécies analisadas, evidenciando o agrupamento dos representantes de *Elops* em um clado monofilético dentro de Elopidae (Figura 4).

Figura 4: Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança reconstruída utilizando 13 sequências codificadoras de proteínas de espécies de Elopiformes. Os valores de bootstrap estão indicados junto aos nós. As espécies das ordens Anguiliformes, Albuliformes e Notacantiformes foram utilizadas como outgroup.



Dentro desse agrupamento, *E. hawaiiensis* e *E. machnata* foram recuperadas como espécies irmãs, formando um subclado bem definido. *Elops saurus* apareceu como grupo-irmão do clado composto por *E. hawaiiensis* e *E. machnata*, enquanto *E. affinis* foi recuperada como a linhagem mais divergente entre as espécies de *Elops* incluídas na análise.

As espécies de *Megalops* formaram um agrupamento próximo ao clado de *Elops*, corroborando a proximidade evolutiva entre esses gêneros dentro de Elopiformes. As espécies

utilizadas como grupos externos (*Anguilla marmorata*, *Pterothrissus gissu* e *Notacanthus arroneti*) permaneceram separadas do agrupamento principal, permitindo o adequado enraizamento da árvore filogenética.

De modo geral, os resultados reforçam a monofilia de Elopidae e evidenciam a divergência filogenética de *E. affinis* em relação às demais espécies de *Elops* analisadas.

DISCUSSÃO

Caracterização estrutural do mitogenoma de *Elops affinis*

O presente estudo descreve, pela primeira vez, o genoma mitocondrial completo de *Elops affinis*, ampliando os recursos genômicos disponíveis para Elopidae e contribuindo para o entendimento evolutivo de Elopiformes. O mitogenoma apresentou 16.712 pb e exibiu a organização típica observada em vertebrados, contendo 13 genes codificadores de proteínas, 22 genes de tRNA, dois genes ribossomais e uma região controle. Esse padrão estrutural altamente conservado já foi descrito para outros representantes de Elopomorpha e diferentes grupos de peixes teleósteos (Tian *et al.*, 2022; Qin *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2025).

A distribuição gênica observada em *E. affinis*, com a maior parte dos genes localizada na fita pesada (H) e apenas o gene *nad6* e oito genes de tRNA codificados na fita leve (L), segue o padrão clássico encontrado em mitogenomas de vertebrados e também reportado para outras espécies de Elopidae, como *E. machnata*, *E. hawaiiensis* e *E. saurus* (Qin *et al.*, 2024). A manutenção dessa arquitetura sugere elevado conservadorismo estrutural ao longo da evolução de Elopiformes, uma vez que rearranjos gênicos mitocondriais tendem a ser relativamente raros em peixes e frequentemente associados a linhagens com trajetórias evolutivas particulares ou taxas aceleradas de evolução (Huang *et al.*, 2019).

A presença de curtos espaçadores intergênicos e regiões de sobreposição entre genes reforça a natureza compacta do genoma mitocondrial de *E. affinis*. Sobreposições entre os genes *atp8–atp6* e *nad4l–nad4* são amplamente conservadas em vertebrados e já foram registradas em diversos peixes teleósteos, estando provavelmente relacionadas à otimização do espaço genômico e à eficiência funcional da maquinaria mitocondrial (Tian *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2025). Esse padrão compacto representa uma característica típica dos genomas mitocondriais animais, nos quais há forte pressão seletiva para redução de regiões não codificantes.

Os genes ribossomais apresentaram comprimentos semelhantes aos relatados para outros teleósteos, permanecendo posicionados entre *trnF* e *trnL1*, separados por *trnV*. Essa organização altamente conservada evidencia fortes restrições funcionais sobre esses elementos,

uma vez que alterações estruturais nos rRNAs podem comprometer diretamente a síntese proteica mitocondrial (Hori; Engel; Kobayashi, 2023; Qi *et al.*, 2026).

A predominância da estrutura em trevo nos tRNAs de *E. affinis* está de acordo com o padrão conservado descrito para genomas mitocondriais de teleósteos e outros vertebrados (Hori; Engel; Kobayashi, 2023; Qi *et al.*, 2026). Alterações sutis no tamanho dos braços D TΨC são frequentemente observadas em tRNAs mitocondriais e refletem a plasticidade estrutural dessas moléculas, sem necessariamente afetar sua funcionalidade (Li *et al.*, 2025; Qi *et al.*, 2026). Essa conservação estrutural reforça a estabilidade evolutiva dos genes de tRNA no genoma mitocondrial de *E. affinis*.

A região controle apresentou aproximadamente 968 pb e ausência de repetições *in tandem*. Embora regiões repetitivas sejam frequentemente descritas em mitogenomas de peixes e associadas à regulação da replicação e transcrição mitocondrial, sua ausência em *E. affinis* sugere que mecanismos regulatórios podem depender predominantemente de elementos conservados, como sequências TAS e blocos conservados (CSBs), conforme descrito para outros vertebrados (Bessa-Brito *et al.*, 2026). Esse padrão também foi observado em outros grupos de peixes teleósteos e pode refletir maior estabilidade estrutural da região controle.

Composição nucleotídica e viés composicional

O mitogenoma de *E. affinis* apresentou predomínio de A+T em relação a G+C, padrão amplamente descrito em genomas mitocondriais de vertebrados (Qin *et al.*, 2024; Balcázar *et al.*, 2026). Os valores positivos de AT-skew e negativos de GC-skew indicam maior frequência de adenina em relação à timina e maior abundância de citosina em relação à guanina, respectivamente. Essa assimetria composicional é considerada uma característica típica de mitogenomas animais e geralmente está associada ao mecanismo de replicação assimétrica do DNA mitocondrial, no qual as fitas permanecem expostas por diferentes períodos a processos mutacionais durante a replicação (Huang *et al.*, 2019).

A reduzida proporção de guanina observada nos genes codificadores de proteínas reforça a influência predominante de pressões mutacionais sobre a composição nucleotídica do genoma mitocondrial. Esse padrão já foi registrado em diferentes linhagens de peixes teleósteos e parece representar uma característica conservada da evolução mitogenômica em vertebrados (Li *et al.*, 2025).

Os genes do complexo NADH desidrogenase apresentaram enriquecimento em citosina e baixa frequência relativa de guanina, comportamento semelhante ao observado em outros mitogenomas de peixes. Em contraste, o gene *nad6*, localizado na fita leve, exibiu composição

nucleotídica distinta dos demais genes codificadores, com aumento relativo de timina e guanina. Esse comportamento é frequentemente relatado em vertebrados e decorre da orientação oposta de transcrição desse gene, que o submete a diferentes pressões mutacionais em relação aos genes localizados na fita pesada (Tian *et al.*, 2022; Qin *et al.*, 2024).

Uso de códons e composição de aminoácidos

A análise do uso relativo de códons sinônimos revelou padrões não aleatórios de utilização dos códons nos genes codificadores de proteínas de *E. affinis*, evidenciando a presença de viés no uso de códons. A predominância de determinados códons associados aos aminoácidos leucina e serina segue o padrão frequentemente observado em mitogenomas de peixes teleósteos (Tian *et al.*, 2022; Qin *et al.*, 2024).

A elevada frequência de leucina e serina nas proteínas mitocondriais provavelmente está relacionada à importância estrutural desses aminoácidos em proteínas associadas à fosforilação oxidativa e metabolismo energético mitocondrial. Em contraste, aminoácidos como triptofano e cisteína apresentaram baixa frequência relativa, padrão também reportado em diferentes linhagens de peixes (Qin *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2025).

Os valores de RSCU indicaram preferência por códons específicos, sugerindo que o viés composicional do genoma exerce papel importante na determinação do uso de códons em *E. affinis*. Em mitogenomas de vertebrados, códons terminados em A e C frequentemente são favorecidos em decorrência da própria composição nucleotídica do genoma (Li *et al.*, 2025). Dessa forma, o padrão observado em *E. affinis* provavelmente reflete predominantemente a ação de pressões mutacionais direcionais, embora não se possa descartar completamente possíveis influências relacionadas à eficiência translacional.

Implicações filogenéticas e evolução de Elopidae

A análise filogenética recuperou um agrupamento monofilético para os representantes de *Elops*, corroborando hipóteses previamente propostas para Elopidae com base em dados moleculares mitocondriais (Sousa *et al.*, 2022; Qin *et al.*, 2024). A topologia obtida evidenciou *E. hawaiiensis* e *E. machnata* como espécies irmãs, enquanto *E. saurus* foi recuperada como grupo-irmão desse clado, com *E. affinis* ocupando a posição mais externa dentro de Elopidae. A estreita relação filogenética entre *E. hawaiiensis* e *E. machnata* já havia sido previamente reportada em análises baseadas em genes mitocondriais parciais, incluindo evidências de baixa divergência genética e compartilhamento de haplótipos entre ambas as espécies (Sousa *et al.*, 2019; Qin *et al.*, 2024). Esses resultados têm levantado discussões sobre uma possível

divergência recente ou até mesmo sobre a validade taxonômica desses táxons, especialmente considerando sua elevada similaridade morfológica e ocorrência em regiões parcialmente simpátricas.

Por outro lado, o posicionamento de *E. affinis* como linhagem mais externa dentro do clado de Elopidae sugere maior divergência evolutiva em relação às demais espécies analisadas. Esse padrão pode estar associado ao isolamento geográfico da espécie no Pacífico oriental, uma vez que a distribuição geográfica tem sido apontada como um importante fator estruturador da diversificação em *Elops* (Sousa *et al.*, 2022). Estudos anteriores indicam que eventos históricos, como oscilações do nível do mar e fragmentação de habitats costeiros, podem ter desempenhado papel importante na divergência das linhagens do grupo.

A proximidade filogenética observada entre *Elops* e *Megalops* também corrobora hipóteses filogenéticas previamente propostas para Elopiformes, reforçando a utilidade dos genomas mitocondriais completos como ferramenta para reconstruções evolutivas e para a compreensão da história evolutiva dos teleósteos. (Near *et al.*, 2012; Betancur-R *et al.*, 2013). Apesar da elevada resolução fornecida pelos genomas mitocondriais completos, é importante considerar que o DNA mitocondrial representa apenas um único locus herdado maternamente. Assim, processos como introgressão, retenção incompleta de linhagens e hibridização podem gerar discordâncias entre a história evolutiva mitocondrial e nuclear. Dessa forma, futuros estudos incorporando marcadores nucleares e abordagens filogenômicas serão fundamentais para refinar as relações evolutivas dentro de Elopidae e esclarecer possíveis conflitos taxonômicos no gênero *Elops*.

CONCLUSÕES

Este estudo apresenta o primeiro genoma mitocondrial completo de *E. affinis*, ampliando os recursos genômicos disponíveis para Elopidae e contribuindo para o entendimento da evolução mitogenômica em Elopiformes. O mitogenoma exibiu organização estrutural altamente conservada, composição nucleotídica assimétrica típica de vertebrados e padrões de uso de códons compatíveis com aqueles descritos para outros peixes teleósteos. Além disso, a ausência de rearranjos gênicos reforça o elevado conservadorismo estrutural observado nos genomas mitocondriais do grupo.

A análise filogenética confirmou a monofilia de *Elops* e evidenciou a posição mais divergente de *E. affinis* dentro de Elopidae, enquanto *E. hawaiiensis* e *E. machnata* foram recuperadas como espécies-irmãs. Esses resultados reforçam a utilidade dos mitogenomas

completos para inferências evolutivas e taxonômicas em linhagens de divergência antigas de teleósteos. Dessa forma, os dados gerados neste estudo fornecem uma base importante para futuras investigações filogenéticas, filogeográficas e comparativas envolvendo espécies de Elopiformes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Programa de Apoio à Publicação Qualificada da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação pelo apoio financeiro concedido.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1: Número de acesso do GenBank das sequências de espécies de Elopiformes e outgroups usados na construção da árvore filogenética.

Figura S1. Estruturas secundárias dos tRNAs presentes no genoma mitocondrial de *E. affinis*.

DECLARAÇÃO DE DISPONIBILIDADE DE DADOS

Os dados gerados neste estudo serão disponibilizados publicamente no repositório NCBI/GenBank.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

ADAMS, Aaron J. et al. Global conservation status and research needs for tarpons (Megalopidae), ladyfishes (Elopidae) and bonefishes (Albulidae). **Fish and Fisheries**, v. 15, n. 2, p. 280-311, 2014.

AFGAN, Enis et al. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W537-W544, 2018.

ANDREWS, S. (2010). **FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data**. Babraham Bioinformatics.

BALCÁZAR, Oscar David Albito et al. The Complete Mitogenome of Two *Trachinotus* Species and a Phylogenetic Analysis of the Pompano Subfamily Trachinotinae. **Diversity**, v. 18, n. 2, p. 88, 2026.

BAÑÓN, Rafael et al. Unveiling taxonomic diversity in the deep-sea fish genus *Notacanthus* (Notacanthiformes: Notacanthidae) with description of *Notacanthus arronteí* n. sp. **Journal of fish biology**, v. 104, n. 6, p. 1910-1923, 2024.

BENSON, Gary. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. **Nucleic acids research**, v. 27, n. 2, p. 573-580, 1999.

BERNT, Matthias et al. MITOS: improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 69, n. 2, p. 313-319, 2013.

BESSA-BRITO, Carla et al. Comparative synthesis of tandem repeats in the control region of *Epinephelus* mitogenomes (Peciformes: Epinephelidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 49, n. Suppl 1, p. e20250240, 2026.

BETANCUR-R, Ricardo et al. The tree of life and a new classification of bony fishes. **PLoS currents**, v. 5, p. ecurrents. tol. 53ba26640df0ccae75bb165c8c26288, 2013.

BOLGER, Anthony M.; LOHSE, Marc; USADEL, Bjoern. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114-2120, 2014.

BOORE, Jeffrey L. Animal mitochondrial genomes. **Nucleic acids research**, v. 27, n.8, p. 1767-1780, 1999.

BRAY, Dianne J. **Tarpons, tenpounders**. Elopiformes in Fishes of Australia. 2016. Disponível em: <https://fishesofaustralia.net.au/home/order/16>. Acesso em: 02 Mai 2026.

DIERCKXSENS, Nicolas; MARDULYN, Patrick; SMITS, Guillaume. NOVOPlasty: de novo assembly of organelle genomes from whole genome data. **Nucleic acids research**, v. 45, n. 4, p. e18-e18, 2017.

FOREY, P. L. et al. Interrelationships of elopomorph fishes. In: Stiassny, M. L. J., Parenti, L. R., Johnson, G. D. (Eds). **Interrelationships of fishes**. Academic Press, 1996. p. 175-191.

HORI, Yutaro; ENGEL, Christoph; KOBAYASHI, Takehiko. Regulation of ribosomal RNA gene copy number, transcription and nucleolus organization in eukaryotes. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 24, n. 6, p. 414-429, 2023.

HUANG, Ya-Lin et al. The complete mitochondrial genome sequence of Yarkand hare (*Lepus yarkandensis*). **Mitochondrial DNA Part B**, v. 4, n. 2, p. 3727-3728, 2019.

INOUE, Jun G. et al. Mitogenomic evidence for the monophyly of elopomorph fishes (Teleostei) and the evolutionary origin of the leptocephalus larva. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 274-286, 2004.

KALYAANAMOORTHY, Subha et al. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nature methods**, v. 14, n. 6, p. 587-589, 2017.

KATOH, Kazutaka; STANDLEY, Daron M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 4, p. 772-780, 2013.

LI, Jia-Yu et al. The First Complete Mitogenome Characterization and Phylogenetic Implications of *Elops machnata* (Teleostei: Elopiformes: Elopidae). **Biology**, v. 14, n. 7, p. 739, 2025.

MCBRIDE, Richard S. et al. A new species of ladyfish, of the genus *Elops* (Elopiformes: Elopidae), from the western Atlantic Ocean. **Zootaxa**, v. 2346, n. 1, p. 29-41, 2010.

MILLER, Michael J. Ecology of anguilliform leptocephali: remarkable transparent fish larvae of the ocean surface layer. **Aqua-BioScience Monographs**, v. 2, n. 4, p. 1-94, 2009.

MINEGISHI, Yuki et al. Molecular phylogeny and evolution of the freshwater eels genus *Anguilla* based on the whole mitochondrial genome sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 34, n. 1, p. 134-146, 2005.

NEAR, Thomas J. et al. Resolution of ray-finned fish phylogeny and timing of diversification. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 34, p. 13698-13703, 2012.

NELSON, Joseph S.; GRANDE, Terry C.; WILSON, Mark VH. **Fishes of the World**. John Wiley & Sons, 2016.

NGUYEN, Lam-Tung et al. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular biology and evolution**, v. 32, n. 1, p. 268-274, 2015.

QI, Qian et al. Identified Optimal Codons and Phylogenetic Relationship in *Pseudobagrus* Species Based on Complete Mitogenomes. **Animals**, v. 16, n. 2, p. 279, 2026.

QIN, Qiang et al. Characterization of the complete mitochondrial genome of *Schizothorax kozlovi* (Cypriniformes, Cyprinidae, *Schizothorax*) and insights into the phylogenetic relationships of *Schizothorax*. **Animals**, v. 14, n. 5, p. 721, 2024.

RAMBAUT, A. **FigTree v1.4.4**. 2018. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em: 02 Mai 2026.

REGAN, C. Tate. XII.—The classification of teleostean fishes. **Annals and Magazine of Natural History**, v. 3, n. 13, p. 75-86, 1909.

SANTOS-MARTÍNEZ, Adriana; ARBOLEDA, Santiago. Aspectos biológicos y ecológicos del macabí *Elops saurus* Linnaeus (Pisces: Elopidae) en la Ciénaga Grande de Santa Marta y costa adyacente, Caribe Colombiano. **Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR**, v. 22, n. 1, p. 77-96, 1993.

SATOH, Takashi P. et al. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes. **BMC genomics**, v. 17, n. 1, p. 719, 2016.

SOUSA, Rodrigo PC DE et al. Range distribution and contributions to taxonomy of *Elops smithi* (Elopiformes: Elopidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 04, p. e20181240, 2019.

SOUSA, Rodrigo Petry Corrêa et al. Exploring the diversity of Elopidae (Teleostei; Elopiformes) using DNA barcoding analysis. **Diversity**, v. 14, n. 11, p. 1008, 2022.

SUN, Yuxuan et al. The complete mitochondrial genome of *Dysgonia stuposa* (Lepidoptera: Erebidæ) and phylogenetic relationships within Noctuoidea. **PeerJ**, v. 8, p. e8780, 2020.

TIAN, Ran et al. Evolutionary impacts of purine metabolism genes on mammalian oxidative stress adaptation. **Zoological Research**, v. 43, n. 2, p. 241, 2022.

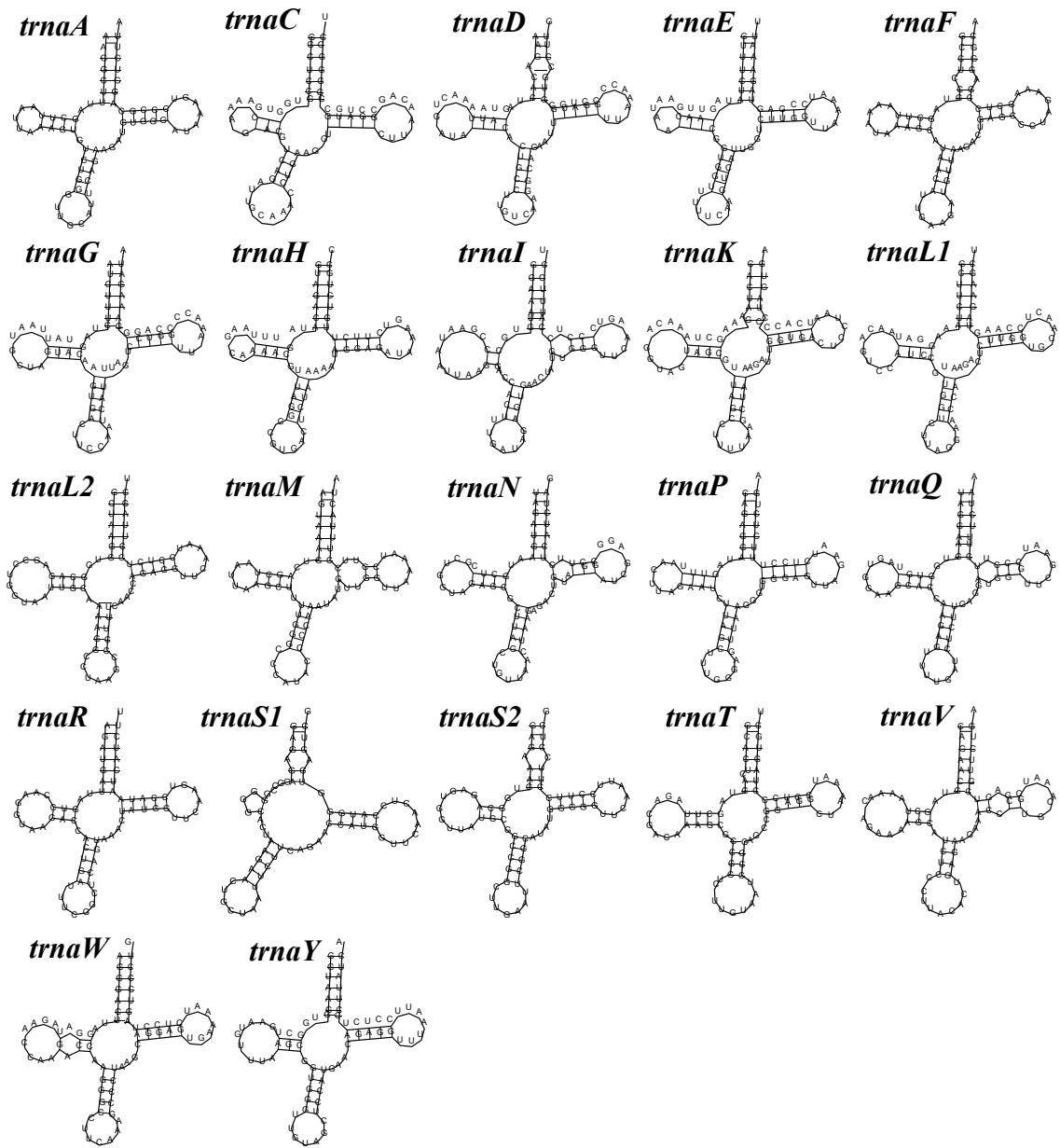
VAIDYA, Gaurav; LOHMAN, David J.; MEIER, Rudolf. SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. **Cladistics**, v. 27, n. 2, p. 171-180, 2011.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1: Número de acesso do GenBank das sequências de espécies de Elopiformes e outgroups usados na construção da árvore filogenética.

Número de acesso	Espécie	Autores
NC_005803.1	<i>Elops saurus</i>	Inoue et al. (2004)
NC_005798.1	<i>Elops hawaiiensis</i>	Inoue et al. (2004)
PV294982.1	<i>Elops machnata</i>	Li et al. (2025)
NC_005804.1	<i>Megalops atlanticus</i>	Inoue et al. (2004)
NC_005799.1	<i>Megalops cyprinoides</i>	Inoue et al. (2004)
NC_006540.1	<i>Anguilla marmorata</i>	Minegishi et al. (2005)
NC_005796.1	<i>Pterothrissus gissu</i>	Inoue et al. (2004)
MT027058.1	<i>Notacanthus arronteii</i>	Banon et al. (2024)
NC_005801.1	<i>Aldrovandia affinis</i>	Inoue et al. (2004)

Figura S1. Estruturas secundárias dos tRNAs presente no genoma mitocondrial de *E. affinis*.



CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo permitiu a caracterização do genoma mitocondrial completo de *E. affinis*, disponibilizando informações inéditas para uma espécie ainda pouco explorada sob a perspectiva genômica. O mitogenoma apresentou organização gênica conservada e compatível com o padrão descrito para vertebrados, contendo 13 genes codificadores de proteínas, 22 genes transportadores de RNA, dois genes ribossomais e uma região controle, sem evidências de rearranjos gênicos ou repetições em tandem. Além disso, as análises de composição nucleotídica revelaram predominância de A+T em relação a G+C e padrões de assimetria composicional semelhantes aos descritos para outros peixes teleósteos. A análise do uso de códons também evidenciou viés na utilização de códons sinônimos, com predominância dos aminoácidos leucina e serina entre as proteínas codificadas pelo genoma mitocondrial.

As análises filogenéticas recuperaram o gênero *Elops* como um grupo monofilético dentro de Elopidae, corroborando hipóteses previamente propostas para a família. Além disso,

E. affinis ocupou a posição mais divergente entre as espécies analisadas, resultado que pode estar relacionado ao histórico de isolamento geográfico da espécie no Pacífico Oriental. Esses achados ampliam o conhecimento sobre a diversidade mitogenômica de Elopidae e contribuem para uma melhor compreensão da evolução molecular do gênero *Elops*.

Por fim, a caracterização do mitogenoma de *E. affinis* fornece uma base importante para futuras investigações em sistemática, filogenia, biogeografia, genética populacional e conservação. Dessa forma, este trabalho amplia os recursos genômicos disponíveis para Elopiformes e fortalece o desenvolvimento de estudos comparativos envolvendo espécies desse grupo de teleósteos, contribuindo para o avanço do conhecimento sobre sua história evolutiva.