

Filogeografia de golfinhos rotadores (*Stenella longirostris* Gray, 1828) no litoral brasileiro a partir de marcadores mitocondriais

Thaís de Assis Volpi

Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical

Mestrado em Biodiversidade Tropical

**Centro Universitário Norte do Espírito Santo
Universidade Federal do Espírito Santo**

São Mateus, Fevereiro de 2012.

Filogeografia de golfinhos rotadores (*Stenella longirostris* Gray, 1828) no litoral brasileiro a partir de marcadores mitocondriais

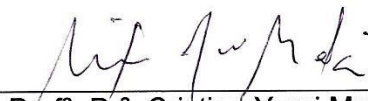
Thaís de Assis Volpi

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Aprovada: 28/02/2012.



Prof. Dr. Samuel Rezende Paiva
Empresa Brasileira de Pesquisa
Agropecuária - EMBRAPA



Prof^a. Dr^a. Cristina Yumi Myiaki
Universidade de São Paulo



Prof. Dr. Salvatore Siciliano
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ



Prof^a. Dr^a. Ana Paula Cazerta Farro
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientadora)

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

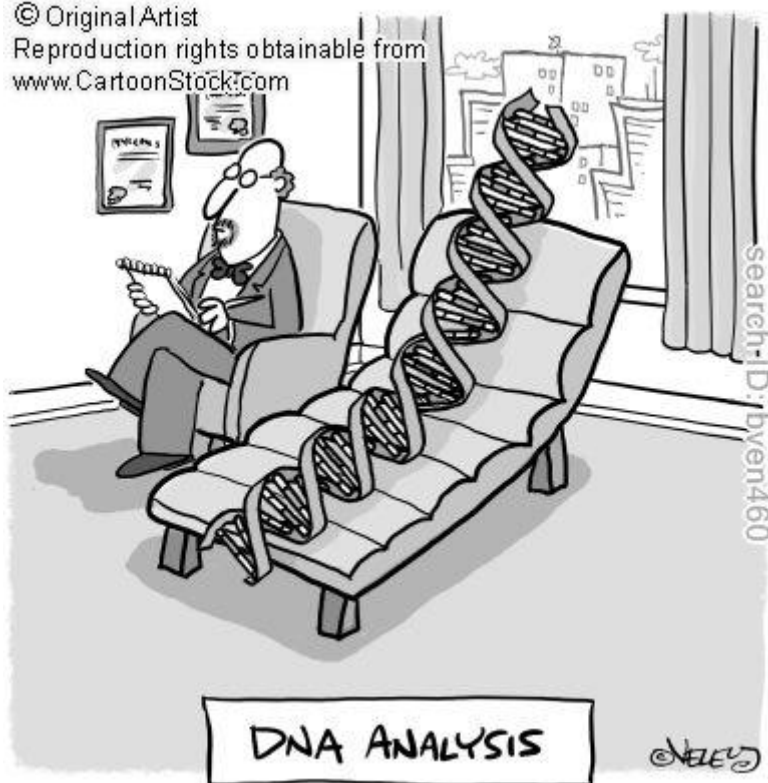
V932f Volpi, Thaís de Assis, 1986-
Filogeografia de golfinhos rotadores (*Stenella longirostris*
Gray, 1828) no litoral brasileiro a partir de marcadores
mitocondriais / Thaís de Assis Volpi. – 2012.
112 f. : il.

Orientadora: Ana Paula Cazerta Farro.
Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário
Norte do Espírito Santo.

1. Cetáceo. 2. Marcadores genéticos. 3. Genética de
populações. I. Farro, Ana Paula Cazerta. II. Universidade Federal
do Espírito Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo.
III. Título.

CDU: 502

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



Aos que em vida foram
ridicularizados, vendo seu
trabalho desacreditado, mas
que suas ideias mudaram todo o
curso da ciência.

E aos que sempre acreditaram
em mim: minha família.

AGRADECIMENTOS:

Ao desenvolver pesquisas científicas percebemos como é importante manter o “fluxo gênico” de informação, material, conhecimento. Por isso, nenhum trabalho pode ser realizado sem a contribuição de muita gente.

Por isso, gostaria de agradecer a minha orientadora, professora Dra. Ana Paula Cazerta Farro, pela grande oportunidade concedida e por compartilhar comigo todo seu conhecimento e tempo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBT) que direta ou indiretamente contribuíram para a construção deste trabalho. Muito obrigada por dividirem comigo o conhecimento de vocês. Pelas conversas informais, pelas aulas “chocantes”, pela disponibilidade e por sempre se mostrarem acessíveis a todos os alunos. Em especial ao professor Dr. Vander Calmon Tosta por contribuir para minha “evolução” nesse percurso.

As ex e atuais secretárias do PPGBT Silvia, Bernadeth, Kárita e Gilsete, que sempre (e prontamente) me ajudaram em tudo que eu precisei dentro e fora do programa. Obrigada por serem sempre tão prestativas e atenciosas.

Aos amigos dessa pioneira turma realmente biodiversa. Agradeço a todos por cada momento, pela amizade, por tudo que dividimos e construímos nesse período. A Angel, Mamão, Flavinha, que dividimos muito mais que momentos: dividimos aluguel, contas, e multiplicamos amizade. Serão pra sempre as “brothers”.

A Drienne (Faria, 2010... rs) pela parceria, por estar sempre disponível a qualquer momento, com quem pude contar pra tudo (e nesse tudo a lista é grande). Por dividir comigo sua experiência, principalmente em laboratório, no qual você foi de suma importância. À Geórgia, Izabela e Lougan pela disponibilidade, conversas e troca de informações.

A Eliane, técnica do laboratório de Genética e Microbiologia do Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas (DCAB/CEUNES) pelas ajudas, conselhos e todo o suporte no laboratório.

A Dra. Leonora Pires Costa por abrir as portas do Laboratório de Mastozoologia e Biogeografia (LaMaB/UFES) e do Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade (NGACB) para o desenvolvimento deste projeto. A Msc. Juliana de Freitas Justino pelas inúmeras ajudas e por todo o suporte laboratorial no NGACB, compartilhando toda sua experiência e conhecimento, e pelas ajudas extra laboratoriais, pelas caronas, e por sempre ser tão atenciosa. A

doutoranda Ana Carolina Covre Loss, por me ajudar com as análises filogenéticas, e por ser sempre tão prestativa.

Ao Dr. José Martins da Silva-Jr (ICMBio/CMA) e a todos do Projeto Golfinho Rotador pela contribuição, troca de informações, disponibilidade e pelas amostras de Fernando de Noronha.

A Msc. Ana Carolina de Oliveira Meirelles e a todos do Programa de Mamíferos Marinhos da Aquasis por disponibilizarem as amostras do Nordeste, e pelas contribuições e informações cedidas.

Ao Luciano Alardo Souto, pela atenção dispensada e por abrir as portas do Instituto Mamíferos Aquáticos (IMA) para nosso projeto.

Ao Sr. Lupércio Barbosa e a todos da Organização Consciência Ambiental (Instituto Orca), por serem sempre tão solícitos aos nossos pedidos, por nos fornecerem informações importantes, por cederem amostras do Espírito Santo, e por mostrarem como é difícil realizar a necropsia de um golfinho!

Ao Dr. Ignácio Benites Moreno (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) pelas amostras da Bacia de Campos do Rio de Janeiro e pelas contribuições e troca de informações. Ao Projeto CENPES/Petrobrás por viabilizar as coletas.

Ao Dr. Eduardo Resende Secchi e Msc. Juliana Couto di Tullio do Museu da Universidade Federal de Rio Grande, além do Dr. Artur Andriolo da Universidade Federal de Juiz de Fora, por serem tão solícitos a nossa requisição e disponibilizarem tão gentilmente as amostras do Sudeste e Sul.

A todos por acreditarem no projeto e por cederem tão gentilmente as amostras dos golfinhos, sem as quais esse trabalho nunca seria possível. E a todos demais pesquisadores que foram tão atenciosos às requisições de amostras.

A CAPES pela bolsa de auxílio do mestrado, que foi de fundamental contribuição.

A FAPES (Fundação de Amparo a Pesquisa no Espírito Santo) pelo apoio financeiro ao projeto.

Agradeço a minha família pelo amor, companheirismo e apoio incondicional. Que me ouviam falar incessantemente de filogeografia de golfinhos, e por mais entediante que pudesse ser pra eles, sempre mostraram tanto interesse como se também amassem tudo aquilo tanto quanto eu. Aos meus pais com os quais sempre e a qualquer momento pude contar. Não dá nem pra pontuar tudo, e por mais que eu tente, estaria cometendo zilhões de injustiças. Aos meus irmãos, minha cunhada e

meu primo por serem fundamentais em muitas questões logísticas, como abrigo de pessoal (*eu*), armazenamento de amostras no cantinho do freezer, locomoção para buscar amostras, e etc etc etc. Fora o entretenimento, né, que daria um capítulo a parte. Muito obrigada por serem tão vocês.

Aos amigos, com os quais sempre pude contar, a qualquer hora e qualquer momento. Pela amizade, pelas risadas e pelas inúmeras caronas. Aos mateenses, com quem dividi tantos momentos maravilhosos. Vocês conseguiram transformar São Mateus num lugar muito melhor. Foram tantas histórias que nem fazendo uma mega download dos vídeos do youtube eu conseguiria lembrar todas as imitações. Aos amigos extra-mateenses, por tornarem tudo mais leve, divertido, seguro. Simplesmente obrigada por fazerem parte da minha vida.

A essa dissertação, pelos quilos a menos e conhecimentos a mais.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse possível.

Muito obrigada a todos!

*"Os processos da ciência
obedecem à lei da repulsão.
Para dar um passo a frente é
preciso começar por derrubar o
domínio do erro e das falsas
teorias".*

Borís Leonídovich Pasternak

RESUMO

O golfinho-rotador-pantropical (*Stenella longirostris longirostris*) ocorre em águas tropicais e subtropicais de todos os oceanos. No litoral brasileiro, ocorre principalmente em águas tropicais entre 170 e 2700m de profundidade, sendo muito comum em Fernando de Noronha. Pouco se sabe sobre o seu fluxo gênico e diversidade genética no oceano Atlântico Sul. O presente estudo teve como objetivo avaliar a variabilidade genética de golfinhos-rotadores em diferentes localidades do litoral brasileiro. Duas regiões do DNA mitocondrial foram analisadas: região controle (D-loop) e citocromo oxidase subunidade I (COI). 82 indivíduos foram amostrados, correspondentes a quatro grupos de golfinhos amostrados no Nordeste do Brasil (G1), em Fernando de Noronha (G2 e G3) e no Sudeste e Sul do Brasil (G4). As amostras foram obtidas por raspagem de pele, biópsia com balestra e de animais mortos encalhados. 79 sequências com 414bp de D-loop e 48 com 714bp da região COI foram analisadas. Além destas, 45 sequências foram geradas a partir de fragmentos concatenados entre D-loop e COI. 115 sequências do GenBank (109 de D-loop e seis COI) foram incluídas para compreender a relação dos haplótipos brasileiros com outras populações mundiais. Os quatro grupos brasileiros avaliados apresentaram diferenciação genética significativa entre eles ($F_{st} > 0,05$ com $P < 0,05$) e, portanto, cada um deles foi considerado como sendo uma população diferente. G4 apresentou os maiores índices de diversidade nucleotídica e haplotípica, enquanto G2 e G3 apresentaram os menores. O baixo fluxo gênico entre as populações de golfinhos-rotadores de Fernando de Noronha em relação às populações não insulares pode indicar a fidelidade de sítio desses animais em águas insulares. As populações do litoral brasileiro são geneticamente diferentes; no entanto, todos compartilharam haplótipos com golfinhos dos oceanos Índico e Pacífico, além de animais da porção norte do Atlântico. G4 mostrou maior similaridade genética com golfinhos de outros oceanos do que com as populações de outros golfinhos-rotadores brasileiros. A população G2 (com maior número de amostras) apresentou maior similaridade genética com a população do Pacífico, mesmo quando comparado com a outra população de Fernando de Noronha (G3). Assim, é possível que o fluxo gênico de golfinhos no Brasil não é atribuído a distância geográfica entre eles, mas por outros fatores históricos, ecológicos e comportamentais.

Palavras-chave: cetáceos; diversidade genética; fluxo gênico; estrutura populacional.

ABSTRACT: Phylogeography of spinner dolphins (*Stenella longirostris* Gray, 1828), in Brazilian coast based on mitochondrial markers

The pantropical spinner dolphin (*Stenella longirostris longirostris*) occurs in tropical and subtropical waters of all oceans. In the Brazilian coast, it occurs mainly in tropical waters between 170 and 2700m depth, being very common in Fernando de Noronha Archipelago. Little is known about its gene flow and genetic diversity in South Atlantic Ocean. The present study aimed to evaluate the genetic variability of spinner dolphin in different localities of the Brazilian coast. Two regions of the mitochondrial DNA were analyzed, control region (D-loop) and cytochrome Oxidase subunit I (COI). 82 individuals were sampled, corresponding to four putative groups of dolphins sampled in Northeast Brazil (G1), in Fernando de Noronha (G2 and G3) and in the Southeast and South of Brazil (G4). The samples were obtained by skin swabbing, skin biopsy, and dead animals found stranded. 79 sequences with 414bp for D-loop and 48 with 714bp for COI region were analyzed. In addition to these, 45 sequences were generated from the link between fragments of D-loop and COI. 115 GenBank sequences (109 of D-loop and six of COI) were included to understand the relationship of Brazilian haplotypes with other world populations. The four Brazilian groups evaluated showed significant intergroup genetic differentiation ($F_{st} > 0.05$ with $P < 0.05$), therefore, each one of them was considered to be a different population. G4 presented the highest nucleotide and haplotypic diversity indices, while G2 and G3 showed the lowest. The low gene flow between the spinner dolphin populations from Fernando de Noronha in relation to the non insular populations may indicate site fidelity of these animals to insular waters. The populations in the Brazilian coast are genetically distinct; however all share haplotypes with dolphins from Indian and Pacific oceans, in addition to animals of the northern portion of the Atlantic. G4 showed more genetic similarity with dolphins from other oceans than with other spinner dolphin Brazilian populations. The population G2 (with the highest number of samples) showed greater genetic similarity with the Pacific population, even when compared with another population of Fernando de Noronha (G3). Thus, it is possible that the gene flow of spinner dolphins in Brazil is not given by the geographical distance among them, but by other historical, ecological and behavioral factors.

Keywords: cetacean; genetic diversity; gene flow; population structure.

LISTA DE FIGURAS

❖ Capítulo 1

Figura 1. A. Temperatura média da superfície do mar baseada nos meses mais frios (entre fevereiro no norte e agosto no sul). B. Temperatura média da superfície do mar baseada nos meses mais quentes (entre agosto no norte e fevereiro no sul). Em Davies, 1963 07

Figura 2. Distribuição das subespécies de *Stenella longirostris* 11

❖ Capítulo 2

Figura 3. Regiões do litoral brasileiro onde foram obtidas amostras de *Stenella longirostris*. 31

Figura 4. Rede de 31 haplótipos (H1 a H31) de D-loop (414bp) correspondentes a 79 indivíduos das quatro populações (G1 a G4) de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro 48

Figura 5. Rede de 18 haplótipos (H32 a H49) de COI (714bp) correspondentes a 48 indivíduos das quatro populações (G1 a G4) de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro 51

Figura 6. Rede de 24 haplótipos (H50 a H73) de DLP+COI (1128bp) correspondentes a 45 indivíduos das quatro populações (G1 a G4) de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro 53

Figura 7. Mapa com as localidades utilizadas na análise 56

Figura 8. Rede de 37 haplótipos (H74 a H110) de D-loop referente a haplótipos com frequência maior que 1 dentre os 87 haplótipos encontrados referentes a sete populações 58

Figura 9. Rede de 17 haplótipos (H111 a H127) de COI com 636bp referentes a sete populações. A numeração dos haplótipos segue a ordem dos haplótipos da Figura 8	61
Figura 10. Maiores correntes superficiais oceânicas.....	70

LISTA DE TABELAS

❖ Capítulo 2:

Tabela 1. Número de amostras coletadas, localidades, tipo de material e método de coleta.....	29
Tabela 2. Relação das amostras utilizadas nas análises da região mitocondrial D-loop com tamanho final de 373bp	35
Tabela 3. Número de amostras sequenciadas e analisadas por região do DNA mitocondrial da espécie <i>S. longirostris</i> no litoral brasileiro	37
Tabela 4. Relação dos 31 haplótipos (H1 a H31) de D-loop com tamanho final de 414bp correspondente a 79 indivíduos	38
Tabela 5. Relação dos 18 haplótipos (H32 a H49) de COI com tamanho final de 714bp correspondentes a 48 indivíduos.....	39
Tabela 6. Relação dos 24 haplótipos (H50 a H73) de DLP+COI com tamanho de 1128bp correspondentes a 45 indivíduos.....	40
Tabela 7. Diversidades haplotípica e nucleotídica de sequências de D-loop (414bp) de 79 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> em cada um dos quatro grupos brasileiros.....	42
Tabela 8. Diversidades haplotípica e nucleotídica de D-loop (373bp) de 79 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> por grupo e de outros grupos estudados por Galver (2002), Oremus <i>et al.</i> , (2007) e Andrews <i>et al.</i> , (2010).....	42
Tabela 9. Diversidades haplotípica e nucleotídica de sequências de COI (714bp) de 48 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> em cada um dos quatro grupos brasileiros.....	43

Tabela 10. Diversidades haplotípica e nucleotídica de sequências de DLP+COI (1128bp) de 45 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> em cada um dos quatro grupos brasileiros.....	43
Tabela 11. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura & Nei para as 79 sequências de D-loop (414bp)	44
Tabela 12. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura & Nei para as 48 sequências de COI (714bp).....	45
Tabela 13. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura & Nei para as 45 sequências de DLP+COI (1128bp).....	45
Tabela 14. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as quatro populações correspondentes a 79 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> do litoral brasileiro baseado no marcador D-loop (414bp).....	46
Tabela 15. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as quatro populações correspondentes a 48 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> do litoral brasileiro baseado no marcador COI (714bp)	47
Tabela 16. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as quatro populações correspondentes a 45 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> do litoral brasileiro baseado no marcador DLP+COI (1128bp)	47
Tabela 17. Mutações e suas respectivas posições entre os 31 haplótipos de D-loop (414bp) de 79 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> tendo como referência o haplótipo H2	49
Tabela 18. Mutações e suas respectivas posições entre os 18 haplótipos de COI tendo como referência uma amostra do haplótipo 33 (H33).....	52

Tabela 19. Mutações e suas respectivas posições entre os 24 haplótipos de DLP+COI (1128bp) de 45 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> tendo como referência o haplótipo H51	54
Tabela 20. Valores dos testes de neutralidade Tajima (D) e Fu (Fs) das quatro populações (G1 a G4) nas análises com D-loop, COI e DLP+COI	55
Tabela 21. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura e Nei para 188 sequências de D-loop (373bp).....	57
Tabela 22. Mutações e suas respectivas posições entre os 37 haplótipos de D-loop (373bp) com frequência maior que 1 entre os 188 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> referentes a sete populações	59
Tabela 23. Valores de Fst entre pares de populações baseados no método de distância Tamura e Nei para as 54 sequências de COI (636bp)	60
Tabela 24. Mutações e suas respectivas posições entre os 17 haplótipos de COI (636bp) entre os 54 indivíduos de <i>Stenella longirostris</i> referentes a sete populações	62

ANEXOS: Capítulo 2

❖ Anexo 1. Relação das amostras e suas respectivas localidades, material disponível e a metodologia de coleta.....	79
❖ Anexo 2. Coordenadas geográficas de cada amostra	82
❖ Anexo 3. Protocolo de extração com Chelex 5%	85
❖ Anexo 4. Protocolo de extração de David Vieites.....	86
❖ Anexo 5. Descrição dos marcadores mitocondriais	88
❖ Anexo 6. Relação das sequências do GenBank	89

ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOVA: Análise de Variância Molecular
AN: Atlântico Norte
Aquasis: Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos
bp: pares de bases
CENPES: Centro de Pesquisas
COI: Citocromo C oxidase subunidade 1
DD: *Data Deficient* (dados insuficientes)
D-loop: região-controle
dNTP: Desoxirribonucleotídeo 5' fosfato
Fst: Índice de fixação de alelos
GI: Grupo Insular
GNI: Grupo Não Insular
h: diversidade haplotípica
ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IUCN: *International Union for Conservation of Nature*
mtDNA: DNA mitocondrial
NCBI: National Center for Biotechnology
P: índice de significância
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)
PF: Polinésia Francesa
SDS: Duodecil Sulfato de Sódio
Taq: *Thermophilus aquaticus*
TBE: Tampão tris-borato EDTA
UV: luz ultravioleta
 π : Diversidade nucleotídica

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL

1. Origem e evolução da família Delphinidae	01
2. Distribuição geográfica dos cetáceos	05
3. Gênero <i>Stenella</i>	09
4. <i>Stenella longirostris</i>	10
5. <i>Stenella longirostris</i> no Brasil	13
6. Genética molecular de <i>Stenella longirostris</i>	14
7. Referências Bibliográficas	18

CAPÍTULO 2: FILOGEOGRAFIA DE GOLFINHOS ROTADORES DO LITORAL BRASILEIRO BASEADA EM MARCADORES MITOCONDRIAIS

1. INTRODUÇÃO	26
2. OBJETIVO GERAL	
2.1. Objetivos específicos.....	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1. Coleta e armazenamento das amostras	29
3.2. Extração e quantificação de DNA.....	32
3.3. PCR com primers mitocondriais	32
3.4. Purificação e sequenciamento.....	33
3.5. Análises das sequências.....	34
4. RESULTADOS	
4.1. Alinhamento das sequências.....	37
4.2. Diversidade genética intrapopulacional.....	38
4.3. Fluxo gênico entre os grupos.....	44
4.4. Análise de Variância Molecular (AMOVA)	46
4.5. Relação entre os haplótipos	47
4.6. Testes de neutralidade	55
4.7. Relação com outras populações mundiais	56
5. DISCUSSÃO	
5.1. Diversidade genética intrapopulacional	63
5.2. Fluxo gênico entre as populações	65

5.3. Análise de Variância Molecular (AMOVA)	65
5.4. Relação entre os haplótipos	65
5.5. Testes de neutralidade	67
5.6. Relação com outras populações mundiais	67
6. CONCLUSÕES	71
Perguntas a serem respondidas	72
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1. ORIGEM E EVOLUÇÃO DA FAMÍLIA DELPHINIDAE (ORDEM CETACEA):

A conquista do ambiente aquático pelos mamíferos só foi possível, dentre outros fatores, a partir da extinção dos dinossauros no Paleoceno, há cerca de 65 milhões de anos atrás (Maa), permitindo a ocupação de novos habitats e nichos (FORDYCE, 1989). A família Raoellidae é a primeira dentro da ordem Artiodactyla a apresentar hábitos relacionados ao ambiente aquático, e apesar de seus hábitos alimentares herbívoros ou onívoros estarem diretamente relacionado ao ambiente terrestre, recorriam à água como local de fuga. Dentro dessa família, hábitos aquáticos foram mais frequentes nos *Indohyus*, embora estes não apresentassem dieta aquática. O *Indohyus* era um artiodáctilo pequeno, que ocupava a porção rasa do ambiente aquático. Não era um bom nadador, mas possuía ossos fortes para manter os pés ancorados (THEWISSEN *et al.*, 2007).

Estima-se que os primeiros cetáceos, pertencentes à extinta subordem Archaeoceti (ordem Cetacea), tiveram origem no Eoceno Médio, há cerca de 50 milhões de anos no mar de Tethys (raso e biodiverso, que originou o Golfo Pérsico) entre a Índia e o continente asiático (COOPER, 2009). A descoberta do crânio de *Parkicetus* (Archaeoceti, Parkicetidae) no Paquistão foi o primeiro indício da origem terrestre dos cetáceos. Apesar de o crânio apresentar características de Creodonte (carnívoros extintos), apresentava o ouvido interno desligado do crânio, e tal peculiaridade é encontrada somente nos cetáceos, o que constituiu numa forte evidência da ancestralidade da ordem Cetacea. A assimetria craniana, as modificações da posição das fossas nasais e perda das cúspides dos dentes são consideradas características progressivas entre os Archaeoceti terrestres para os predominantemente aquáticos (FAHLKE *et al.*, 2011), e possivelmente essas adaptações traziam-lhes alguma vantagem devido a limitações que apresentavam em capturar as presas por causa da presença de cascos.

Ao longo do tempo, a partir das transformações geológicas, o mar de Tethys se tornou mais raso, permitindo a conquista de novos ambientes. Assim, adaptações como membranas interdigitais, cauda longa e forte, membros fortes para propulsão, permitiram o sucesso de *Ambulocetus*. Posteriormente, adaptações como corpo

ligeiramente fusiforme devido ao atrofiamento dos membros (forma corporal hidrodinâmica), além de cauda fortalecida e migração das narinas para o topo do crânio exerciam vantagem nesse ambiente, e isso garantiu a sobrevivência dos *Rodhocetus*. Modificações nas vértebras e nas nadadeiras que permitissem melhor propulsão no ambiente aquático garantiram o sucesso de *Dorudon*, Archaeoceti mais próximo dos cetáceos (MUIZON, 2009).

Assim, os cetáceos se originaram do ancestral artiodáctilo *Indohyus* e ao longo do tempo os indivíduos cuja dieta era baseada em presas aquáticas apresentaram maior sucesso de sobrevivência e reprodução por possuírem adaptações que favoreceram o forrageio nesse ambiente. Mudanças significativas na morfologia dos dentes e partes do esqueleto oral, além de modificações nos órgãos sensoriais (principalmente o ouvido), presentes somente nos cetáceos e seus ancestrais, tornaram a conquista desses mamíferos em ambiente aquático possível (THEWISSEN *et al.*, 2007; BAJPAI *et al.*, 2009; FAHLKE *et al.*, 2011). Fica evidente que a mudança alimentar foi o fato marcante que definiu a ocupação do ambiente marinho (THEWISSEN *et al.*, 2007).

O grupo irmão terrestre atual mais próximo da Ordem Cetacea é a Ordem Artiodactyla, que são ungulados de dedos pares (javalis, catetos, hipopótamos, camelos, antílopes, girafas, veados e búfalos) (GRAUR & HIGGINS, 1994). Análises moleculares sugerem que a família Hippopotamidae (Ordem Artiodactyla) seja o grupo irmão dos cetáceos (GATESY, 1997; MILINKOVITCH *et al.*, 1998; ARNASON *et al.*, 2004). Assim, os hipopótamos e cetáceos compartilhariam o mesmo ancestral, o que gera a parafilia de Artiodactyla, formando assim a ordem Cetarctiodactyla. No entanto, outra vertente, baseada em análises morfológicas defende que a monofilia de todos os artiodáctilos terrestres e cetáceos, primitivos e atuais, só é possível quando somente as ordens são consideradas irmãs, constituindo linhagens evolutivas independentes (THEWISSEN *et al.*, 2001). O'Leary e Geisler (1999) analisaram 23 caracteres morfológicos de 10 táxons vivos e 30 extintos, e em todas as árvores mais parcimoniosas a ordem Artiodactyla é irmã da Cetacea, e não incorporada a ela, como defendem sistematistas moleculares.

A Ordem Cetacea é a única entre os mamíferos a apresentar hábitos predominantemente aquáticos. Possuem o corpo hidrodinâmico e quase ausente de pêlos, com membros posteriores atrofiados. Os órgãos genitais são internos e as glândulas mamárias retraídas. Apresentam espessa camada de gordura, podendo

representar cerca de 1/3 de seu peso total. O sistema respiratório e o circulatório são especialmente adaptados para suportar longos períodos de apneia. O sistema vascular nos pulmões é mais desenvolvido e o número de hemácias por mm³ de sangue é o dobro do normalmente encontrado em mamíferos terrestres, facilitando o transporte de oxigênio e dióxido de carbono nos tecidos (PALAZZO-JR & BOTH, 1988).

Atualmente, os cetáceos estão agrupados nas subordens Mysticeti e Odontoceti, além da extinta subordem Archaeoceti. Essas subordens se divergiram a cerca de 35 milhões de anos atrás, entre o final do Eoceno e início do Oligoceno a partir dos Archaeoceti (STEEMAN *et al.*, 2007; MCGOWEN *et al.*, 2009).

Os Mysticeti (misticetos) incluem as baleias verdadeiras de barbatanas (placas córneas), que apresentam alimentação diferenciada, onde filtram o alimento da água a partir dessas placas. Registros fósseis mostram que grupos mais antigos possuíam tanto dentes como barbatanas, e posteriormente as barbatanas foram mantidas, perdendo-se os dentes. Apresentam crânio simétrico, e ausência da capacidade de ouvir altas frequências sonoras, e não ecolocalizam. Assimetria e grande parte da faixa de frequência sonora foram perdidas durante o Oligoceno, diminuindo sua capacidade auditiva, alterando assim sua alimentação (FAHLKE *et al.*, 2011). Esta é baseada em organismos planctônicos, especialmente pequenos crustáceos do gênero *Euphasia*, (abundantes nos mares mais frios).

Os Odontoceti (odontocetos) são cetáceos com dentes, e os condutos nasais externos são fundidos num único orifício respiratório (exceto o cachalote). Ao contrário dos misticetos, seu crânio é notavelmente assimétrico. Em algumas espécies as regiões rostral e frontal são bastante desenvolvidas; em outras, a boca é alongada para frente, formando uma espécie de “bico” longo e acentuado (JEFFERSON *et al.*, 2007). A assimetria está ligada à alta frequência de produção de som e ecolocalização, que surgiu durante o Oligoceno, permitindo-lhes encontrar presas mesmo em ambiente silencioso. São os únicos cetáceos a utilizarem o sonar como orientação, e além da assimetria, a ecolocalização é favorecida pela presença da estrutura comumente conhecida como melão (cápsula de gordura posicionada na porção anterior da cabeça) (FAHLKE *et al.*, 2011). Todos os odontocetos possuem dentes, que variam em número de 2 a 200, embora nem todos sejam evidentes em algumas espécies. Embora a maioria dos odontocetos seja bem menor que os misticetos (exceção: cachalote), o tamanho do alimento que ingerem é bem maior:

peixes de vários tamanhos e cefalópodes, podendo, no caso da orca, devorar animais endotérmicos como focas, pinguins e até mesmo outros odontocetos (JEFFERSON *et al.*, 2007).

Os odontocetos estão divididos em 10 famílias (33 gêneros, 72 espécies): Physeteridae (cachalote), Kogiidae (cachalotes-anões), Monodontidae (narval e beluga), Ziphiidae (baleias bicudas), Phocoenidae (marsopas), Platanistidae (golfinhos de rio asiáticos), Iniidae (boto da Amazônia), Lipotidae (baiji), Pontoporiidae (toninha) e Delphinidae (golfinhos, orcas e baleias-piloto) (JEFFERSON *et al.*, 2007). Physeteridae é considerada a família basal dos odontocetos, apresentando íntima relação filogenética com os mysticetos (MCGOWEN *et al.*, 2009). A família Delphinidae é a mais diversificada entre todas de Cetartiodactyla e ocupa uma grande variedade de ecossistemas (LEDUC *et al.*, 1999), podendo ser encontrada em água doce, águas rasas costeiras e pelágicas na porção tropical e até subpolares, com espécies amplamente distribuídas e outras com distribuição muito restrita (BOTTA *et al.*, 2011). Estima-se que tiveram origem há cerca de 10 Ma, durante o Mioceno (STEEMAN *et al.*, 2009). Apresentam dentes cônicos, e uma nadadeira dorsal falciforme grande situada próximo a região mediana posterior (salvo algumas exceções). Geralmente têm uma organização social complexa, sendo a família que apresenta registros de formação dos maiores grupos entre os cetáceos (JEFFERSON *et al.*, 2007). A taxonomia genérica de Delphinidae pode não relatar de forma fidedigna a história evolutiva do grupo, onde podem ser encontrados muitos exemplos de agrupamentos não monofiléticos, como *Tursiops* e *Stenella*, por exemplo, e esses dados podem variar inclusive de um estudo para outro. Moreno (2008) analisou caracteres morfológicos de golfinhos da família Delphinidae e propôs que *Stenella* fosse inicialmente dividido em pelo menos três grupos: golfinhos pintados (*Stenella attenuata* e *S. frontalis*), golfinho-rotador (*Stenella clymene* e *S. longirostris*) e golfinho listrado (*Stenella coeruleoalba*), podendo dividir o gênero em pelo menos dois ou três, ou até mesmo fundir algumas espécies de *Stenella* em outros gêneros, como *Tursiops* e *Lagenodelphis* como forma de torná-lo monofilético. Tais discrepâncias na classificação podem indicar convergência adaptativa de caracteres morfológicos e/ou manutenção de caracteres ancestrais (XIONG *et al.*, 2009).

2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS CETÁCEOS:

Embora as fronteiras geográficas no ambiente marinho não sejam tão bem definidas como nos continentes. As principais barreiras geográficas marinhas são as massas terrestres, e as variáveis como a profundidade e a temperatura da água, que são de grande relevância para a distribuição dos cetáceos (MACLEOD, 2009). Os oceanos estão continuamente se deslocando, porque a água de cada bacia oceânica gira suavemente. Além disso, esse ambiente apresenta grandes diferenças de profundidade, onde as condições físicas de iluminação, temperatura, densidade e pressão, além da concentração de nutrientes e oxigênio mudam mais rapidamente do que em ambiente terrestre, acarretando assim em mudanças na biota. Muitas vezes, a uniformidade de características morfológicas de espécies amplamente distribuídas encobre uma diversidade genética, bioquímica e fisiológica considerável, e assim subestima a real biodiversidade (COX & MOORE, 2009).

A rápida irradiação dos cetáceos não se deve somente ao número de espécies, mas também em características ecológicas, incluindo uma vasta gama de habitats, sistemas sociais e comportamentos alimentares (OREMUS, 2008). O processo de especiação e as causas de diferenciação genética em mamíferos marinhos ainda permanecem pouco esclarecidos. Vários mecanismos de especiação têm sido propostos para explicar a irradiação dos cetáceos. Um deles é a especiação alopátrica (CIPRIANO, 1997), que ocorre quando há o aparecimento de novas barreiras que isolem geograficamente as populações, impedindo a reprodução e consequentemente o fluxo gênico entre elas. Porém, algumas populações, mesmo geograficamente distantes, podem ser geneticamente semelhantes, visto que esses grupos apresentam extensa área de distribuição e percorrem grandes distâncias (PICHLER & BAKER, 2000). Além disso, a possibilidade de alguns organismos marinhos serem transportados passiva ou ativamente para locais distantes poderia explicar o fato da baixa divergência genética entre populações distantes de cetáceos (HOELZEL, 1998). Agregações e cruzamentos interespecíficos de diferentes espécies de *Stenella* são frequentemente relatados, pois mesmo que estas apresentem diferenças morfológicas e comportamentais, há sobreposição entre algumas áreas de distribuição (MORENO *et al.*, 2005). Tal fato permite a formação de híbridos (PERRIN *et al.*, 1991; DIZON *et al.*, 1994; SILVA *et al.*, 2005), muitas vezes em números relativamente altos e com variações entre si (PERRIN, 1990; PERRIN *et al.*, 1991). Sendo assim, se a

especiação desses organismos se desse somente por alopatria, a presença de híbridos seria explicada pelo restabelecimento do contato entre organismos próximos geneticamente antes que o processo de especiação tenha permitido o completo isolamento reprodutivo entre eles (HIDLEY, 2006). O oposto também pode ocorrer, quando populações geograficamente próximas apresentam baixo fluxo gênico, como é o caso dos golfinhos rotadores de Moorea, na Polinésia Francesa, cuja população apresenta cerca de 150 indivíduos confinados na região por pelo menos 15 anos (OREMUS *et al.*, 2007). Pesquisas com diferentes grupos de golfinhos rotadores em torno das ilhas vizinhas a Moorea indicaram diferenciação significativa entre eles, tanto a nível mitocondrial quanto nuclear, indicando baixo fluxo gênico entre esses grupos vizinhos, apesar de alguns movimentos individuais serem reportados. O estudo indica a estrutura de uma meta-população entre os grupos do entorno das ilhas da Polinésia Francesa a partir do padrão genético encontrado, visto que ainda há presença de fluxo gênico entre eles, ainda que em baixos níveis. Isso mostra que as populações ainda não apresentam total fidelidade de sítios, mas que esse processo tende ao isolamento completo das populações ao longo do tempo (OREMUS *et al.*, 2007).

Apesar das questões levantadas acima, a distância entre áreas geográficas nem sempre é uma barreira de isolamento. Outros fatores devem ser considerados, principalmente porque a especiação pode ocorrer entre populações dentro de uma mesma área (HIDLEY, 2006). Alguns acreditam que o aperfeiçoamento da ecolocalização permitiu o aumento explosivo de espécies de Delphinidae, levando a exclusão competitiva de alguns Delphinidae e outros grupos extintos (LEDUC *et al.*, 1999; FORDYCE & MUIZON, 2001). Por isso, mecanismos pré e pós-zigóticos também devem ser considerados para explicar a especiação dos cetáceos, principalmente porque esses organismos apresentam grande variedade ecológica, comportamental, morfológica (OREMUS, 2008), além da ocorrência de híbridos, que podem isolar populações adjacentes (RIDLEY, 2006).

A segregação com base em diferenças ecológicas poderia ter agido como uma barreira ao fluxo gênico (OREMUS, 2008), mas outras barreiras, como alterações no clima e na temperatura do mar, também exerceram influência no isolamento de populações. Mudanças no nível do mar e na temperatura da água são apontadas como tendo desempenhado um papel significativo na especiação de

cetáceos (KINGSTON *et al.*, 2009), principalmente de espécies intimamente relacionadas, ou de grupos com distribuição restrita (OREMUS, 2008).

Durante o período de glaciações no Pleistoceno (cerca de 2Maa) o continente africano pode ter exercido significativa barreira geográfica para os cetáceos (DAVIES, 1963). As Figuras 1A e 1B mostram a variação nas temperaturas no mar de acordo com o período do ano entre o Oligoceno (entre 24 e 37 Maa) e o Pleistoceno (0,01 a 2Maa), onde é possível imaginar a influência desses fatores na especiação desses organismos, principalmente porque a temperatura delimita algumas áreas de ocupação dos cetáceos.

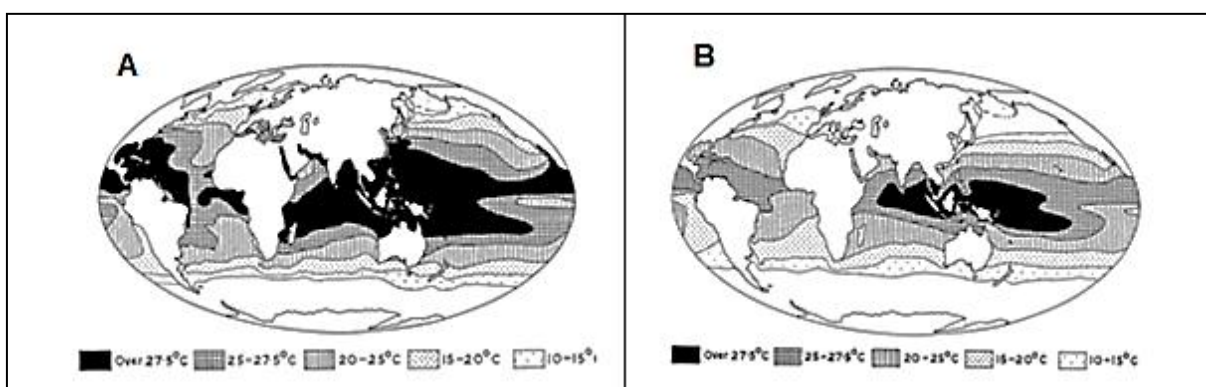


Figura 1. A. Temperatura média da superfície do mar baseada nos meses mais frios (entre fevereiro no norte e agosto no sul). B. Temperatura média da superfície do mar baseada nos meses mais quentes (entre agosto no norte e fevereiro no sul). Em Davies (1963).

Paleontólogos relatam uma grande diversificação de cetáceos entre o final do Mioceno e durante o Plioceno, em que resfriamento da Terra poderia ter desempenhado um papel significativo na especiação dos Delphinidae (FORDYCE & MUIZON, 2001). Tal fato também é evidenciado por análises moleculares, que sugerem dois pulsos distintos de especiação dentro de Delphinidae durante esse período. O gênero *Stenella*, por exemplo, cuja diversificação ocorreu entre o Plioceno e Pleistoceno (MCGOWEN *et al.*, 2009), apresentam algumas espécies pantropicais e outras restritas ao oceano Atlântico, como é o caso de *S. clymene* e *S. frontalis*. Tais alterações climáticas poderiam explicar o endemismo dessas espécies no Atlântico. O porquê destas espécies não terem se expandido para fora do Atlântico não é claro. No entanto, o movimento das correntes em torno do Cabo da Boa Esperança desfavorece a saída do oceano Atlântico (KINGSTON *et al.*, 2009).

MacLeod (2009) verificou que 88% da distribuição atual dos cetáceos poderão ser alterados caso ocorra um aumento expressivo da temperatura das águas oceânicas, agindo tanto na expansão quanto na retração da área ocupada de grande parte das espécies de cetáceos. Tal fato poderia favorecer o restabelecimento de populações previamente separadas pelo sul da África, mas também poderia diminuir a área de ocorrência e desfavorecer 47% das espécies de cetáceos analisadas.

O habitat preferencial das espécies de cetáceo está fortemente relacionado às variáveis ambientais que influenciam a segregação de suas presas (CAÑADAS *et al.*, 2002; BALLANCE *et al.*, 2006), o que pode determinar o tamanho de sua área de vida. Fatores como temperatura da água, batimetria, salinidade, correntes marinhas e variáveis climáticas também afetam a ocorrência de presas e, conseqüentemente, os padrões de ocorrência e distribuição dos cetáceos, embora em níveis diferentes de relevância (BALLANCE *et al.*, 2006).

A disponibilidade de recurso alimentar pode interferir no nicho de espécies simpátricas. A abundância de presas pode permitir a coexistência temporária de espécies com mesmo nicho (SELZER & PAYNE, 1988). Porém, quando este é limitado, normalmente a espécie subordinada tende a alterar seu nicho alimentar, modificando itens da sua dieta (BONESI *et al.*, 2004). Pequenas diferenças na seleção de presas são suficientes para suprir as necessidades energéticas dos predadores, permitindo a coexistência de espécies simpátricas de golfinhos. Muitas vezes a coexistência de organismos intimamente relacionados é definida pelas estratégias de forrageamento diferenciadas, como observado em populações simpátricas de subespécies de *Stenella longirostris* (*S. l. longirostris* e *S. l. roseiventris*), em que ambas são consideradas oportunistas quanto ao hábito alimentar, mas adotam diferentes estratégias de forrageamento, em que o golfinho rotador pantropical se alimenta de espécies mesopelágicas, enquanto *S. l. roseiventris* se alimenta principalmente de peixes e invertebrados bentônicos (PERRIN, 1989; PERRIN, 2007).

3. GÊNERO *STENELLA*:

O gênero *Stenella* atualmente é constituído por cinco espécies, sendo elas: *S. attenuata* (golfinho pintado pantropical), *S. frontalis* (golfinho pintado do Atlântico), *S. longirostris* (golfinho rotador), *S. clymene* (golfinho clymene) e *S. coeruleoalba* (golfinho listrado). Todos os golfinhos do gênero possuem corpo delgado e rostru relativamente longo, são altamente sociais e alguns deles realizam comportamentos aéreos. São epipelágicos e podem mergulhar a profundidades de 200-300 metros. Geralmente se alimentam de pequenas lulas, camarões e peixes na zona mesopelágica. Distribuem-se na porção tropical, subtropical e temperada de todos os oceanos, sendo duas espécies endêmicas da porção tropical do oceano Atlântico (*S. clymene* e *S. frontalis*). As principais diferenças entre as espécies são os padrões de coloração, tamanho e distribuição (JEFFERSON *et al.*, 2007). O agrupamento do gênero é considerado polifilético (LEDUC *et al.*, 1999) devido a similaridade entre eles, visto que a divergência entre as espécies é recente, com cerca de três milhões de anos (MCGOWEN *et al.*, 2009). Tal fato pode acarretar em eventuais erros de identificação, além da presença de possíveis homoplasias nas análises dos caracteres e identificação de seus respectivos estados. Tanto estudos a partir de caracteres morfológicos (MORENO, 2008) quanto moleculares apontam polifilia do gênero, e na maioria dos casos, muitos genes das espécies de *Stenella* se encontram geneticamente mais próximos de *Tursiops*, *Delphinus*, *Sousa* ou *Lagenodelphis*. Tal confusão persiste tanto em análises de genes mitocondriais como *cit-b* (LEDUC *et al.*, 1999) ou *COI* e *cit-b* (VIRICEL & ROSEL, 2012), quanto em genes nucleares (MCGOWEN *et al.*, 2009), incluindo AFLP (KINGSTON *et al.*, 2009), ou em análises com genes mitocondriais e nucleares (STEEMANN *et al.*, 2009), e até mesmo com íntrons (XIONG *et al.*, 2011). A dificuldade de identificação de determinadas espécies de golfinhos em ambiente natural pode se tornar um fator limitante na determinação de seu padrão de distribuição.

Os golfinhos clymene, rotador e pintado do Atlântico apresentam classificação de acordo com seu *status* de ameaça como “*Data Deficient*” (dados insuficientes) pela RedList da IUCN devido a tais dificuldades, enquanto o pintado pantropical e o listrado estão categorizados como não ameaçados (*Least Concern*) (HAMMOND *et al.*, 2008).

Entre as diferenças referentes à distribuição, *S. coeruleoalba* apresenta maior amplitude latitudinal (105°), seguido de *S. frontalis* e *S. longirostris* (ambos com 80°),

tendo *S. attenuata* e *S. clymene* entre as menores amplitudes (45 e 50°, respectivamente) (NARDY, 2003). *S. clymene* ocorre fora da plataforma continental em águas profundas (entre 250 a 5000m; PERRIN *et al.*, 1981). Já *S. attenuata* é comumente encontrado em profundidades que variam de 850 a 4900m, além da quebra da plataforma continental (MORENO *et al.*, 2005). Já *S. frontalis* ocorre dentro da plataforma continental interna até o talude, a baixas batimetrias (ZERBINI *et al.*, 2004). O golfinho rotador apresenta habitat mais variável dentro do gênero, podendo ser encontrado ao longo da plataforma continental inferior e até mesmo em águas com inclinação de 180 a 2500m (PERRIN, 1998).

4. *STENELLA LONGIROSTRIS*:

A espécie é popularmente conhecida como golfinho rotador devido ao fato destes animais realizarem comportamentos aéreos, em que giram ao redor de seu próprio eixo (FISH *et al.*, 2006), podendo girar até 14 vezes longitudinalmente (PERRIN *et al.*, 2002). Os golfinhos rotadores apresentam ampla distribuição, que é acompanhada por notável variação entre as populações, como diferenças morfológicas, incluindo padrão de coloração, morfologia do crânio, número de dentes e vértebras (PERRIN, 1990), ou ecológicas, como hábitos alimentares (BENOIT-BIRD & AU, 2003), sazonalidade reprodutiva (PERRIN *et al.*, 2002) e estrutura populacional (JEFFERSON *et al.*, 2007). Como características gerais, *S. longirostris* possui rostro alongado e fino e corpo altamente hidrodinâmico (fino e alongado). Apresenta comprimento médio de 1,80m e peso em torno 78 kg (PERRIN, 1998), podendo variar geograficamente (PERRIN, 1990). Atualmente são descritas quatro subespécies com base nessas diferenças: *S. l. longirostris* (golfinho rotador pantropical), *S. l. orientalis* (golfinho rotador oriental), *S. l. centroamericana* (golfinho rotador centro-americano) e *S. l. roseiventris* (golfinho rotador anão) (PERRIN *et al.*, 2007), com distribuição tanto restrita quanto cosmopolita (Figura 2).

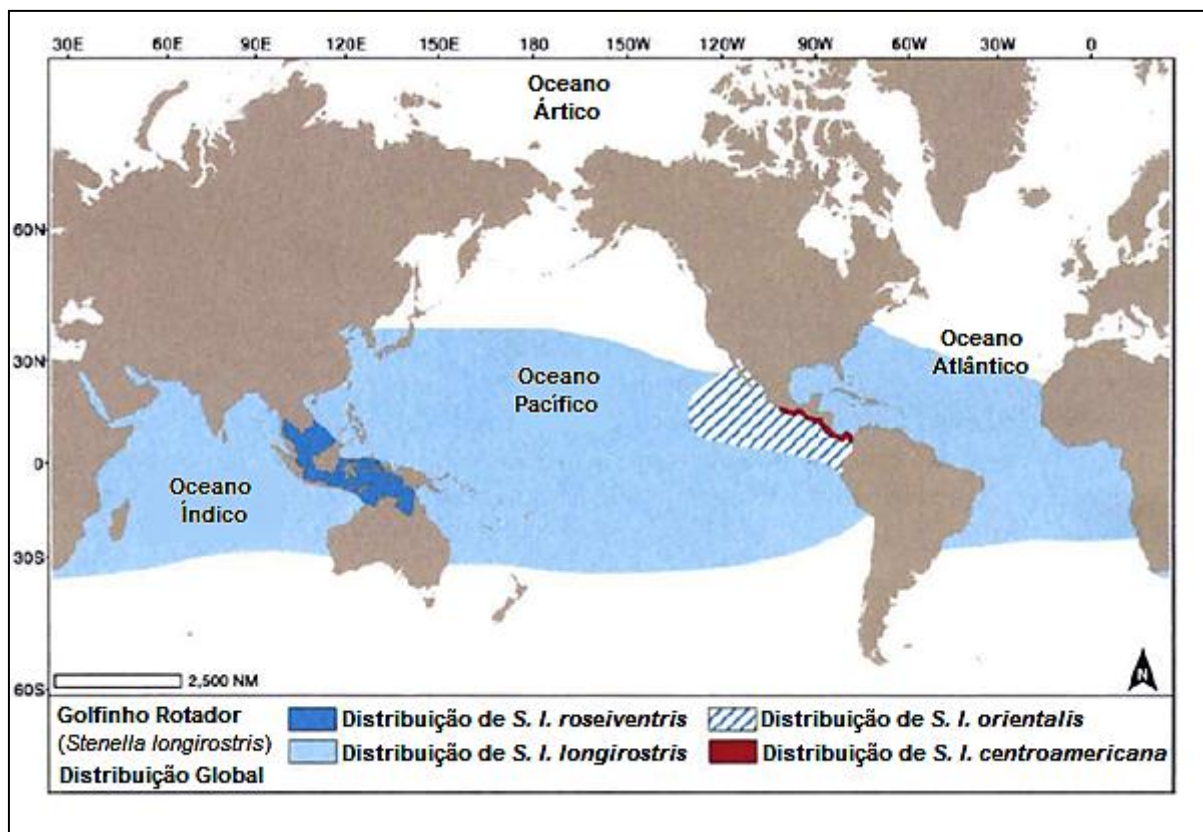


Figura 2. Distribuição das subespécies de *Stenella longirostris* (Jefferson *et al.*, 2007, modificado).

No Pacífico Tropical Leste há outra forma de golfinho rotador (*whitebelly*) com diferenças significativas em relação ao rotador pantropical ou o oriental (PERRIN, 1972), mas este ainda é considerado como um híbrido entre *S. l. longirostris* e *S. l. orientalis* (JEFFERSON *et al.*, 2007), já que em algumas áreas estas subespécies ocorrem em simpatria (PERRIN *et al.*, 1991). O híbrido é muito frequente, e ainda apresenta outros dois morfotipos, que diferem entre si a partir de caracteres morfológicos como o padrão de cor, formato da nadadeira dorsal, forma e comprimento total do corpo, e diferenciação genética (PERRIN, 1990; PERRIN *et al.*, 1991). Estas variações morfológicas e genéticas são muito questionadas, visto que podem ser consequência de cruzamentos parciais entre essas subespécies (DIZON *et al.*, 1994).

O golfinho rotador pantropical apresenta três cores, com uma faixa dorsal cinza escura, o flanco cinza claro e a faixa ventral branca. A nadadeira dorsal é falcada e ereta. Não apresenta dimorfismo sexual. A área de ocorrência das populações não é precisamente conhecida, mas em um estudo de captura e recaptura de espécimes de *S. l. longirostris* e *S. l. orientalis*, marcados no Pacífico

Leste, Martin e colaboradores (1990) sugerem que o deslocamento destes golfinhos varia de 300 a 700 km. Durante o dia costumam descansar e realizar comportamentos sociais, acrobacias aéreas e atividades reprodutivas em águas mais rasas e calmas no entorno de ilhas oceânicas, bancos e atóis (PERRIN & GILPATRICK, 1994), e são comumente encontrados nas proximidades de arquipélagos como no Hawaii, Polinésia Francesa e Fernando de Noronha. Os golfinhos rotadores apresentam preferência por águas tropicais de superfície, com pequena variação anual da temperatura (AU & PERRYMAN, 1985), em locais onde baixas e altas profundidades estão próximas (NORRIS & DOHL, 1980). Forrageiam em águas adjacentes frias e mais profundas, principalmente à noite, quando a comunidade mesopelágica migra para a superfície (BENOIT-BIRD & AU, 2003). Os golfinhos rotadores alimentam-se principalmente de peixes e lulas mesopelágicas, normalmente presas mais abundantes no local, categorizando-os como oportunistas (DOLAR *et al.*, 2003).

Pode ocorrer segregação por idade e sexo entre os grupos intraespecíficos, com uma concentração de indivíduos mais vulneráveis (fêmeas, jovens e filhotes) no centro, onde indivíduos maiores (geralmente machos) ficam localizados ao redor do grupo (NORRIS & DOHL, 1980). Há relatos de associação de *S. longirostris* com outras espécies, podendo ser vista entre grupos de golfinhos listrados ou clymene (JEFFERSON & CURRY, 2003).

Os golfinhos rotadores são poliândricos, em que uma mesma fêmea pode cruzar com diversos machos do grupo, e pode haver tanto fêmeas como machos com múltiplos parceiros ao longo da mesma estação reprodutiva ou fora deste período. A ocupação do ambiente aberto é tida como uma das causas responsáveis pelo acasalamento poliândrico de cetáceos (NORRIS & SCHILT, 1988).

Estimativas apontam que existam mais de um milhão de golfinhos rotadores em todo o mundo (GALVER, 2002; HAMMOND *et al.*, 2008), mas este valor é subestimado, já que inúmeras outras populações da região do Atlântico, Índico e Pacífico não foram contabilizadas (HAMMOND *et al.*, 2008).

Apesar de sua ampla distribuição e do grande número de indivíduos, a espécie é categorizada como “DD” (Deficiente de Dados) no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (CHIARELLO *et al.*, 2008), na RedList da IUCN (HAMMOND *et al.*, 2008) e no Plano de Ação de Nacional para Conservação de Pequenos Cetáceos do ICMBio (SILVA-JR & BARRETO, 2011), ou seja, ela não

apresenta estudos suficientes para ter seu status de conservação determinado (grau de vulnerabilidade à extinção). Além disso, como *Stenella longirostris* é composta por várias subespécies e populações diferenciadas, o estado de conservação de cada uma destas deve ser avaliado separadamente. As estimativas disponíveis de abundância e mortalidade sugerem que algumas delas possam se enquadrar em alguma categoria de ameaça (HAMMOND *et al.*, 2008).

5. *STENELLA LONGIROSTRIS* NO BRASIL (ATLÂNTICO SUDOESTE):

Apesar de apresentar ampla distribuição ao longo do litoral brasileiro, grande parte dos estudos realizados com a espécie *S. longirostris* contempla áreas adjacentes ao arquipélago de Fernando de Noronha/PE, visto que o local permite a observação de um grande número de golfinhos, tanto em pontos estratégicos em terra como em mergulhos devido à transparência das águas na região. Os golfinhos presentes no local apresentam diferenças comportamentais entre as estações chuvosa e seca (ritmo circadiano), em que no período chuvoso há a diminuição das atividades sociais como acrobacias e reprodutivas, e permanecerem menos tempo nas áreas de repouso. Além disso, o número de golfinhos nessas áreas também é menor nesse período (SILVA & SILVA-JR, 2009).

Em relação ao comportamento dos golfinhos na região, muitos deles, como socialização a partir de jogos, cópulas, amamentação, conformação de grupo e interações agonísticas com outras espécies mostram-se similares aos já relatados para o golfinho rotador do Hawaii (SILVA-JR, 2005).

Quanto à estrutura de grupo, Farro (2006) verificou que 70% dos tecidos coletados eram provenientes de machos, e possivelmente os grupos de golfinho rotador da região que acompanham as embarcações para coleta são machos adultos e jovens que mantêm as fêmeas e os filhotes mais afastados (SILVA-JR, 1996). Além disso, neste mesmo local há relatos da presença de híbridos entre o golfinho rotador e o pintado pantropical, e entre o rotador e o clymene, possivelmente de grupos não residentes (SILVA *et al.*, 2005).

A distribuição do golfinho rotador no litoral brasileiro está diretamente relacionada à Corrente do Brasil, já que habita águas oceânicas de todo o litoral. Nas regiões Sudeste e Sul, seu deslocamento na direção sul ocorre nas estações mais quentes, e a região de confluência entre essa corrente com a Corrente das

Malvinas é tida como o limite de distribuição no Brasil para algumas espécies do gênero, inclusive para o golfinho rotador. A variação sazonal de ocorrência nessa porção subtropical sugere que sua distribuição na zona tropical também pode variar. No verão, quando a Corrente do Brasil atinge o máximo de sua extensão, estas espécies provavelmente ampliam sua distribuição para a porção mais ao sul. Em contrapartida, no inverno, eles se movem para o norte para evitar as águas frias da Corrente das Malvinas (SECCHI & SICILIANO, 1995; MORENO *et al.*, 2005). A região Sudeste do Brasil é o local onde se concentra o maior número de espécies do gênero *Stenella*, em que há grande sobreposição na distribuição de *S. attenuata*, *S. clymene* e *S. longirostris*.

6. GENÉTICA MOLECULAR DE *STENELLA LONGIROSTRIS*:

O estudo da diversidade biológica nunca foi tão importante quanto atualmente, pois qualquer ação ligada à conservação ou ao uso sustentável exige o mínimo de conhecimento de ecologia e sistemática de organismos e ecossistemas (SANTOS *et al.*, 2004). Assim, uma importante estratégia para conservação da biodiversidade é pesquisar, difundir metodologias, promover o manejo de recursos naturais e sua inserção no mercado, bem como desenvolver a biotecnologia e o acesso aos recursos genéticos de forma equitativa e adequada com os princípios da sustentabilidade (LINO & BECHARA, 2002).

A utilização de métodos moleculares em estudos de diversidade genética tem auxiliado os programas de conservação, não somente indicando quais espécies merecem maiores esforços de preservação, mas também contribuindo no delineamento da viabilidade de populações naturais (JOHNSON *et al.*, 2001).

Estudos genéticos básicos e comparativos são necessários para se conhecer, entre outras questões, a estrutura populacional das espécies e os efeitos que estas populações vêm sofrendo. A filogeografia não aborda somente a diversidade genética dentro e entre áreas geográficas, como também a magnitude da divergência filogenética e a estrutura geográfica da distribuição de clados, auxiliando no esclarecimento de como os táxons vêm respondendo temporal e espacialmente às mudanças na paisagem ao longo da história (MORITZ & FAITH, 1998).

A filogeografia é a área de estudo que visa compreender os princípios e os processos que influenciam a distribuição geográfica das linhagens, principalmente

dentro e entre espécies proximamente relacionadas. Através de estudos filogeográficos é possível compreender aspectos históricos da distribuição espacial atual de linhagens de genes a partir de análises da informação contida no DNA. Assim, estudos filogeográficos visam interpretar a extensão e o modo como os processos demográficos históricos ocorreram a partir da análise das marcas evolutivas deixadas no DNA e a distribuição geográfica atual de caracteres geneticamente basais. Com a filogeografia é possível avaliar se a distribuição e estruturação genética de determinada espécie pode corresponder tanto a processos vicariantes como de dispersão, a partir das diferenças temporais e espaciais. Para tais interpretações, é necessário analisar e conhecer a demografia, etologia, filogenia, paleontologia, geologia e geografia histórica, como forma estabelecer padrões a distribuição do organismo estudado (AVISE, 2000).

Uma das aplicações mais amplas nos estudos filogeográficos têm sido o de poder determinar o grau de diferenciação provável das espécies ao longo de sua área de distribuição, assim como decifrar quais são os processos que determinaram e determinam tal distribuição. O padrão filogeográfico mais conspícuo é aquele em que há uma evidente subdivisão genealógica entre populações ou grupos populacionais (haplogrupos) e uma acentuada estruturação espacial (alopátrica) (AVISE, 2000).

Os marcadores moleculares são uma ferramenta necessária em várias áreas de conhecimento, como filogeografia, evolução, ecologia, biomedicina, ciência forense, estudos de diversidade, dentre outros. Para tal, existem várias técnicas que se distinguem por sua capacidade de detectar polimorfismos em loci únicos ou múltiplos, e podem ser dos tipos dominante ou codominante (SIMPSON, 1997).

Para estudos de filogeografia, os marcadores mitocondriais são mais comuns e amplamente utilizados devido a algumas propriedades de seu DNA nas células animais: é de herança materna (simples modo de transmissão), dificilmente sofre recombinação, apresenta rápida evolução nucleotídica (cinco a dez vezes maior que o DNA nuclear) e alto polimorfismo intraespecífico (AVISE *et al.*, 1987, 2000 e 2009), o que permite análises populacionais a partir de estruturação espacial da diversidade genética.

As alterações na sequência do DNA mitocondrial em animais podem ser geradas a partir de rearranjos da sequência, adições, exclusões e substituições de nucleotídeos, sendo mais frequentes as substituições. A taxa de substituição da

região controle do DNA mitocondrial (D-loop) dos cetáceos é menor do que da espécie humana, mas mostra-se semelhante às taxas de primatas e roedores. Por outro lado, deleções e inserções são menos comuns na região controle dos cetáceos (HOELZEL *et al.*, 1991).

Com relação a estudos envolvendo a genética molecular de *S. longirostris*, Farro (2006) e Faria (2010) relataram baixos níveis de diversidade genética da espécie nos indivíduos do arquipélago de Fernando de Noronha, no Atlântico Sudoeste. Faria (2010) analisou a região controle (D-loop) de 108 indivíduos, e encontrou baixos níveis de diversidade nucleotídica e haplotípica, além da alta frequência de dois haplótipos, sendo um presente em 74% dos indivíduos amostrados e o outro em 14%, com diferenciação genética de 93% entre eles. Farro (2006) observou baixa heterozigosidade média entre os indivíduos analisados, em que atribuiu à endogamia como o principal fator para a baixa diversidade genética dessa população, onde 74% dos acasalamentos são realizados entre indivíduos aparentados, mesmo em uma população relativamente grande (média de 500 indivíduos avistados por dia no ano do estudo). A baixa variabilidade genética pode ser uma ameaça às populações, já que isso representa uma maior limitação para determinadas espécies em responder às diversas ameaças, tanto a longo quanto em curto prazo, interferindo assim drasticamente na demografia dessas populações (PICHLER & BAKER, 2000; OREMUS, 2008).

Oremus e colaboradores (2007), em análises com microssatélites e marcadores mitocondriais de golfinhos rotadores encontraram altos índices de diferenciação genética entre as populações distribuídas em comunidades pequenas e distintas de ilhas geograficamente próximas na Polinésia Francesa, atribuída a fidelidade de habitat dos indivíduos, principalmente das fêmeas. Porém, não estão completamente isoladas devido à dispersão dos machos, como já relatado em outras espécies de cetáceos (ESCORZA-TREVIÑO & DIZON, 2000; MOLLER & BEHEREGARAY, 2004). Assim, é possível encontrar altos níveis de diferenciação genética entre as populações de golfinhos rotadores em áreas geograficamente próximas (OREMUS *et al.*, 2007), como também relatado por Faria (2010) com grupos brasileiros.

Para os golfinhos rotadores do arquipélago do Hawaii, verificou-se um evidente isolamento genético na ilha do Hawaii (costa de Kona) em relação ao restante do arquipélago, fato também atribuído a fidelidade de sítios, mas nesse

caso os pesquisadores acreditam que essa fidelidade ocorre devido a presença de muitas áreas disponíveis de descanso e alimentação na costa de Kona, que torna a dispersão menos frequente e consequentemente baixos níveis de fluxo gênico com as outras ilhas adjacentes. Em contrapartida, as populações associadas a ilhas menores, como apresentaram menor quantidade de recursos disponíveis, revelaram níveis mais elevados de fluxo gênico como resultado de pressões competitivas. Neste caso, a população associada à ilha maior (Costa de Kona) apresentou baixos índices de dispersão e alta diversidade genética, grande diferenciação genética em relação às outras ilhas adjacentes menores, e alta fidelidade de habitat. As populações associadas a ilhas menores apresentaram elevados níveis de fluxo gênico em resposta as pressões competitivas, já que essas ilhas possuem menos recursos. Essa inferência só foi possível porque não foi encontrada dispersão por sexo nessas ilhas, e tais dados foram confirmados tanto a partir de foto-identificação quanto nas análises genéticas. Assim, o fluxo gênico entre populações não insulares pode ser mais frequente que em populações associadas a ilhas, devido à maior fidelidade de sítio das populações insulares com riqueza de recursos e muitas áreas de descanso disponíveis (ANDREWS *et al.*, 2010).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANDREWS, K. R.; KARCZMARSKI, L.; AU, W. W. L.; RICKARDS, S. H.; VANDERLIP, C. A.; BOWEN, B. W.; GRAU, E. G.; ROBERT, J. T. Rolling stones and stable homes: social structure, habitat diversity and population genetics of the Hawaiian spinner dolphin (*Stenella longirostris*). **Molecular Ecology**, v. 19, p. 732-748, 2010.

ARNASON, U.; GULBERG, A.; JANKE, A. Mitogenomic analyses provide new insights into cetacean origin and evolution. **Gene**, v. 333, p. 27-34, 2004.

AU, D. W. K.; PERRYMAN, W. L. Dolphin habitats in the eastern tropical. **Pacific Fishery Bulletin**, v. 83, p. 623-443, 1985.

AVISE, J. C.; ARNOLD J.; BALL, M. R.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, v. 18, p. 489-522, 1987.

AVISE, J. C. **Phylogeography: the history and formation of species**. London: Harvard University Press. 2000. 447p.

AVISE, J. C. Phylogeography: retrospect and prospect. **Journal of Biogeography**, v. 36, p. 3-15, 2009.

BAJPAI, S.; THEWISSEN, J. G. M.; SAHNI, A. The origin and early evolution of whales: macroevolution documented on the Indian Subcontinent. **J. Biosci.**, v. 34, n. 5, p. 1-13, 2009.

BALLANCE, L. T.; PITMAN, R. L.; FIEDLER, P. C. Oceanographic influences on seabirds and cetaceans of the eastern tropical Pacific: A review. **Progress in Oceanography**, v. 69, p. 360-390, 2006.

BENOIT-BIRD, K. J.; AU, W. W. L. Prey dynamics affect foraging by a pelagic predator (*Stenella longirostris*) over a range of spatial and temporal scales. **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v. 53, p. 364-373, 2003.

BONESI, L.; CHANIN, P.; MACDONALD, D. W. Competition between Eurasian otter *Lutra lutra* and American mink *Mustela vison* probed by niche shift. **Oikos**, v. 106, p. 19-26, 2004.

BOTTA, S.; HOHN A. A.; MACKO, S. A.; SECCHI, E. R. Isotopic variation in delphinids from the subtropical western South Atlantic. **J. Marine Biological Assoc. United Kingdom**, p. 1-10, 2011.

CANÃDAS, A.; SAGARMINAGA, R.; GARCIA-TISCAR, S. Cetacean distribution related with depth and slope in the Mediterranean waters off southern Spain. **Deep-Sea Research I**, v. 49, p. 2053-2073, 2002.

CHIARELLO, A. G.; AGUIAR, L. M. S.; CERQUEIRA, R.; MELO, F. R.; RODRIGUES, F. H. G.; SILVA, V. M. F. Mamíferos. In: **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds), Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2008. v. 2, p. 681-882.

CIPRIANO, F. Antitropical distributions and speciation in dolphins of the genus *Lagenorhynchus*: a preliminary analysis. **Soc. Mar. Mamm.** (Spec. Publ.), v. 3, p. 305-316, 1997.

COOPER, L. N. 2009. 196 f. **Evolution and development of cetacean appendages**. Kent State University (Doctor of Philosophy), 2009.

COX, C. B. & MOORE, P. D. **Biogeografia**: uma abordagem ecológica e evolucionária. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

DAVIES, J. L. The antitropical factor in cetacean speciation. **Evolution**, v. 17, p. 107-116, 1963.

DIZON, A. E.; PERRIN, W. F.; AKIN, P. A. Stocks of Dolphins (*Stenella* spp. and *Delphinus delphis*) in the Eastern Tropical Pacific: A Phylogeographic Classification. NOAA Technical Report NMFS 119, **Fishery Bulletin**, p. 1-20, 1994.

DOLAR, M. L. L.; WALKER, W. A.; KOOYMAN, G. L.; PERRIN, W. F. Comparative feeding ecology of spinner dolphins (*Stenella longirostris*) and Fraser's dolphins (*Lagenodelphis hosei*) in the sulu sea. **Marine Mammal Science**, v. 19, n. 1, p. 1-19, 2003.

ESCORZA-TREVINO, S.; DIZON, A. E. Phylogeography, intraspecific structure and sex-biased dispersal of Dall's porpoise, *Phocoenoides dalli*, revealed by mitochondrial and microsatellite DNA analyses. **Mol. Ecol.**, v. 9, p. 1049-1060, 2000.

FAHLKE, J. M.; GINGERICH, P. D.; WELSH, R. C.; WOOD, A. R. Cranial asymmetry in Eocene archaeocete whales and the evolution of directional hearing in water. **PNAS**, v. 108, n. 35, p. 14545-14548, 2011.

FARIA, D. M. **Diversidade e estruturação genética de golfinhos-rotadores (*Stenella longirostris*) baseada em uma região do DNA mitocondrial**. 2010. 69 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2010.

FARRO, A. P. C. **Variabilidade genética de golfinhos rotadores (*Stenella longirostris*) a partir de marcadores microssatélites**. 2006. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

FISH, F. E.; NICASTRO, A. J.; WEIHS, D. Dynamics of the aerial maneuvers of spinner dolphins. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 590-598, 2006.

FORDYCE, R. E. Problematic Early Oligocene toothed whale (Cetacea, Mysticeti) from Waikari, North Canterbury, New Zealand. **N. Z. J. Geol. Geophys.**, v. 32, n. 3, p. 385-90, 1989.

FORDYCE, R. E.; MUIZON, C. Evolutionary history of whales: A review. In: MAZIN, J. M.; BUFFRENIL, V. (Eds). **Secondary Adaptation of Tetrapods to Life in Water**. Munchen: Verlag Dr Friedrieck Pfeil, 2001. p. 169-234.

GALVER, L. M. **The molecular ecology of spinner dolphins, *Stenella longirostris*: genetic diversity and population structure**. 2002. 211 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Marine Biology), University of California, San Diego, 2002.

GATESY, J. More DNA Support for a Cetacea/Hippopotamidae Clade: The Blood-Clotting Protein Gene γ -Fibrinogen. **Mol. Biol. Evol.**, v. 14, n. 5, p. 537-543, 1997.

GRAUR, D.; HIGGINS, D. G. Molecular Evidence for the Inclusion of Cetaceans within the Order Artiodactyla. **Mol. Biol. Evol.**, v. 11, n. 3, p. 357-364, 1994.

HAMMOND, PS, BEARZI, G., BJØRGE, A., FORNEY, K., KARCZMARSKI, L., KASUYA, T., PERRIN, WF, SCOTT, MD, WANG, JY, WELLS, RS & WILSON, B. 2008 . *Stenella longirostris*. In: IUCN 2010. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2010.1. Available in <www.iucnredlist.org >. Downloaded on 08 June 2010.

HIDLEY, M. **Evolução**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 752p.

HOELZEL, A. R.; HANCOCK, J. M.; DOVER, G. A. Evolution of the cetacean mitochondrial D-loop region. **Molecular Biology and Evolution**, v. 8, p. 475-493, 1991.

HOELZEL, A. R. Genetic Structure of Cetacean Populations in Sympatry, Parapatry and Mixed Assemblages: Implications for Conservation Policy. **The American Genetic Association**, v. 89, p. 451-458, 1998.

JEFFERSON, A.; CURRY, B. E. *Stenella clymene*. **Mammalian Species**, n. 726, p. 1-5, 2003.

JEFFERSON, T. A.; WEBBER, M. W.; PITMAN, R. L. **Marine mammals of the world: a comprehensive guide to their identification**. San Diego: Academic Press, 2007. 572p.

JOHNSON, W. E.; EIZIRICK, E.; ROELKE-PARKER, M.; O'BRIEN, S. J. Applications of genetic concepts and molecular methods to carnivore conservation. In: GITTLEMAN, J. L.; FUNK, S. M.; MACDONALD, D.; WAYNE, R. K. (Eds). **Carnivore conservation**. Cambridge: Cambridge, Univ. Press, The Zoological Society of London, 2001. 692p.

KINGSTON, S. E.; ADAMS, L. D., ROSEL, P. E. Testing mitochondrial sequences and anonymous nuclear markers for phylogeny reconstruction in a rapidly radiating group: molecular systematics of the Delphininae (Cetacea: Odontoceti: Delphinidae). **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, n. 245, p. 1-19, 2009.

LEDUC, R. G.; PERRIN, W. F.; DIZON, A. E. Phylogenetic relationships among the Delphinid cetaceans based on full cytochrome b sequences. **Marine Mammal Science**, v. 15, n. 3, 1999. p. 619-648.

LINO, C. F.; BECHARA, E. **Estratégias e instrumentos para conservação, recuperação e desenvolvimento sustentável na Mata Atlântica**. Caderno n. 21. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, Fundação SOS Mata Atlântica, 2002. 44p.

MACLEOD, C. D. Global climate change, range changes and potential implications for the conservation of marine cetaceans: a review and synthesis. **Endang. Species Res.**, v. 7, p. 125-136, 2009.

MARTIN, A. P.; KESSING, B. D.; PALUMBI, S. R. Accuracy of Estimating Genetic Distance between Species from Short Sequences of Mitochondrial DNA. **Mol. Biol. Evol.**, v. 7, n. 5, p. 485-488, 1990.

MCGOWEN, M. R.; SPAULDING, M. & GATESY, J. Divergence date estimation and comprehensive molecular tree of extant cetaceans. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 53, p. 891-906, 2009.

MILINKOVITCH, M. C.; BERUBE, M.; PALSBOELL, P. J. Cetaceans are Highly Derived Artiodactyls. In: THEWISSEN, J. G. M. (Ed). **The Emergence of Whales**. New York: Plenum Press, 1998. cap. 4, p. 113-131.

MOLLER, L. M.; BEHEREGARAY, L. B. Genetic evidence for sex-biased dispersal in resident bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). **Molecular Ecology**, v. 13, p. 1607-1612, 2004.

MORENO, I. B.; ZERBINI, A. N.; DANILEWICZ, D.; SANTOS, M. C. O.; SIMÕES-LOPES, P. C.; LAILSON-BRITO-JR, J.; AZEVEDO, A. F. Distribution and Habitat Characteristics of Dolphins of the Genus *Stenella* (Cetacea: Delphinidae) in the Southwest Atlantic Ocean. **Marine Ecology Progress Series**, v. 300, p. 229-240, 2005.

MORENO, I. B. **Relações filogenéticas entre golfinhos da família Delphinidae (Mammalia: Cetacea)**. Porto Alegre. 2008. 88 f. Tese (doutorado em Zoologia), Pontífica Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MORITZ, Z.; FAITH, D.P. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 419-429, 1998.

MUIZON, C. Évolution: L'origine et l'histoire évolutive des Cétacés. **C. R. Palevol.**, v. 8, p. 295-309, 2009.

NARDY, O. **Macroecologia de cetáceos marinhos (Ordem Cetacea)**. 2003. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2000.

NORRIS, K. S.; DOHL, T. P. Behavior of the Hawaiian Spinner Dolphin *Stenella longirostris*. **Fishery Bulletin**, v. 77, p. 821-849, 1980.

NORRIS, K. S.; SCHILT, C. R. Cooperative Societies in Three-Dimensional Space: On the Origins of Aggregations, Flocks, and Schools, with Special Reference to Dolphins and Fish. **Ethology and Sociobiology**, v. 9, p. 149-179, 1988.

O'LEARY, M. A.; GEISLER, J. H. The Position of Cetacea within Mammalia: Phylogenetic Analysis of Morphological Data from Extinct and Extant Taxa. **Systematic Biology**, v. 48, n. 3, p. 455-490, 1999.

OREMUS, M.; POOLE, M. M.; STEEL, D.; BAKER, C. S. Isolation and interchange among insular spinner dolphin communities in the South Pacific revealed by individual identification and genetic diversity. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 336, p. 275–289, 2007.

OREMUS, M. **Genetic and demographic investigation of population structure and social system in four delphinid species**. 2008. 285 f. Thesis (Doctor in Philosophy in Biological Sciences), The University of Auckland, Auckland, 2008.

PALAZZO-JR, J. T.; BOTH, M. C. **Guia dos mamíferos marinhos do Brasil**. Porto Alegre: SAGRA, 1988. 158p.

PERRIN, W. F. Color patterns of spinner porpoises (*Stenella* CF. *S. longirostris*) of the Eastern Pacific and Hawaii, with comments on delphinid pigmentation. **Fishery Bulletin**, v. 70, n. 3, p. 983-1003, 1972.

PERRIN, W. F.; MITCHELL, E. D.; MEAD, J. G.; CALDWELL, D. K.; VAN-BREE, J. H. *Stenella clymene*, a rediscovered tropical dolphin of the Atlantic. **J. Mamm.**, v. 62, n. 3, p. 583-598, 1981.

PERRIN, W. F. A dwarf form of the spinner dolphin (*Stenella longirostris*) from Thailand. **Marine Mammal Science**, v. 5, n. 3, p. 213-227, 1989.

PERRIN, W. F. Subspecies of *Stenella longirostris* (Mammalia: Cetacea: Delphinidae). **Proc. Biol. Soc. Wash.**, v. 103, p. 453-463, 1990.

PERRIN, W. F.; AKIN, P. A.; KASHIWADA, J. V. Geographic variation in external morphology of the spinner dolphin *Stenella longirostris* in the Eastern Pacific and implications for conservation. **Fishery Bulletin**, v. 89, n. 3, p. 411-428, 1991.

PERRIN, W. F.; GILPATRICK-JR, J. W. Spinner dolphin *Stenella longirostris* (Gray, 1828). In: RIGWAY S. H.; HARRISON, S. (Orgs.). **Handbook of Marine Mammals: the first book of dolphins**. London: Academic Press, 1994. p.99-128.

PERRIN, W. F. *Stenella longirostris*. **Mammalian Species**, n. 599, p. 1-7, 1998.

PERRIN, W. F. Spinner dolphin, *Stenella longirostris*. In: **Encyclopedia of Marine Mammals**. PERRIN, W. F.; WURSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. (Eds). New York: Academic Press, 2002. p. 1174-1178.

PERRIN, W. F.; AQUINO, M. T.; DOLAR, M. L. L.; ALAVA, M. N. R.; *et al.* External appearance of the dwarf spinner dolphin *Stenella longirostris roseiventris*. **Marine Mammal Science**, v. 23, n. 2, p. 464–467, 2007.

PICHLER, F. B.; BAKER, C. S. Loss of genetic diversity in the endemic Hector's dolphin due to fisheries-related mortality. **Proc. Roy. Soc.**, v. 267, p. 97-102, 2000.

SANTOS, F. R.; LACERDA, D. R.; REDONDO, R. A. F. Tecnologias genômicas na conservação da biodiversidade. **Biosci. J.**, p. 79-92, 2004.

SECCHI, E. E.; SICILIANO, S. Comments on the southern range of the spinner dolphin (*Stenella longirostris*) in the West South Atlantic. **Aquatic Mammals**, v. 21.2, p. 105-108, 1995.

SELZER, L. A.; PAYNE, P. M. The distribution of white-sided (*Lagenorhynchus acutus*) and common dolphins (*Delphinus delphis*) vs. environmental features of the continental shelf of the northeastern United States. **Marine Mammal Science**, v. 4, p. 141-153, 1988.

SILVA-JR., J. M. **Aspectos do Comportamento do Golfinho-rotador, *Stenella longirostris* (Gray, 1828), no Arquipélago de Fernando de Noronha**. 1996. 131 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1996.

SILVA-JR, J. M.; SILVA, F. J. L.; SAZIMA, I. Two presumed interspecific hybrids in the genus *Stenella* (Delphinidae) in the Tropical West Atlantic. **Aquatic Mammals**, v. 31, n. 4, p. 468-472, 2005.

SILVA, F. J. L.; SILVA-JR, J. M. Circadian and seasonal rhythms in the behavior of spinner dolphins (*Stenella longirostris*). **Marine Mammal Science**, v. 25, n. 1, p. 176-186, 2009.

SILVA-JR, J. M.; BARRETO, A. S. Golfinho-rotador. In: **Plano de Ação Nacional Para a Conservação dos Mamíferos Aquáticos - Pequenos Cetáceos**. ROCHA-CAMPOS, C. C.; CÂMARA, I. G.; PRETTO, D. J. (Orgs.). Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). 2011. p. 30-32.

SIMPSON, J. Amplified fragment length polymorphisms. **Bol. Soc. Bot. Mex.**, v. 60, p. 73-76, 1997.

STEEMAN, M. E.; HEBSGAARD, M. B.; FORDYCE, R. E.; HO, S. Y. W.; RABOSKY, D. L.; *et al.* Radiation of Extant Cetaceans Driven by Restructuring of the Oceans. **Systematic Biology**, v. 58, p. 1-13, 2009.

THEWISSEN, J. G. M.; COOPER, L. N.; CLEMENTZ, M T.; BAJPAI, S.; TIWARI, B. N. Whales originated from aquatic artiodactyls in the Eocene epoch of India. **Nature Publishing Group**, v. 450, 20/27, p. 1190-1195, 2007.

VIRICEL, A.; ROSEL, P. E.. Evaluating the utility of *cox1* for cetacean species identification. **Marine Mammal Science**, v. 28, n. 1, p. 37-62, 2012.

XIONG, Y.; BRANDLEY, M. C.; XU, S.; ZHOU, K.; YANG, G. Seven new dolphin mitochondrial genomes and a time-calibrated phylogeny of whales. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, n. 20, p. 1-13, 2009.

ZERBINI, A. N.; SECCHI, E. R.; BASSOI, M.; DALLA ROSA, L.; HIGA, A.; SOUSA, L.; MORENO, I. B.; MOLLER, L. M.; CAON, G. **Distribuição e abundância relativa de cetáceos na zona econômica exclusiva da região Sudeste-Sul do Brasil**. Série Documentos REVIZEE-ScoreSul, São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 2004. 40p.

OBSERVAÇÃO: As referências bibliográficas foram formatadas de acordo com a norma técnica NBR-6023:2002 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

CAPÍTULO 2

FILOGEOGRAFIA DE GOLFINHOS ROTADORES DO LITORAL BRASILEIRO BASEADA EM MARCADORES MITOCONDRIAIS

1. INTRODUÇÃO:

Stenella longirostris é um cetáceo marinho de pequeno porte, também conhecido como golfinho rotador pantropical por realizar acrobacias aéreas (FISH *et al.*, 2006) e por apresentar ampla distribuição, podendo ser encontrado em todos os oceanos, principalmente em locais que apresentem áreas profundas e rasas próximas, como arquipélagos e atóis (PERRIN & GILPATRICK-JR, 1994). Seu habitat preferencial pode estar relacionado às variáveis ambientais que influenciam a segregação de suas presas (CAÑADAS *et al.*, 2002; BALLANCE *et al.*, 2006), e que pode determinar o tamanho de sua área de vida (CREMER, 2007).

Em organismos com alta mobilidade, como mamíferos marinhos ou voadores, as estruturações entre as populações podem ser resultado de restrições de dispersão ou por conformação do grupo social (ENGUIARTE, 2007). No caso de mamíferos marinhos, análises de microsatélites e de DNA mitocondrial de *Phocoenoides dalli* mostraram dispersão mais frequente de machos em relação às fêmeas, o que pode ser atribuído a fidelidade de sítios das fêmeas (ESCORZA-TREVIÑO & DIZON, 2000), assim como visto em *Tursiops aduncus*, que verificaram maior filopatria entre as fêmeas nas populações costeiras do sudoeste da Austrália (MOLLER & BEHEREGARAY, 2004). A dispersão de machos aumenta as taxas de fluxo gênico entre as populações e diminui as pressões de endogamia e competição entre elas (ESCORZA-TREVIÑO & DIZON, 2000).

Na Polinésia Francesa verificou-se que os golfinhos rotadores se distribuem em comunidades pequenas e distintas em ilhas que não estão geograficamente isoladas, embora haja fidelidade de habitat dos indivíduos, principalmente das fêmeas. Porém, a presença de fluxo gênico, ainda que restrita, seria consequência da dispersão dos machos (OREMUS *et al.*, 2007). Para os golfinhos rotadores do arquipélago do Hawaii, Andrews e colaboradores (2010) verificaram um evidente isolamento genético entre golfinhos da ilha do Hawaii (costa de Kona) com os do restante do arquipélago, fato também causado pela fidelidade de sítios, que nesse caso foi atribuída a presença de muitas áreas de descanso e alimentação em Kona,

que torna a dispersão menos frequente e consequentemente baixos níveis de fluxo gênico com as outras ilhas adjacentes. Em contrapartida, as populações associadas a ilhas menores, como apresentaram menor quantidade de recursos disponíveis, revelaram níveis mais elevados de fluxo gênico como resultado de pressões competitivas (ANDREWS *et al.*, 2010).

No arquipélago de Fernando de Noronha estudos genéticos, como o de Farro (2006) e Faria (2010), relataram uma taxa relativamente baixa na diversidade genética dos indivíduos deste local, sendo baixos os índices de diversidade nuclear (microssatélites) e nucleotídica (região D-loop). No entanto, pouco se sabe a respeito da genética desta espécie em outras localidades do litoral brasileiro.

Estudos filogeográficos visam interpretar a extensão e o modo como os processos demográficos históricos ocorreram, a partir da análise das marcas evolutivas deixadas no DNA e a distribuição geográfica atual de caracteres geneticamente basais. Para tais estudos, os marcadores mitocondriais são mais comuns e amplamente utilizados devido a algumas propriedades de seu DNA nas células animais: é de herança maternal (modo simples de transmissão), dificilmente sofre recombinação e apresenta rápida evolução nucleotídica (cinco a dez vezes maior que o DNA nuclear). Além disso, tais marcadores permitem a comparação segura de regiões homólogas entre grande parte dos organismos (AVISE *et al.*, 1987). Além disso, com eles é possível determinar o tempo de divergência entre as linhagens através do relógio molecular (KIMURA, 1968).

Estudos sobre a diversidade genética de *S. longirostris* a partir de sua distribuição geográfica são considerados importantes para que se possa elucidar como o fluxo gênico ocorre entre as populações, visto que a estruturação social e genética de golfinhos rotadores pode variar de acordo com o local (ANDREWS *et al.*, 2010).

2. OBJETIVO GERAL:

Diante do exposto, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar a diversidade genética e estrutura populacional de *Stenella longirostris longirostris* de diferentes regiões do litoral brasileiro, além de correlacionar esta diversidade com o padrão de distribuição geográfica da espécie.

2.1. Objetivos específicos:

- ❖ Objetivo 1: Determinar os haplótipos de diferentes indivíduos da espécie a partir de marcadores mitocondriais;
- ❖ Objetivo 2: Relacionar os haplótipos encontrados nas diferentes localidades do litoral brasileiro e verificar se existe estruturação genética entre os grupos de indivíduos amostrados;
- ❖ Objetivo 3: Relacionar as sequências mitocondriais encontradas para os golfinhos rotadores do litoral brasileiro com o de outros oceanos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS:

3.1. Coleta e armazenamento das amostras

Neste estudo foram utilizadas amostras de pele provenientes de coletas de raspagem ou de balestra, além de músculo, fígado e coração, coletados de animais encalhados. Estas amostras foram provenientes de oito localidades do litoral brasileiro, totalizando 82 indivíduos amostrados (Tabela 1).

Tabela 1. Número de amostras coletadas, localidades, tipo de material e método de coleta:

Localidade	Material	Coleta	Quantidade
Ceará (CE)	Coração	Encalhe	01
Rio Grande do Norte (RN)	NI	Encalhe	01
Pernambuco (PE)	Fígado	Encalhe	02
Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem	22
Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe	08
Fernando de Noronha/PE	Músculo	Encalhe	04
Fernando de Noronha/PE	Fígado	Encalhe	06
Espírito Santo (ES)	Músculo	Encalhe	02
Rio de Janeiro (RJ)	Músculo	Balestra	01
Rio de Janeiro (RJ)	Pele	Balestra	04
Bacia de Campos/RJ	Pele	Balestra	21
São Paulo (SP)	Pele	Balestra	01
Paraná (PR)	Pele	Balestra	05
Santa Catarina (SC)	Pele	Balestra	04
TOTAL			82

Legenda: NI: Não Identificado.

As 22 amostras de pele de golfinhos rotadores provenientes do arquipélago de Fernando de Noronha/PE foram obtidas a partir de animais *in vivo* por raspagem de pele. A realização desse procedimento só é possível devido ao comportamento de aproximação e acompanhamento às embarcações realizado pela espécie. Para

tal, foi utilizado um método pouco invasivo, no qual foram utilizadas esponjas de fibra sintética moderadamente abrasivas com tamanho de 4cm X 4cm, fixadas em um mastro de madeira de 130cm de comprimento (FARRO *et al.*, 2008). As coletas foram realizadas nos anos de 2004, 2006 e 2009 por Ana Paula Cazerta Farro em parceria com o Centro de Mamíferos Aquáticos/ICMBio e Projeto Golfinho Rotador, com apoio e colaboração logística da Petrobrás Ambiental. Além das amostras de pele, foram utilizadas 18 amostras de fígado ou músculo de golfinhos da espécie mortos encalhados em Fernando de Noronha. Este material foi cedido pelo Centro Golfinho Rotador.

Seis amostras de animais encontrados mortos em encalhes de outras localidades também foram incluídas nas análises, sendo uma amostra do Ceará (coração), uma do Rio Grande do Norte (Não Identificado), duas de Pernambuco (fígado) cedidas pelo Programa de Mamíferos Marinhos da Aquasis e duas amostras do Espírito Santo (músculo) cedidas pela Organização Consciência Ambiental (Instituto Orca).

As amostras do Rio de Janeiro, de São Paulo, Paraná e Santa Catarina foram coletadas a partir do método que utiliza uma balestra para adquirir pequena parte de pele, gordura ou músculo do animal (biópsia). Para estas localidades foram obtidas 36 amostras. Destas, 26 correspondem à pele e músculo coletados em um cruzeiro realizado pelo Projeto Cenpes/Petrobrás na Bacia de Campos. As cinco restantes do Rio de Janeiro correspondem a cruzeiros realizados pelo Instituto Aqualie e Universidade Federal do Rio Grande/FURG, com apoio logístico da Chevron Brasil Upstream Frade Ltda e BG Group. Nestes cruzeiros ainda foram obtidas amostras em águas no estado de São Paulo (pele), cinco do Paraná (pele) e quatro de Santa Catarina (pele) (Tabela 1).

Em suma, as localidades amostradas foram Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Fernando de Noronha, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina, fazendo referência à jurisdição a qual pertence à referida área marinha (Figura 3).

A relação das amostras e suas respectivas localidades, bem como o material disponível e a metodologia de coleta utilizada para cada amostra estão disponíveis no Anexo 1. Já as coordenadas geográficas das amostras podem ser visualizadas no Anexo 2.

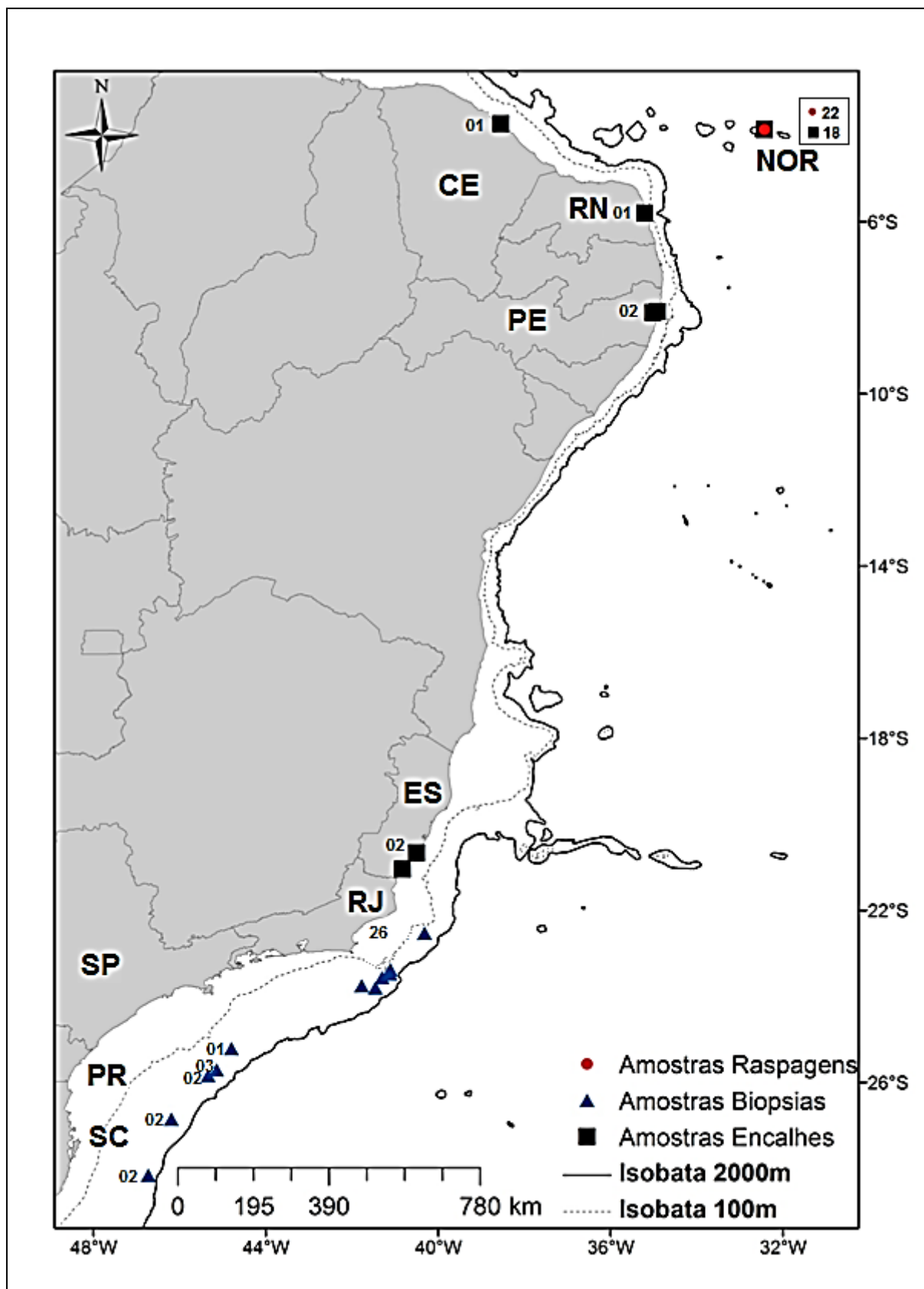


Figura 3. Regiões do litoral brasileiro onde foram obtidas amostras de *Stenella longirostris*. É possível verificar o tipo de coleta em cada região (raspagem, biópsia por balestra ou de encalhes). *Legenda:*

CE: Ceará. RN: Rio Grande do Norte. PE: Pernambuco. NOR: arquipélago de Fernando de Noronha. ES: Espírito Santo. RJ: Rio de Janeiro. SP: São Paulo. PR: Paraná. SC: Santa Catarina.

As licenças para coleta, transporte e manipulação do material biológico foram solicitadas ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (SISBIO/ICMBio).

Após a obtenção das amostras, estas foram acondicionadas em álcool 70% e estocadas a -5°C.

Os procedimentos laboratoriais e análises foram desenvolvidos no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade (NGACB) do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) em Vitória/ES.

3.2. *Extração e quantificação de DNA*

As amostras de pele foram extraídas com a resina Chelex a 5% (SIGMA), seguindo as etapas de acordo com o Anexo 3. As amostras de vísceras e músculos foram extraídas seguindo o protocolo de extração com solução salina (BRUFORD *et al.*, 1992, adaptado por David Vieites) (Anexo 4).

As amostras de DNA extraídas foram quantificadas em espectrofotômetro (NanoDrop ND-2000, Uniscience) a fim de verificar a quantidade, em nanogramas (ng), de DNA presente em 1µL da solução resultante da extração.

3.3. *PCR com primers mitocondriais*

❖ Região controle (*D-loop*):

Para amplificação da região controle, também conhecida como D-loop, foram utilizados os primers KRA_{DLp} e DL_{p5} (PICHLER *et al.*, 2001 adaptado por ANDREWS *et al.*, 2006; Anexo 5). Esta reação apresentou um volume final de 12,5µL, contendo: 1µL de DNA (10-100ng/µL), 1,25µL de Tampão 10X, 0,5µL de MgCl₂ a concentração de 1,5mM, 0,25µL de dNTP a concentração de 10mM, 0,15µL de Taq DNA polimerase (0,38u/12,5µL de solução), 0,15µL de cada primer a concentração de 10µM cada, e 9,05µL de água MiliQ autoclavada. A amplificação apresentou as seguintes condições: 94°C por 1 min., 40 ciclos (94°C por 30s; 54°C por 30s; 72°C por 30s) e 72°C por 15 minutos.

❖ Citocromo c oxidase subunidade I (COI):

Para amplificar a região citocromo c oxidase I foram utilizados os primers COX1F e COX1R (AMARAL *et al.*, 2007; Anexo 6). A reação apresentou um volume final de 12,5µL, contendo: 1µL de DNA (10-100ng), 1,25µL de Tampão 10X, 0,38µL de MgCl₂ a concentração de 1,5mM, 0,2µL de dNTP a concentração de 10mM, 0,2µL de Taq DNA polimerase (0,02u/12,5µL de solução), 0,38µL de cada primer a concentração de 10µM cada, e 8,71µL água MiliQ autoclavada. A amplificação foi realizada a partir das seguintes condições: 94°C por 2 min., 35 ciclos (94°C por 45s; 52°C por 45s; 72°C por 1min) e 72°C por 8 minutos.

A eletroforese para visualização da amplificação do DNA para D-loop e COI foi realizada em gel de agarose 1% corado com Gel Red.

3.4. Purificação e sequenciamento

Todos os fragmentos amplificados com os diferentes primers foram purificados e sequenciados. A purificação foi realizada com a adição de 1µL de Exosap para cada 10µL de produto PCR a uma temperatura 37°C por 30 min e 50°C por 15 min. no termociclador. Em seguida, foram realizadas reações de sequenciamento *forward* e/ou *reverse* com os produtos amplificados já purificados. Para a reação de sequenciamento foi utilizado 5,06µL de água ultrapura, 2,5µL de Buffer e 0,8µL de Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit, e 0,64µL de primer (*forward* ou *reverse*) a concentração de 5µM, e 1µL de produto purificado. Posteriormente, as amostras foram colocadas no termociclador, sob as seguintes condições: 96°C por 1 min.; 25 ciclos (96°C por 10s, 48°C por 5s e 60°C por 4 minutos). Em seguida, as reações foram precipitadas a partir dos seguintes passos:

- I. Adicionar de 80µL de álcool isopropílico a 75%, e em seguida manter as amostras 25 min. no escuro;
- II. Centrifugar os tubos a 13000rpm por 25 minutos;
- III. Descartar o sobrenadante;
- IV. Adicionar 250µL de álcool etílico a 70%;
- V. Centrifugar os tubos a 13000rpm por 5 minutos;
- VI. Descartar o sobrenadante;
- VII. Secar as amostras no termociclador a 95°C por 3 minutos.

Em seguida, as amostras foram encaminhadas para um sequenciador automático ABI310 (APPLIED BIOSYSTEMS) do NGACB.

3.5. Análises das sequências

Foram utilizadas 22 sequências da região controle do DNA mitocondrial (D-loop) com 414bp obtidas por Faria (2010) no estudo realizado com amostras de Fernando de Noronha/PE. Para diminuir o viés de reamostragem entre essas amostras, foi utilizada uma amostra por haplótipo encontrado por Faria (2010). Porém, dois desses haplótipos apresentaram-se mais frequentes na população, sendo um destes com frequência de 80% entre os 108 indivíduos amostrados e outro haplótipo presente em 13% dos indivíduos amostrados, e por isso estes foram representados por 10 e duas sequências, respectivamente. Assim, o total de amostras utilizadas do estudo de Faria (2010) foi de 22 sequências e 12 haplótipos referentes à região controle (D-loop).

Para obter um fragmento único com as sequências de D-loop e COI, as amostras sequenciadas e alinhadas comum aos dois marcadores (referentes aos mesmos indivíduos) foram concatenadas. Os dados referentes a esse fragmento serão citados no texto como DLP+COI.

Para verificar a estruturação genética entre os golfinhos rotadores insulares do Brasil em relação aos não insulares, foram previamente estabelecidos dois agrupamentos: 1) Grupo Insular (GI), referente a todos os animais amostrados em Fernando de Noronha, e 2) Grupo Não Insular (GNI), composto pelas amostras do restante das localidades, provenientes de golfinhos encalhados ou amostrados com a utilização do método de coleta com balestra.

Em seguida, foi proposto outro agrupamento dos indivíduos do litoral brasileiro: as amostras referentes às localidades do Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco foram denominadas como *Grupo 1* (G1), e apresentaram número de amostras igual a quatro. Já as amostras de Fernando de Noronha foram subdivididas em duas populações, sendo as 38 amostras referentes ao *Grupo 2* (G2) e as outras duas amostras desta localidade denominadas como *Grupo 3* (G3), baseada na estruturação significativa encontrada no estudo de Faria (2010). G1, G2 e G3 correspondem à região Nordeste do Brasil. Já as localidades do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina correspondem ao *Grupo 4* (G4), e está representada por 36 amostras. Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo correspondem à região Sudeste do Brasil, enquanto Paraná e Santa Catarina fazem parte da região Sul (Tabela 2).

Para relacionar os haplótipos encontrados com os já analisados em outros estudos, foram incluídas sequências do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), na qual foi gerada uma rede de haplótipos no programa NETW4610 para cada marcador. Assim, para verificar a relação dos haplótipos de D-loop deste estudo com os já analisados em outras regiões do Atlântico e de outros oceanos (Índico e Pacífico), foram utilizadas 109 amostras do GenBank, sendo 10 do oceano Atlântico, seis do oceano Índico (GALVER, 2002) e 93 do Pacífico (GALVER, 2002; OREMUS *et al.*, 2007; ANDREWS *et al.*, 2010). Para sequências do GenBank, estas foram divididas em três grupos a partir do oceano ao qual provém a sequência: Atlântico Norte (AN), referente a oito sequências do Golfo do México e duas de regiões ao norte deste golfo (GALVER, 2002); Índico (IND), que corresponde a seis amostras das Maldivas (GALVER, 2002); e Pacífico (PAC), com 45 sequências do Hawaii (GALVER, 2002; ANDREWS *et al.*, 2010), 16 das Filipinas, quatro de Taiwan (GALVER, 2002) e 28 da Polinésia Francesa (OREMUS *et al.*, 2007) (Tabela 2).

Tabela 2. Relação das amostras utilizadas nas análises da região mitocondrial D-loop com tamanho final de 373bp:

Localidade	Nº de amostras	Autor	Sigla
<i>Grupo 1</i>	04	Presente estudo	<i>G1</i>
<i>Grupo 2</i>	35	Presente estudo	<i>G2</i>
<i>Grupo 3</i>	02	Presente estudo	<i>G3</i>
<i>Grupo 4</i>	38	Presente estudo	<i>G4</i>
<i>Norte do Golfo do México</i>	02	Galver, 2002	<i>AN</i>
<i>Golfo do México</i>	08	Galver, 2002	<i>AN</i>
<i>Maldivas</i>	06	Galver, 2002	<i>IND</i>
<i>Hawaii</i>	18	Galver, 2002	<i>PAC</i>
<i>Hawaii</i>	27	Andrews <i>et al.</i> , 2010	<i>PAC</i>
<i>Filipinas</i>	16	Galver, 2002	<i>PAC</i>
<i>Taiwan</i>	04	Galver, 2002	<i>PAC</i>
<i>Polinésia Francesa</i>	28	Oremus <i>et al.</i> , 2007	<i>PAC</i>
TOTAL	188		

Legenda: N°: número. AN: oceano Atlântico Norte. IND: oceano Índico. PAC: oceano Pacífico.

Para a relação dos haplótipos de COI encontrados, foram incluídas seis sequências adquiridas no GenBank, sendo uma da Indonésia (Barcode) referente ao

oceano Índico, uma do oceano Pacífico Leste e quatro do Atlântico Norte (uma do Golfo do México e três ao norte deste golfo) (VIRICEL & ROSEL, 2012).

As sequências provenientes do sequenciamento foram alinhadas com o auxílio do programa MEGA 5.0.5. A visualização da rede de haplótipos foi feita a partir do programa network NETW4610, sendo utilizado o cálculo Median Joining.

O programa DnaSPv.5 foi utilizado para elaborar a tabela com os SNPs entre os haplótipos e para gerar os arquivos de entrada do programa Arlequin.

O programa Arlequin v.3.1 foi utilizado para calcular os componentes de variância intra e interpopulacional, incluindo diversidade haplotípica e nucleotídica, testes de neutralidade e estruturação genética entre populações.

Os testes de neutralidade utilizados foram os de Tajima (TAJIMA, 1989), baseado nos valores de D (quando P for menor que 0,05) e de F_u (FU, 1997) baseado nos índices de F_s (quando P for menor que 0,02), gerados através da realização de 10.000 simulações. O teste de Tajima visa identificar possíveis indícios de seleção dentro da população a partir da análise do valor de D , partindo da hipótese nula de neutralidade entre os alelos presentes nos indivíduos que a compõe.

Os índices de fluxo gênico foram baseados nos valores de F_{st} , utilizado para estimar possíveis estruturações populacionais entre pares de grupos previamente estabelecidos. Para tal, foram utilizadas 10.000 randomizações para testar a hipótese nula de que a distribuição de haplótipos observada é aleatória em relação ao local de amostragem. Assim, quando o valor de P for significativo para o referido valor de F_{st} ($P < 0,05$), e se este valor de F_{st} entre dois grupos estiver abaixo de 0,05, corresponde a pouca diferenciação ou a mesma população. Em contrapartida, se o valor de F_{st} estiver acima de 0,05, indica diferenciação significativa entre esses grupos, ou seja, nenhum destes poderá ser agrupado numa mesma população, ou seja, todos corresponderão a populações diferentes.

A Análise de Variância Molecular (AMOVA), baseada nas estimativas de F_{st} , foi utilizada para testar a existência de subestruturação significativa entre as localidades estudadas.

Os diferentes haplótipos gerados serão depositados no GenBank.

4. RESULTADOS:

4.1. Alinhamento das sequências

Um total de 82 indivíduos de *Stenella longirostris* referentes a oito localidades do litoral brasileiro foi estudado. Destes, 79 foram analisados para a região D-loop e 48 para COI (Tabela 3).

Tabela 3. Número de amostras sequenciadas e analisadas por região do DNA mitocondrial da espécie *S. longirostris* no litoral brasileiro:

Populações	Localidade	Quantidade	D-loop	COI	DLP+COI*
G1	Ceará	01	01	01	01
	Rio Grande do Norte	01	01	01	01
	Pernambuco	02	02	01	01
G2	Fernando de Noronha, PE	38	35	22	19
G3	Fernando de Noronha, PE	02	02	01	01
G4	Espírito Santo	02	02	01	01
	Rio de Janeiro	26	26	18	18
	São Paulo	01	01	-	-
	Paraná	05	05	02	02
	Santa Catarina	04	04	01	01
TOTAL		82	79	48	45

*: sequências concatenadas.

Destas, foram geradas 79 sequências da região D-loop, com tamanho final de 414bp (Tabela 3), sendo 37 de Fernando de Noronha (21 destas geradas por Faria, 2010), além de todas as amostras das demais localidades. Todas as 109 amostras provenientes do GenBank foram agrupadas as 79 geradas no presente estudo, alinhadas e cortadas, e o tamanho final gerado foi de 373bp.

Para a região COI, foram geradas 48 sequências com tamanho final de 714bp (Tabela 3). A única localidade não representada por esse marcador foi São Paulo, sendo que nem todas as amostras referentes à Pernambuco, Fernando de Noronha, Espírito Santo e Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina foram incluídas nesta análise, ou por não terem amplificado, ou pela baixa intensidade dos picos do eletroferograma das sequências geradas. Já Fernando de Noronha, apesar de também apresentar número de sequências menor que o disponível, foram sequenciadas três amostras que não amplificaram para D-loop. Todas as seis

amostras disponíveis no GenBank foram agrupadas as 48 geradas neste estudo, alinhadas e cortadas, e o tamanho final das sequências foi de 636bp.

Para o arquivo concatenado DLP+COI foram geradas 45 sequências, com tamanho final de 1128bp. Como há diferença de amostragem nas análises de D-loop e COI separadamente, as informações geradas a partir da análise de DLP+COI podem ser diferentes.

4.2. *Diversidade genética intrapopulacional*

No sequenciamento da região controle do DNA mitocondrial (D-loop) foram encontrados 31 haplótipos (414bp), distribuídos entre quatro populações inicialmente propostas, correspondendo a 79 indivíduos (Tabela 4). Já com o arquivo final, com as 109 amostras do GenBank incluídas, foram gerados 87 haplótipos com 373bp.

Tabela 4. Relação dos 31 haplótipos (H1 a H31) de D-loop com tamanho final de 414bp correspondente a 79 indivíduos e suas respectivas frequências absolutas por grupo. O valor entre parênteses refere-se ao número de indivíduos amostrados em cada um dos quatro grupos brasileiros:

Haplótipos	G1	G2	G3	G4
<i>D-loop</i> (414bp)	(04)	(35)	(02)	(38)
H1	02	-	-	-
H2	01	24	-	-
H3	01	-	-	04
H4	-	01	-	-
H5	-	01	-	-
H6	-	01	-	-
H7	-	01	-	-
H8	-	01	-	-
H9	-	01	-	-
H10	-	01	-	-
H11	-	02	-	-
H12	-	01	-	-
H13	-	01	-	-
H14	-	-	02	-

H15	-	-	-	01
H16	-	-	-	04
H17	-	-	-	02
H18	-	-	-	02
H19	-	-	-	02
H20	-	-	-	03
H21	-	-	-	01
H22	-	-	-	03
H23	-	-	-	01
H24	-	-	-	02
H25	-	-	-	01
H26	-	-	-	01
H27	-	-	-	01
H28	-	-	-	01
H29	-	-	-	01
H30	-	-	-	01
H31	-	-	-	01

Já para COI, foram obtidos 18 haplótipos com 714bp de 48 indivíduos, distribuídos entre oito localidades e quatro grupos (Tabela 5). O arquivo com as seis amostras do GenkBank (além das 48 acima citadas) gerou 17 haplótipos com 636bp.

Tabela 5. Relação dos 18 haplótipos (H32 a H49) de COI com tamanho final de 714bp correspondentes a 48 indivíduos e suas respectivas frequências absolutas por grupo. O valor entre parênteses refere-se ao número de indivíduos amostrados em cada um dos quatro grupos brasileiros. As numerações dos haplótipos seguem a ordem consecutiva de D-loop:

Haplótipos	G1	G2	G3	G4
COI (714bp)	(03)	(22)	(01)	(22)
H32	01	-	-	-
H33	01	20	-	-
H34	01	-	-	-
H35	-	01	-	-
H36	-	01	-	-

H37	-	-	01	-
H38	-	-	-	03
H39	-	-	-	02
H40	-	-	-	04
H41	-	-	-	02
H42	-	-	-	01
H43	-	-	-	02
H44	-	-	-	01
H45	-	-	-	03
H46	-	-	-	01
H47	-	-	-	01
H48	-	-	-	01
H49	-	-	-	01

O arquivo concatenado DLP+COI com 45 sequências com tamanho final de 1128bp gerou 24 haplótipos (Tabela 6).

Tabela 6. Relação dos 24 haplótipos (H50 a H73) de DLP+COI com tamanho de 1128bp correspondentes a 45 indivíduos e suas respectivas frequências absolutas por grupo. O valor entre parênteses refere-se ao número de indivíduos amostrados em cada um dos quatro grupos brasileiros. As numerações dos haplótipos seguem a ordem consecutiva de COI:

Haplótipos	G1	G2	G3	G4
<i>DLP+COI</i> (1128bp)	(03)	(19)	(01)	(22)
H50	01	-	-	-
H51	01	15	-	-
H52	01	-	-	-
H53	-	01	-	-
H54	-	01	-	-
H55	-	01	-	-
H56	-	01	-	-
H57	-	-	01	-
H58	-	-	-	03
H59	-	-	-	01
H60	-	-	-	02

H61	-	-	-	02
H62	-	-	-	01
H63	-	-	-	02
H64	-	-	-	01
H65	-	-	-	01
H66	-	-	-	02
H67	-	-	-	01
H68	-	-	-	01
H69	-	-	-	01
H70	-	-	-	01
H71	-	-	-	01
H72	-	-	-	01
H73	-	-	-	01

Os níveis de variabilidade genética intrapopulacional foram determinados a partir dos valores de diversidade nucleotídica (π) e haplotípica (h) entre os indivíduos amostrados de cada grupo.

Para o marcador mitocondrial D-loop com 414bp, o grupo que apresentou maior valor de diversidade nucleotídica foi G4 (π : 0,018), correspondente a amostras coletadas nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. Já em relação aos baixos valores de diversidade nucleotídica para o golfinho rotador pantropical dentre as localidades brasileiras amostradas, o menor índice foi encontrado para G2, correspondente a um dos grupos de Fernando de Noronha (π : 0,004). Os valores correspondentes a G3 não foram considerados (neste caso), pois só ocorre um haplótipo nesse grupo, e por isso não é possível comparar a diversidade entre eles, tanto nucleotídica quanto haplotípica. Em relação à diversidade haplotípica de D-loop, o maior valor encontrado neste estudo é referente ao G4 ($h=0,94$). A localidade com menor diversidade haplotípica foi G2 ($h=0,53$) (Tabela 7).

Tabela 7. Diversidades haplotípica e nucleotídica de sequências de D-loop (414bp) de 79 indivíduos de *Stenella longirostris* em cada um dos quatro grupos brasileiros:

Grupo	N	Nº de haplótipos	Nº de haplótipos únicos	π	h
D-loop (414bp)					
G1	04	03	01	0,014376+/-0,010	0,833+/-0,22
G2	35	11	09	0,004569+/-0,002	0,5345+/-0,1
G3	02	01	01	0,0+/-0,0	0,0+/-0,0
G4	38	19	17	0,018079+/-0,009	0,9474+/-0,017

Legenda: N: número de indivíduos amostrados. h: diversidade haplotípica. π : diversidade nucleotídica.

Já os índices de diversidade intrapopulacional das sequências de D-loop com tamanho final de 373bp provenientes do GenBank, incluindo as sequências geradas neste presente estudo com equivalência de tamanho (bp), o valor mais alto de diversidade nucleotídica encontrado foi referente ao grupo AN (Atlântico Norte, π : 0,025), enquanto o valor significativamente mais baixo é referente ao G2 (π : 0,002). Já para diversidade haplotípica o maior valor corresponde ao grupo PAC (oceano Pacífico, h=0,97), enquanto o mais baixo também foi encontrado para G2 (h=0,31) (Tabela 8).

Tabela 8. Diversidades haplotípica e nucleotídica de D-loop (373bp) de 79 indivíduos de *Stenella longirostris* por grupo e de outros grupos estudados por Galver (2002), Oremus et al. (2007) e Andrews et al. (2010):

Grupo	N	Nº de haplótipos	Nº de haplótipos únicos	π	h
D-loop (373bp)					
G1	04	03	01	0,015985+/-0,011	0,833+/-0,22
G2	35	06	04	0,002486+/-0,001	0,3160+/-0,1
G3	02	01	01	0,0+/-0,0	0,0+/-0,0
G4	38	18	14	0,019563+/-0,010	0,9431+/-0,017
AN	10	06	04	0,025627+/-0,014	0,7778+/-0,13
IND	06	04	03	0,020750+/-0,013	0,8667+/-0,12
PAC	93	56	55	0,018912+/-0,009	0,9785+/-0,007

Legenda: N: número de indivíduos amostrados. h: diversidade haplotípica. π : diversidade nucleotídica.

AN: oceano Atlântico Norte. IND: oceano Índico. PAC: oceano Pacífico.

Para o marcador COI, foram gerados 18 haplótipos com 714bp. Os maiores valores de diversidade nucleotídica são referentes ao *G1* (π : 0,007), seguido por *G4* (π : 0,005). Em contrapartida, a população com índice significativamente menor foi *G2* (π : 0,0003), chegando a quase dez vezes menor em relação às outras localidades (Tabela 9). Já em relação à diversidade haplotípica, os maiores índices correspondem ao *G1* ($h=1,0$), e *G4* ($h=0,93$), respectivamente, enquanto o menor valor também se manteve nesse índice de diversidade para *G2* ($h=0,17$).

Tabela 9. Diversidades haplotípica e nucleotídica de sequências de COI (714bp) de 48 indivíduos de *Stenella longirostris* em cada um dos quatro grupos brasileiros:

Grupo	N	Nº de haplótipos	Nº de haplótipos únicos	π	h
COI (714bp)					
<i>G1</i>	03	03	02	0,007529+/-0,006	1,0+/-0,27
<i>G2</i>	22	03	02	0,000384+/-0,0004	0,1775+/-0,1
<i>G3</i>	01	01	01	0,0+/-0,0	1,0+/-0,0
<i>G4</i>	22	12	12	0,005810+/-0,003	0,9351+/-0,002

Legenda: N: número de indivíduos amostrados. h : diversidade haplotípica. π : diversidade nucleotídica.

Para as sequências concatenadas de D-loop e COI (DLP+COI), o maior valor de diversidade nucleotídica é correspondente a *G1* (π : 0,010) e *G4* (π : 0,010), enquanto o valor significativamente mais baixo é referente a *G2* (π : 0,001). Já em relação à diversidade haplotípica, *G1* ($h=1,0$) e *G4* ($h=0,96$) apresentaram os valores mais altos, enquanto *G2* ($h=0,38$) obteve o valor significativamente mais baixo (Tabela 10).

Tabela 10. Diversidades haplotípica e nucleotídica de sequências de DLP+COI (1128bp) de 45 indivíduos de *Stenella longirostris* em cada um dos quatro grupos brasileiros:

Grupo	N	Nº de haplótipos	Nº de haplótipos únicos	π	h
DLP+COI (1128bp)					
<i>G1</i>	03	03	02	0,010748+/-0,008	1,0+/-0,27
<i>G2</i>	19	05	04	0,001149+/-0,0008	0,3860+/-0,13
<i>G3</i>	01	01	01	0,0+/-0,0	1,0+/-0,0
<i>G4</i>	22	16	16	0,010614+/-0,005	0,9697+/-0,021

Legenda: N: número de indivíduos amostrados. h : diversidade haplotípica. π : diversidade nucleotídica.

4.3. Fluxo gênico entre os grupos

Em relação aos valores de F_{st} entre pares baseado nos índices de distância Tamura & Nei para os haplótipos de D-loop, o valor encontrado para o Grupo Insular (GI) em relação ao Grupo Não Insular (GNI) foi 0,391 ($P < 0,001$), o que sugere significativa diferenciação entre os golfinhos rotadores associados a ilhas (insulares) em relação aos animais de maior mobilidade não associados a ilhas (não insulares).

Já para os quatro grupos propostos, os valores com P significativos mostraram que $G3$ e $G4$ apresentam maior similaridade genética (Tabela 11), mas ainda assim este valor indica grande diferenciação, ou seja, o fluxo gênico entre esses grupos é muito restrito ($F_{st}=0,33$). Já em relação aos grupos geneticamente mais distantes, $G2$ e $G3$ apresentaram valor de F_{st} que indica ausência quase total de fluxo gênico entre eles ($F_{st}=0,80$), mesmo sendo grupos provenientes da mesma localidade (Fernando de Noronha).

Tabela 11. Valores de F_{st} entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura & Nei para as 79 sequências de D-loop (414bp). Os valores com asterisco (*) apresentam P significativo:

D-LOOP	G1	G2	G3	G4
G1	0,0			
G2	0,50006***	0,0		
G3	0,47406	0,80475**	0,0	
G4	0,08115	0,45254***	0,33818*	0,0

* = $P < 0,05$. ** = $P < 0,01$. *** = $P < 0,001$.

Já os valores de F_{st} para os haplótipos de COI o valor encontrado para o $G1$ em relação ao GNI foi 0,437 ($P < 0,001$), corroborando assim com os resultados obtidos nas análises com D-loop.

Para os quatro grupos com P significativos, os valores de F_{st} mostraram que $G3$ e $G4$ apresentam maior similaridade genética em relação aos outros valores entre os pares de grupos com P significativo (Tabela 12), e mesmo assim, indica fluxo gênico restrito ($F_{st}=0,38$). Já em relação aos grupos geneticamente mais distantes, $G1$ e $G2$ apresentaram valor de F_{st} que indica alta diferenciação entre eles ($F_{st}=0,57$), mesmo sendo grupos de regiões geograficamente próximas.

Tabela 12. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura & Nei para as 48 sequências de COI (714bp). Os valores com asterisco (*) apresentam P significativo:

<i>COI</i>	G1	G2	G3	G4
G1	0,0			
G2	0,57672**	0,0		
G3	0,05958	0,93272	0,0	
G4	0,21849	0,53309***	0,38537*	0,0

* = $P < 0,05$. ** = $P < 0,01$. *** = $P < 0,001$.

Já os valores de Fst correspondentes às sequências concatenadas (DLP+COI), estes também evidenciaram a significativa diferenciação entre *G1* e *GNI*, com valor de Fst igual a 0,414 ($P < 0,001$). Para os valores de Fst encontrados na análise dos quatro grupos, estes também mostraram que os valores de Fst com P significativos para os grupos *G3* e *G4* apresentam maior similaridade genética em relação aos outros grupos (Tabela 13), mesmo com valor que indica fluxo gênico restrito ($F_{st}=0,26$). Já em relação aos grupos geneticamente mais distantes, *G1* e *G2* apresentaram valor de Fst que indica muita diferenciação entre eles ($F_{st}=0,52$).

Tabela 13. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura & Nei para as 45 sequências de DLP+COI (1128bp). Os valores com asterisco (*) apresentam P significativo:

<i>DLP+COI</i>	G1	G2	G3	G4
G1	0,0			
G2	0,52653*	0,0		
G3	0,12432	0,89919	0,0	
G4	0,10069	0,49448***	0,26598*	0,0

* = $P < 0,05$. ** = $P < 0,01$. *** = $P < 0,001$.

Embora haja diferenças entre informações fornecidas em cada análise (D-loop, COI e DLP+COI) devido à diferença amostral, é possível notar que as

populações são geneticamente muito distantes umas das outras em todas as análises, com índices de F_{st} (com P significativo) acima de 0,25, que indica fluxo gênico altamente restrito entre os pares de grupos, mas ainda assim G_4 mostrou-se mais próximo de todos os outros grupos.

Todos os valores significativos de F_{st} entre pares de grupos, em todas as análises, se mostraram maiores que 0,05, o que indica diferenciação significativa entre esses grupos. Logo, nenhum destes pode ser agrupado numa mesma população, ou seja, todos correspondem a populações distintas.

4.4. Análise de Variância Molecular (AMOVA)

Os valores mais altos do percentual de variação de AMOVA para as três análises (D-loop, COI e DLP+COI) foram atribuídos a variações dentro das populações. Na análise com o marcador D-loop, o percentual de variação dentro de populações encontrado foi de 56,53%, enquanto com COI foi de 50,84% e com DLP+COI foi de 55,34%. Estes dados demonstram que, além da diferenciação entre as populações verificada pelos valores de F_{st} , ocorre um alto índice de diferenciação dentro das populações.

Tabela 14. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as quatro populações correspondentes a 79 indivíduos de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro baseado no marcador D-loop (414bp):

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Percentual de variação
Entre populações	3	89,953	1,84089 Va	43,47
Dentro de populações	75	179,555	2,39407 Vb	56,53
Total	78	269,508	4,23496	
Índice de fixação F_{st} : 0,43469				

Tabela 15. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as quatro populações correspondentes a 48 indivíduos de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro baseado no marcador COI (714bp):

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Percentual de variação
Entre populações	3	34,981	1,13840 Va	49,16
Dentro de populações	44	51,807	1,17744 Vb	50,84
Total	47	86,788	2,31584	
Índice de fixação <i>Fst</i> : 0,49157				

Tabela 16. Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as quatro populações correspondentes a 45 indivíduos de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro baseado no marcador DLP+COI (1128bp):

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variância	Percentual de variação
Entre populações	3	87,452	2,94282 Va	44,66
Dentro de populações	41	149,502	3,64638 Vb	55,34
Total	44	236,954	6,58920	
Índice de fixação <i>Fst</i> : 0,44661				

4.5. Relação entre os haplótipos

A rede de 31 haplótipos de D-loop (414bp) correspondentes a 79 indivíduos de *Stenella longirostris* mostra o compartilhamento de somente três haplótipos entre as quatro populações, tendo o compartilhamento de um haplótipo entre G1 e G2 (H2), outro entre G1 e G4 (H3) e um terceiro entre G2 e G4, sendo dois deles compartilhados com G1. G3 não compartilhou seu haplótipo com nenhuma das populações (Figura 4).

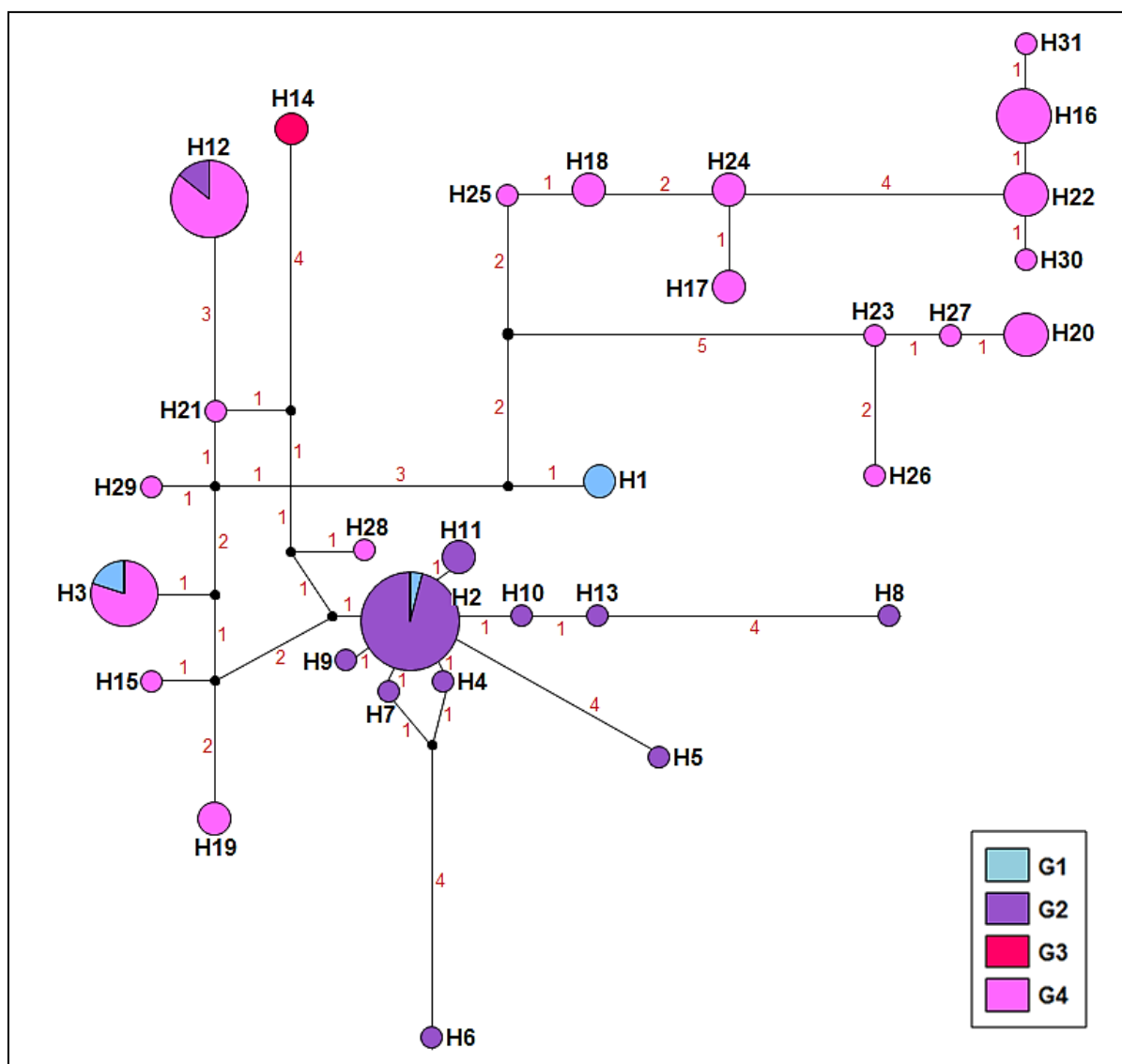


Figura 4. Rede de 31 haplótipos (H1 a H31) de D-loop (414bp) correspondentes a 79 indivíduos das quatro populações (G1 a G4) de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro. Os pontos pretos menores referem-se a possíveis haplótipos não amostrados gerados pelo programa Network como forma de conectar os outros haplótipos. Os números vermelhos entre os haplótipos indicam a quantidade de passos mutacionais existentes entre eles. *Legenda*: H: Haplótipo. G1: CE, RN, PE. G2: população 1 de Fernando de Noronha. G3: população 2 de Fernando de Noronha. G4: ES, RJ, SP, PR, SC.

Para visualizar as mutações referentes a 48 sítios polimórficos entre os 31 haplótipos de D-loop (414bp) dos 79 indivíduos analisados, o haplótipo referência utilizado foi aquele com maior representatividade entre os indivíduos amostrados, ou seja, H2, visto que 25 indivíduos apresentam esse haplótipo. Na Tabela 17 é possível visualizar as mutações correspondentes a cada haplótipo (H1 a H31) e a posição em que esta ocorreu.

Tabela 17. Mutações e suas respectivas posições entre os 31 haplótipos de D-loop (414bp) de 79 indivíduos de *Stenella longirostris* tendo como referência o haplótipo H2:

D-loop 414bp	111111111111111222222333333333444444																																								
	1123356672233444555688824788801122234400001																																								
	124673518970537967678015102555601807934122901363																																								
H2	ATTTTGTTTAGGTACGGAGGAAATGATAAATTATGTCCGTGTTTTTTA																																								
H1	G.AA...A..A.G..A.....																																								
H3	G.A.GA.....A.....																																								
H4	G.....																																								
H5	G.....G.....CC.....																																								
H6	GC..A.....GGT																																								
H7	G.																																								
H8	TCCCC.C.....C.....																																								
H9	A.....																																								
H10	.C.C.....																																								
H11	T.....																																								
H12	A...A.GAA.....A.....																																								
H13	.C.CC.....																																								
H14	GA...A..AAG...A.C.....																																								
H15	G...GA.....C.....																																								
H16	GA..G.A..A..G...G.G.....																																								
H17	GGAA.G.A..A.....G...G...T.....																																								
H18	G.AA.G.A..A.....G...G...T.....																																								
H19	G...G...GA.....G.....																																								
H20	CG.AA.GTAAGA...G.....G.....A.....																																								
H21	A.GAAG.....																																								
H22	GA..G.A..A..G...G.....																																								
H23	G.AA.GTAAGA...G.....A.....																																								
H24	GGAA.G.A..A.....G...G.....																																								
H25	G.AA.G.A..A.....G.....T.....																																								
H26	G.AA.GTAAGA...G.....A...GA...																																								
H27	G.AA.GTAAGA...G...G.....A.....																																								

H28	A.G.....G.....
H29	A.GA.G.....C.....
H30	GA..G.A..A..G.....G.....A.....
H31	GA..G.A..A.GG...G.G.....

Já para a rede de 18 haplótipos correspondentes a 48 indivíduos gerada com as sequências de COI (714bp), há somente o compartilhamento de um haplótipo, e este ocorre entre as populações *G1* e *G2* (H33) (Figura 5). O haplótipo referente à população *G3* mostrou-se relativamente distante dos demais (H37), assim como um haplótipo correspondente a *G1* (H32). Os haplótipos H35 e H36 correspondem a duas das três amostras que não foram sequenciadas com D-loop. H44, H48 e H49, haplótipos correspondentes a *G4*, mostraram-se mais próximos de haplótipos de *G1* e *G2* do que entre outros haplótipos correspondentes a população a que estão inseridos.

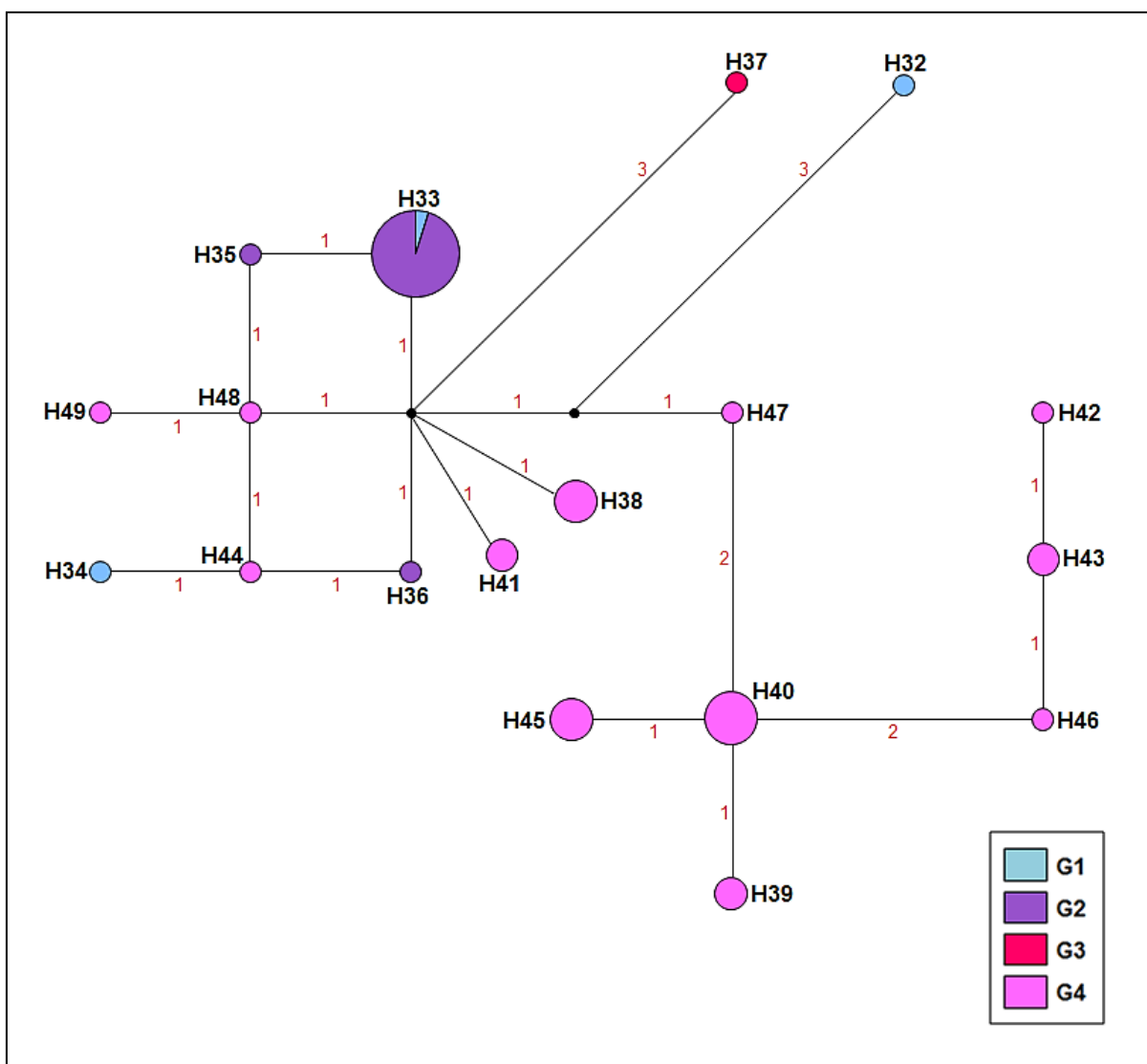


Figura 5. Rede de 18 haplótipos (H32 a H49) de COI (714bp) correspondentes a 48 indivíduos das quatro populações (G1 a G4) de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro. Os pontos pretos menores referem-se a possíveis haplótipos não amostrados gerados pelo programa Network como forma de conectar os outros haplótipos. Os números vermelhos entre os haplótipos indicam a quantidade de passos mutacionais existentes entre eles. *Legenda*: H: Haplótipo. G1: CE, RN, PE. G2: população 1 de Fernando de Noronha. G3: população 2 de Fernando de Noronha. G4: ES, RJ, SP, PR, SC.

A visualização das mutações referentes aos 21 sítios polimórficos entre os 18 haplótipos de COI (714bp) dos 48 indivíduos analisados optou-se por utilizar como referência o haplótipo com maior representatividade entre os indivíduos amostrados, ou seja, H33, visto que 21 indivíduos apresentam esse haplótipo. Na Tabela 18 é possível visualizar as mutações correspondentes a cada haplótipo (H32 a H49).

Tabela 18. Mutações e suas respectivas posições entre os 18 haplótipos de COI tendo como referência uma amostra do haplótipo 33 (H33):

COI 714bp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	2	9	2	5	3	9	1	2	4	4	1	1	8	8	1	3	6	3
	5	1	1	4	5	5	0	2	0	3	2	8	4	7	8	3	3	8
H33	ACTTCGAAGTCACCTCTTGCC																	
H32	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T	C	.	A
H34	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.
H35	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H36	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
H37	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	C	T	.	.
H38	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
H39	G	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	.	AA	.
H40	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	.	AA	.
H41	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T
H42	G	.	CC	.	.	C	.	.	.	T	.	T	.	.	T	.	AA	.
H43	.	.	CC	.	.	C	.	.	.	T	.	T	.	.	T	.	AA	.
H44	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
H45	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	.	CAA	.
H46	.	.	CC	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	.	AA	.
H47	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	AA	.
H48	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
H49	G	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.

As numerações dos haplótipos seguem a ordem consecutiva dos haplótipos de D-loop.

A estruturação entre as populações G2 e G4 fica mais evidente quando analisadas as sequências concatenadas das duas regiões do mtDNA (DLP+COI), assim como o distanciamento significativo dos haplótipos referentes ao G1 (H50) e G3 (H57) em relação aos demais. O compartilhamento de um haplótipo entre G1 e G2 se manteve. Ainda, é possível notar que na população G4 existem haplótipos muito diferentes, como, por exemplo, H61 e H62 (Figura 6).

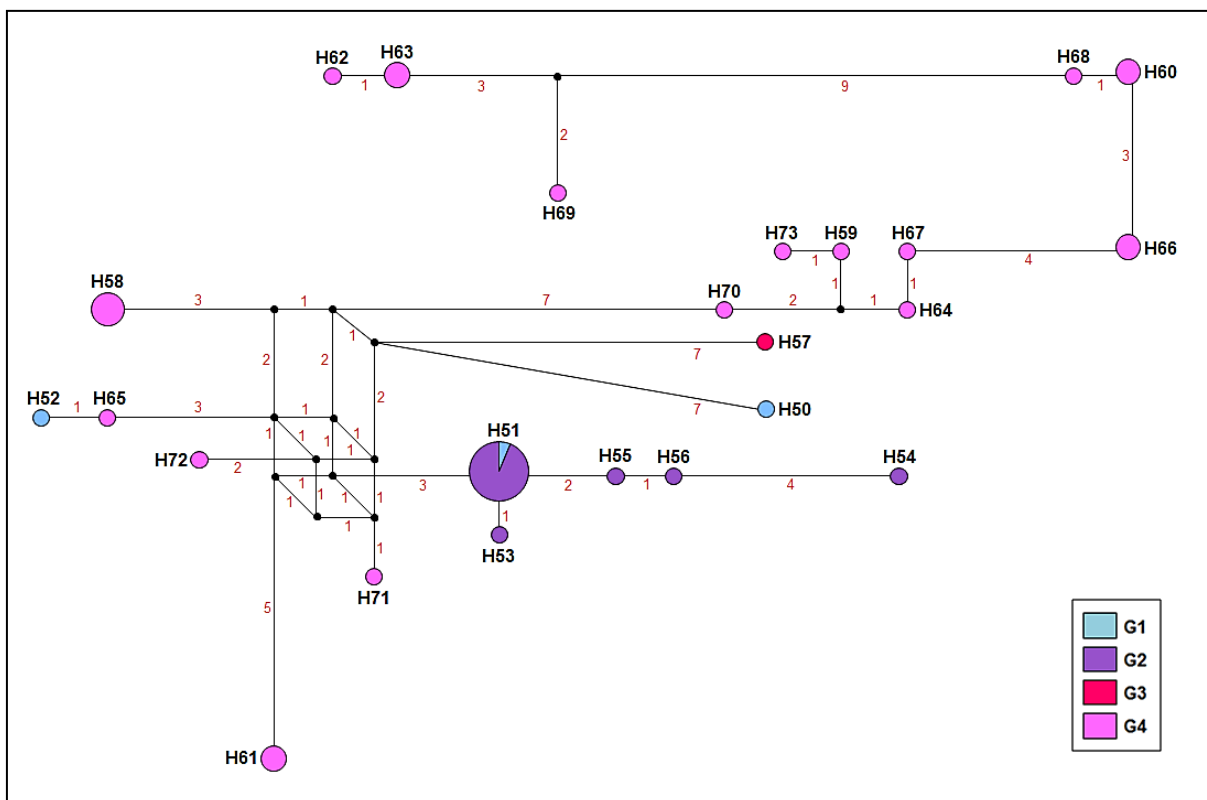


Figura 6. Rede de 24 haplótipos (H50 a H73) de DLP+COI (1128bp) correspondentes a 45 indivíduos das quatro populações (G1 a G4) de *Stenella longirostris* do litoral brasileiro. Os pontos pretos menores referem-se a possíveis haplótipos não amostrados gerados pelo programa Network como forma de conectar os outros haplótipos. Os números vermelhos entre os haplótipos indicam a quantidade de passos mutacionais existentes entre eles. *Legenda:* H: Haplótipo. G1: CE, RN, PE. G2: população 1 de Fernando de Noronha. G3: população 2 de Fernando de Noronha. G4: ES, RJ, SP, PR, SC.

Para visualizar as mutações dos 58 sítios polimórficos entre os 24 haplótipos de DLP+COI (1128bp), foi utilizado como referência o haplótipo com maior representatividade entre os 45 indivíduos amostrados, ou seja, H51, visto que 16 indivíduos apresentam esse haplótipo. Na Tabela 19 é possível visualizar as mutações correspondentes a cada haplótipo.

4.6. Testes de neutralidade

Os testes de neutralidade realizados com as quatro populações brasileiras só apresentaram valores de P significativo para a população G2. Ao analisar D-loop e COI separadamente, o valor de D para ambos foi significativamente negativo para esta população, o que indica expansão demográfica recente. Na análise de significância do P de Fs, este foi significativo somente para o marcador D-loop, em que o valor de Fs encontrado foi negativamente significativo, indicando excesso de mutações recentes. Porém, com COI o valor de P não se mostrou significativo, e por isso o valor de Fs não pode ser inferido na análise deste marcador. Nenhuma população apresentou valores com P significativos quando analisado o arquivo concatenado (DLP+COI) (Tabela 20).

Tabela 20. Valores dos testes de neutralidade Tajima (D) e Fu (Fs) das quatro populações (G1 a G4) nas análises com D-loop, COI e DLP+COI. Os valores significativos estão destacados em negrito:

Área	Marcador	N	D	P*	Fs	P**
G1	<i>D-loop</i>	04	0,69482	0,7936	1,74722	0,7487
	<i>COI</i>	03	0,0	0,7538	0,45758	0,3951
	<i>DLP+COI</i>	03	0,0	0,6866	1,33223	0,4896
G2	<i>D-loop</i>	35	-2,40652	0,0007*	-4,15678	0,0143**
	<i>COI</i>	22	-1,72938	0,0089*	-1,25244	0,0371
	<i>DLP+COI</i>	19	-1,49785	0,0636	-0,54314	0,3428
G3	<i>D-loop</i>	02	0,0	1,0	-	-
	<i>COI</i>	01	0,0	1,0	-	-
	<i>DLP+COI</i>	01	0,0	1,0	-	-
G4	<i>D-loop</i>	38	0,31454	0,6795	-3,20288	0,132
	<i>COI</i>	22	0,54696	0,7549	-3,03636	0,0734
	<i>DLP+COI</i>	22	0,51589	0,7476	-2,20915	0,182

N: número de indivíduos. D: estimativa de neutralidade de alelos de Tajima. P*: índice de significância de 0,05 para o valor de D. Fs: índice de neutralidade seletiva e equilíbrio populacional de Fu. P**: índice de significância de 0,02 para o valor de Fs.

4.7. Relação com outras populações mundiais

Para analisar a relação dos haplótipos brasileiros gerados neste estudo da região controle (D-loop), foram incluídas 109 amostras do GenBank, sendo 10 do oceano Atlântico, seis do oceano Índico (GALVER, 2002) e 93 do Pacífico (GALVER, 2002; OREMUS *et al*, 2007; ANDREWS *et al.*, 2010). Além dessas, foram utilizadas 79 amostras do oceano Atlântico Sudoeste referentes ao presente estudo. A Figura 7 mostra as localidades marcadas com pontos coloridos cujas cores fazem referência às utilizadas na rede de haplótipos para cada população.

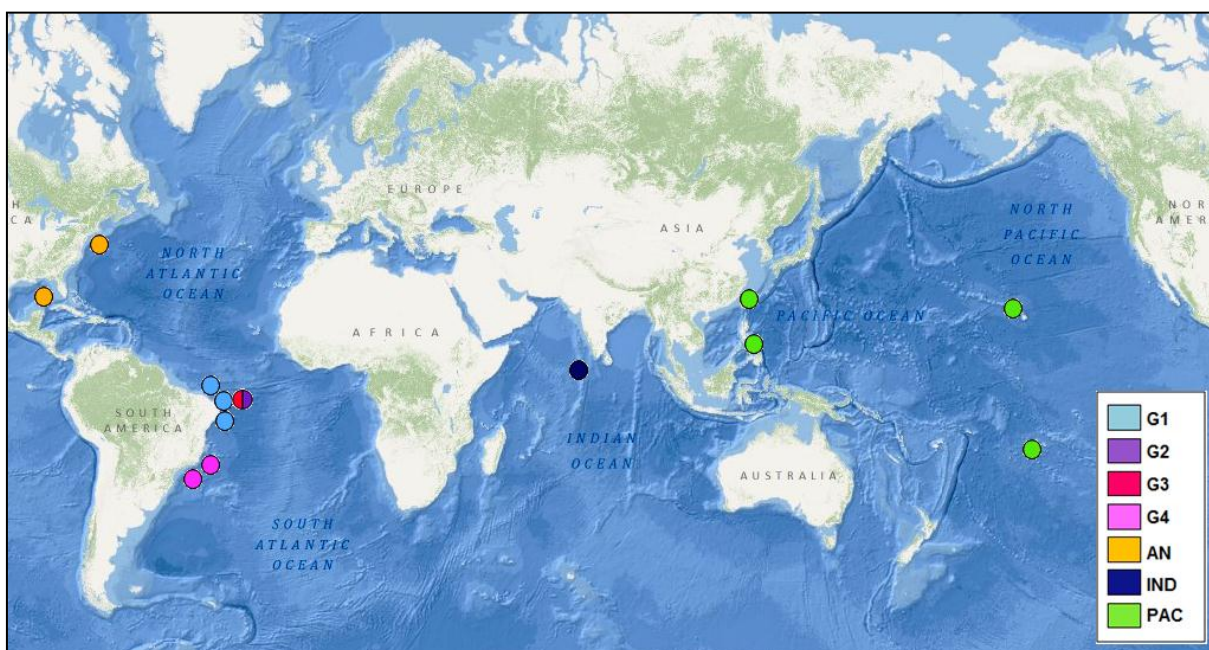


Figura 7. Mapa com as localidades utilizadas na análise (www.arcgis.com).

Em relação aos índices de distância Tamura & Nei das quatro populações brasileiras e um grupo para cada um dos três oceanos, os valores de F_{st} com P significativos mostraram que *IND* e *PAC* apresentam maior similaridade genética em relação aos outros valores para os pares de grupos com P significativo ($F_{st}=0,08$), valor este que indica moderada diferenciação, ou seja, o fluxo gênico existe, mas não ao ponto de as integrarem como uma só população ($F_{st}<0,05$). Já em relação às populações geneticamente mais distantes, G2 e G3 apresentaram valor de F_{st} que indica ausência quase total de fluxo gênico entre elas ($F_{st}=0,89$), mesmo sendo populações que ocorrem na mesma região, no arquipélago de Fernando de Noronha. As populações brasileiras mais próximas as três de outros oceanos foi G4 em relação à *IND* ($F_{st}=0,11$) e *PAC* ($F_{st}=0,13$), enquanto a mais distante foi G2 em relação à *IND* (Tabela 21).

Tabela 21. Valores de Fst entre pares de grupos baseados no método de distância Tamura e Nei para 188 sequências de D-loop (373bp). Os valores com asterisco (*) apresentam P significativo:

<i>D-LOOP</i> (373bp)	G1	G2	G3	G4	AN	IND	PAC
G1	0,0						
G2	0,63433**	0,0					
G3	0,47419	0,89655**	0,0				
G4	0,08534	0,48245***	0,34730*	0,0			
AN	0,04712	0,60255***	0,32999*	0,00792	0,0		
IND	0,06392	0,65353***	0,29426	0,11579*	0,11721*	0,0	
PAC	0,06947	0,25149***	0,36085*	0,12518***	0,13621***	0,08734*	0,0

* = P<0,05. ** = P<0,01. *** = P<0,001.

Nas análises que incluíram sequências de golfinhos rotadores brasileiros e de outras localidades mundiais, foram obtidos 87 haplótipos com 373bp. Para visualizar esta rede de haplótipos foram utilizados aqueles que possuíam frequência maior que um indivíduo para melhor visualização do compartilhamento de haplótipos entre as populações. Desta forma, a representação da rede compreendeu 37 haplótipos, excluindo 50 haplótipos únicos. A numeração dos haplótipos segue a ordem consecutiva dos haplótipos de DLP+COI, sendo de H74 a H110 (Figura 8). Nesta rede de D-loop gerada é possível visualizar o compartilhamento de cinco haplótipos, em que H75 é referente ao compartilhamento entre as populações G1 e G2 (ambas do litoral brasileiro); o haplótipo H76 foi representado em indivíduos do oceano Atlântico Norte (AN) e das populações G1 e G4 da porção brasileira do Atlântico; o H78, compartilhado entre oceano Índico, G2 e G4; H80, entre AN e G4; e H87, entre o oceano Pacífico (PAC) e G4. É possível notar que grande parte dos haplótipos referentes às populações brasileiras (G1 a G4) está mediada por haplótipos dos outros oceanos (Figura 8).

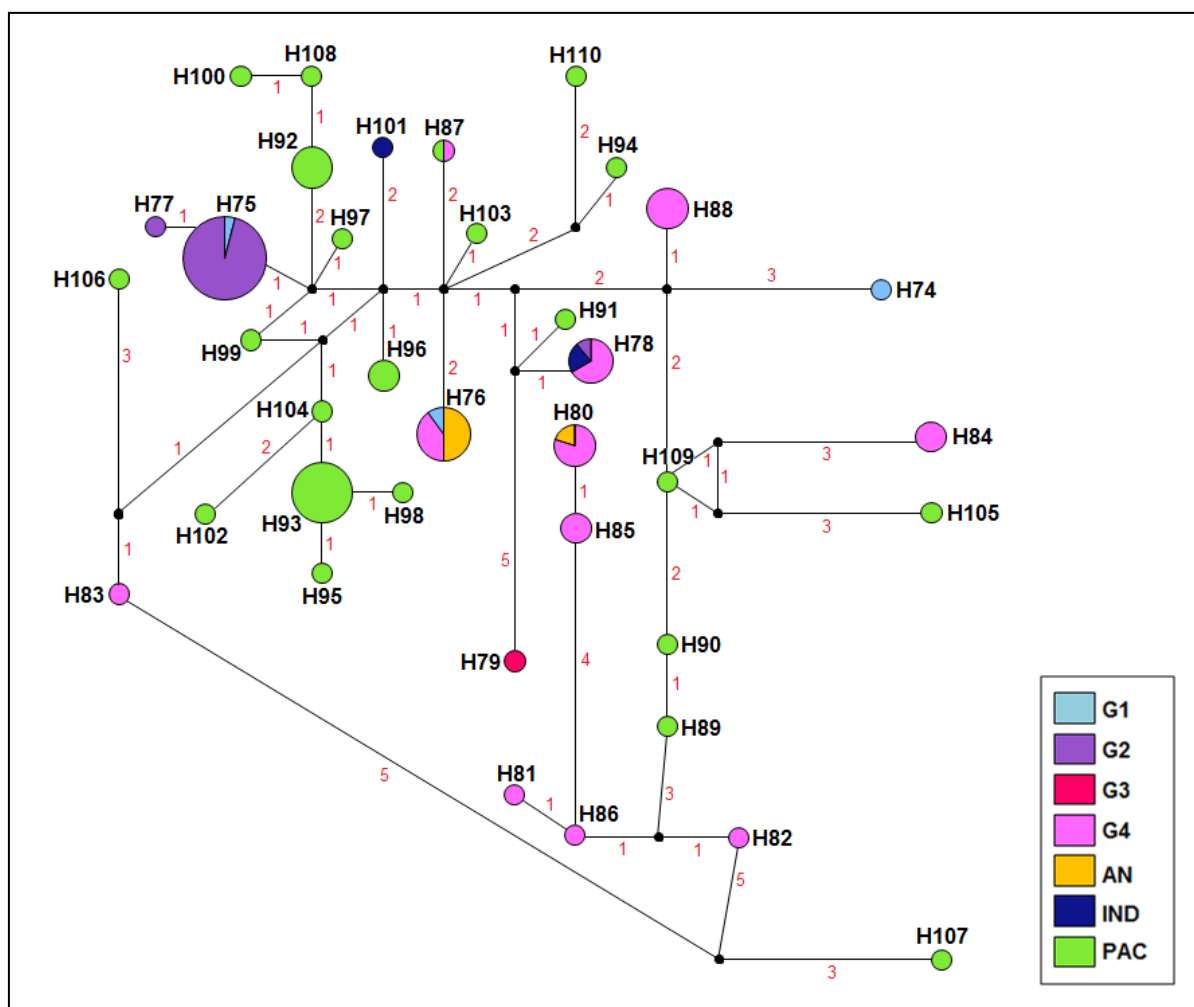


Figura 8. Rede de 37 haplótipos de D-loop referente a haplótipos com frequência maior que 1 dentre os 87 haplótipos encontrados referentes a sete populações. Os pontos pretos pequenos referem-se a possíveis haplótipos não amostrados gerados pelo programa Network como forma de conectar os outros haplótipos. Os números vermelhos pequenos entre os haplótipos indicam a quantidade de passos mutacionais existentes entre eles. *Legenda:* G1: CE, RN, PE. G2: população 1 de Fernando de Noronha. G3: população 2 de Fernando de Noronha. G4: ES, RJ, SP, PR, SC. AN: sequências do GenBank referentes ao oceano Atlântico Norte. IND: sequências do GenBank referentes ao oceano Índico. PAC: sequências do GenBank referentes ao oceano Pacífico.

Para a visualização das mutações dos 75 sítios polimórficos dos 37 haplótipos de D-loop (373bp) com frequência maior que 1 (dos 87 totais), foi utilizado como referência o haplótipo H93 representado por 11 indivíduos do oceano Pacífico (acesso no GenBank: [AY989745.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/AY989745.1)). Na Tabela 22 é possível visualizar as mutações correspondentes a cada haplótipo.

Tabela 22. Mutações e suas respectivas posições entre os 37 haplótipos de D-loop (373bp) com frequência maior que 1 entre os 188 indivíduos de *Stenella longirostris* referentes a sete populações, tendo como referência o haplótipo H93 (GenBank: AY989745.1):

[illegible]

Já os valores de *Fst* entre pares de populações baseados nos índices de distância Tamura & Nei para o marcador COI, com análise de 17 haplótipos (54 sequências com 636bp, sendo seis do GenBank e 48 do presente estudo) referentes a sete populações, os valores de *Fst* com *P* significativos mostraram *G1* e *G4* como as populações geneticamente mais próximas, mesmo com valor que indica fluxo gênico restrito entre essas duas populações (*Fst*=0,23). Em contrapartida, as populações mais distantes foram *G2* e *AN* (*Fst*=0,65), cujo valor indica alta diferenciação genética entre elas, mesmo estas sendo relativamente próximas geograficamente (Tabela 23).

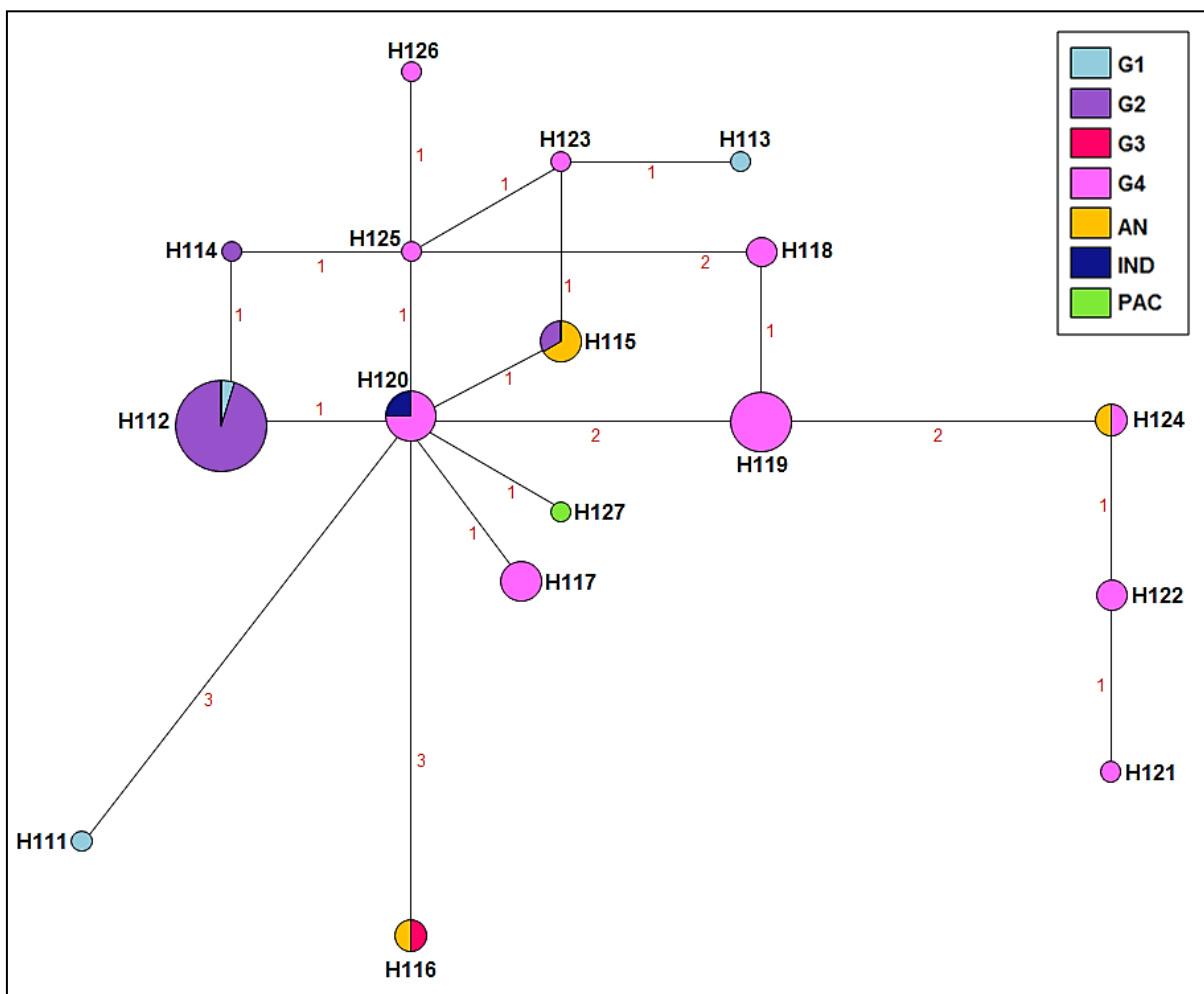
Tabela 23. Valores de *Fst* entre pares de populações baseados no método de distância Tamura e Nei para as 54 sequências de COI (636bp). Os valores com asterisco (*) apresentam *P* significativo:

COI (636bp)	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G3</i>	<i>G4</i>	<i>AN</i>	<i>IND</i>	<i>PAC</i>
<i>G1</i>	0,0						
<i>G2</i>	0,57122*	0,0					
<i>G3</i>	0,12565	0,93274	0,0				
<i>G4</i>	0,23881*	0,53189***	0,47535*	0,0			
<i>AN</i>	-0,03283	0,65477***	-0,11256	0,09895	0,0		
<i>IND</i>	-1,00658	0,73856	1,0	-0,24973	-0,86110	0,0	
<i>PAC</i>	-0,40408	0,86646	1,0	0,14305	-0,28915	1,0	0,0

* = *P*<0,05. ** = *P*<0,01. *** = *P*<0,001.

A rede gerada para COI inclui as 48 sequências analisadas neste estudo, acrescidas a outras seis adquiridas pelo GenBank, sendo uma do oceano Índico (*IND*), uma do oceano Pacífico (*PAC*) e quatro do Atlântico Norte (*AN*) (VIRICEL & ROSEL, 2012). As sequências foram alinhadas e cortadas, e apresentaram tamanho final de 636bp. Na rede foram mantidos haplótipos únicos, visto que se tratava de 17 haplótipos, cujas numerações foram de H111 a H127 (Figura 9). Na rede de COI é possível visualizar o compartilhamento de cinco haplótipos, sendo um entre as populações brasileiras *G1* e *G2*, e os outros quatro entre as brasileiras com as de

outras regiões, como G2 e AN (H115), G3 e AN (H116), e G4 com AN (H124) e IND (H120).



Para visualizar as mutações dos 18 sítios polimórficos referentes aos 17 haplótipos de COI (636bp) foi utilizado como referência o haplótipo H127, proveniente de um indivíduo do oceano Pacífico (acesso no GenBank: [EU496332.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuotide/EU496332.1)). Na Tabela 24 é possível visualizar as mutações correspondentes a cada haplótipo.

Tabela 24. Mutações e suas respectivas posições entre os 17 haplótipos de COI (636bp) entre os 54 indivíduos de *Stenella longirostris* referentes a sete populações tendo como referência o haplótipo H127 (GenBank: [EU496332.1](#)):

COI 636bp	1112233334444555 292563912441188136 511405502032847833
H127	ACTTGCGAAGTCACCTTT
H111	.T..A.....T..C
H112	A.....C.
H113	G...AT.....T.....
H114	G...A.....C.
H115	AT.....
H116	A.A...C...C..
H117	A...G.....
H118	G..CA.....T....
H119	...CA.....T....
H120	A.....
H121	G.CCA..C...T.T....
H122	..CCA..C...T.T....
H123	G...AT.....
H124	..CCA.....T.T....
H125	G...A.....
H126	G...A....A.....

5. DISCUSSÃO:

5.1. *Diversidade genética intrapopulacional*

Para a região controle (D-loop) do DNA mitocondrial, os índices de diversidade, tanto nucleotídica quanto haplotípica, mostraram-se mais altos para a G4, referente à região Sudeste e Sul do litoral brasileiro. Apesar de todo o litoral brasileiro apresentar baixa produtividade primária devido ao fato das correntes marítimas que passam pela costa brasileira apresentarem temperaturas e salinidades elevadas, a presença da corrente das Malvinas torna esta região relativamente mais produtiva que a região Nordeste (MATSUURA, 1995). Por isso, a alta diversidade genética encontrada na população G4 pode estar relacionada à maior produtividade primária desta região, quando comparada a Nordeste (G1 a G3). Tal aspecto poderia estar relacionado ao número de espécies de cetáceos presentes (alguns casos endêmicas) no litoral Sudeste e Sul. Um exemplo é a toninha, *Pontoporia blainvillei*, cuja ocorrência é restrita a porção oeste do Atlântico Sul, abaixo de Itaúnas, no Espírito Santo (SICILIANO, 1994).

Todas as amostras referentes a esta população foram adquiridas por embarcações em alto mar, de localidades não associadas a ilhas em profundidades entre 267 e 1352 metros. De acordo com alguns pesquisadores, o fluxo gênico entre populações não insulares pode ser mais frequente que em populações associadas a ilhas, devido à maior fidelidade de sítio das populações insulares, visto que tais ilhas apresentam riqueza de recursos e muitas áreas de descanso disponíveis (ANDREWS *et al.*, 2010).

Valores similares de diversidade nucleotídica e haplotípica também foram encontrados para as populações AN (Atlântico Norte), IND (Índico) e PAC (Pacífico), embora mais altos para a população denominada como PAC (Tabela 8).

Em contrapartida, os menores valores referentes às diversidades haplotípica e nucleotídica foram encontrados para a população G2 (Fernando de Noronha) em todas as análises (D-loop, COI e DLP+COI). Esses valores, significativamente menores, são bem inferiores aos encontrados em outros oceanos, como Pacífico e Índico e Atlântico Norte.

Quando comparado aos valores encontrados nas análises da região controle (D-loop) de *Cephalorhynchus hectori* (golfinho Hector's, PICHLER & BAKER, 2000), os golfinhos rotadores da G2 de Fernando de Noronha apresentaram valores

similares (G2, π : 0,002 e $h=0,31$; Hector's, π : 0,0 a 0,004 e $h= 0,0$ a 0,66), mesmo sendo analisados mais indivíduos (N=35) e um fragmento maior (414 e 373bp). *C. hectori* é uma espécie categorizada como ameaçada pela RedList da IUCN (REEVES *et al.*, 2008).

No arquipélago de Fernando de Noronha o número de golfinhos rotadores presente é alto, mas ainda assim alguns estudos, como o de Farro (2006) e Faria (2010), relataram uma taxa relativamente baixa na diversidade genética dos indivíduos deste local. Farro (2006) verificou baixa taxa de heterozigosidade observada para marcadores microssatélites e altos índices de endogamia nesta população. Uma das hipóteses para se explicar isso seriam fatores etológicos que podem exercer influência sobre a predominância de um haplótipo a partir do cruzamento de indivíduos aparentados, refletindo assim, na baixa diversidade nucleotídica e haplotípica na região, como visto neste estudo.

A baixa diversidade nucleotídica e haplotípica em Fernando de Noronha também foi verificada por Faria (2010), π : 0,006 e $h=0,34$, com predominância de um haplótipo presente em 74% do total de 108 indivíduos amostrados. Este fato foi atribuído a um possível efeito fundador de poucas linhagens diferentes de fêmeas e consequente isolamento desta população, além dos efeitos da deriva genética que podem ter levado a perda de haplótipos mais raros e manutenção de um mais frequente (FARIA, 2010).

A alta variabilidade alélica (FARRO, 2006) e baixa diversidade haplotípica (FARIA, 2010) encontradas no local podem indicar dispersão de machos e residência de fêmeas, como já relatado para a espécie na Polinésia Francesa (OREMUS *et al.*, 2007). No entanto, os altos índices de endogamia podem indicar fidelidade de sítios de machos e fêmeas, como visto em outros estudos com a espécie (ANDREWS *et al.*, 2010). Os altos índices de endogamia vão contra a hipótese de dispersão de machos, visto que esta diminui as pressões endogâmicas e competitivas através da migração do sexo masculino, estabelecendo assim fluxo gênico entre as populações (GREENWOOD, 1980). Isto não se confirma caso os machos que se dispersam atinjam baixo sucesso reprodutivo como imigrantes (OREMUS *et al.*, 2007). Por isso, investigações mais aprofundadas que incluam ilhas adjacentes a Fernando de Noronha devem ser realizadas para verificar a ocorrência de dispersão por machos nessa população. Em todos os estudos com populações de golfinhos rotadores associados a regiões insulares foi confirmada a

fidelidade de habitat, tida como a principal explicação para o isolamento entre as populações, mesmo estando estas geograficamente próximas (OREMUS *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que a baixa variabilidade genética é uma ameaça a muitas populações, já que isso representa uma maior limitação para a espécie em responder às diversas ameaças, tanto a longo quanto em curto prazo, interferindo assim drasticamente na demografia dessas populações.

5.2. *Fluxo gênico entre as populações*

O valor de F_{st} encontrado para o Grupo Insular (GI) em relação ao Grupo Não Insular (GNI) sugere que esses grupos estão inseridos em populações diferentes, ou seja, os golfinhos rotadores associados a ilhas (insulares) não compõem a mesma população dos animais de maior mobilidade não insulares.

Já para os quatro grupos previamente propostos, em relação aos valores de F_{st} , G4 foi a população que apresentou maior similaridade genética com G2 e G3, mostrando assim que há fatores que contribuem para o fluxo gênico das populações brasileiras, apesar da distância geográfica. G2 e G3 ocorrem na mesma região (Fernando de Noronha), mas são geneticamente mais próximas de G4 geograficamente mais distante. Esse padrão foi observado em todas as análises (D-loop, COI e DLP+COI).

Cabe ressaltar que a amostragem dos indivíduos das populações de Fernando de Noronha foi realizada em coletas na mesma área (Mar de Dentro), e por isso é pouco provável que G2 e G3 ocupem áreas distintas, ou seja, essas populações apresentam condições de se reproduzir, mas não o fazem por causas etológicas.

5.3. *Análise de Variância Molecular (AMOVA)*

O maior índice de variabilidade foi encontrado dentro das populações para todas as análises (D-loop, COI e DLP+COI), o que indica a presença de muitos haplótipos raros ou únicos dentro das populações.

5.4. *Relação entre os haplótipos*

Ao analisar os haplótipos de D-loop (414bp) das populações brasileiras, é possível visualizar que alguns haplótipos referentes à população G4, são

relativamente próximos das outras populações brasileiras, como H3, H12 e H28. H3 é compartilhado entre G1 e G4, H12 entre G2 e G4, e H28 é o haplótipo da região Sudeste e Sul do Brasil (G4) mais próximo do mais frequente de Fernando de Noronha (G4), H2. Além disso, H14, referente à G3 (também de Fernando de Noronha), se mostrou geneticamente mais próximo dos haplótipos de G4 do que de G3, mesmo G2 e G3 serem populações da mesma região (Fernando de Noronha).

Apesar da população G4 apresentar haplótipos muito diferentes entre si, não foi possível definir um padrão biogeográfico de diferenciação desses indivíduos, visto que não foi verificada relação com batimetria, área de ressurgência ou latitude e longitude. Além disso, é possível que grupos não insulares com alta mobilidade, mesmo geograficamente próximos, apresentem fluxo gênico restrito devido a fatores comportamentais, como segregação em *schools*, visto que a distância geográfica entre os pontos de coleta nas regiões Sudeste e Sul no Brasil é muito pequena. Tal segregação é relativamente comum em odontocetos, como já observado em grupos de *Stenella longirostris* no Hawaii (NORRIS & SCHILT, 1988).

É relativamente difícil inferir o haplótipo “fundador” entre as populações brasileiras amostradas, visto que não foi encontrado nenhum que fosse presente em todas as populações, mas é possível ver que H3 e H12 são bastante representativos, visto que eles foram os únicos presentes tanto nas populações do Nordeste quanto do Sudeste e Sul (Figura 5).

Já em relação à rede de haplótipos de COI, o compartilhamento do haplótipo mais frequente de G2 com um haplótipo de G1 persistiu, mas este foi o único compartilhamento existente. Nessa análise também é possível verificar que haplótipos da população G4 são mais próximos de todas as outras populações, mesmo G1, G2 e G3 sendo geograficamente mais próximas. Assim, é possível que entre as populações da região Nordeste do Brasil o fluxo gênico seja restrito devido a fatores comportamentais, tais como segregação e formação de subgrupos, fidelidade de sítio de populações insulares, dentre outros.

A rede de haplótipos do arquivo concatenado (DLP+COI) confirma os padrões descritos nas análises acima, tendo o haplótipo da G3 relativamente distante de qualquer população e mostrando que dentro da G4 há distinção de haplótipos. Além disso, na população G1 há a presença de haplótipos relativamente distantes entre si, que apresentam distintas relações com as demais populações: H51 é compartilhado

com o haplótipo mais frequente da G2, H52 é mais próximo da G4, e H50 muito distante dos demais (Figura 6).

É possível notar que o número de sítios polimórficos é maior nas análises de D-loop (Tabela 11) em relação a COI (Tabela 12), mesmo as sequências de D-loop sendo relativamente menores (414bp em relação à 714bp de COI).

5.5. Testes de neutralidade

Os valores D e Fs (com P significativo) para a população G2 indicam expansão demográfica e excesso de mutações recentes, respectivamente, decorrentes de eventos históricos regionais. Assim, é possível que essa população tenha passado por um efeito gargalo, seguido por recente expansão demográfica, que pode ser atribuída a dois fatores: 1) colonização recente do arquipélago de Fernando de Noronha, ou 2) gargalo seguido de recolonização recente.

5.6. Relação com outras populações mundiais

A partir da rede de haplótipos gerada para o marcador D-loop é possível notar que a população brasileira G4 compartilha haplótipos com as populações AN, IND e PAC e com a maioria das brasileiras (exceto G3). Em contrapartida, a maioria dos haplótipos da G2 mostrou-se mais próximos dos referentes à AN, IND e PAC do que das populações brasileiras. É possível notar que grande parte dos haplótipos das populações brasileiras (G1 a G4) são intermediados por haplótipos dos outros oceanos (Figura 9). Levando em consideração a distância geográfica entre as populações, a questão é: como os haplótipos do Atlântico Norte (AN) e da população G3 (Fernando de Noronha) são mais próximos dos haplótipos do Pacífico (PAC) e de G4 (Sudeste e Sul) do que da população G2 (Fernando de Noronha)?

Em relação aos índices de distância baseados nos valores de Fst, a significativa diferenciação entre G2 e G3 as torna as populações geneticamente mais distantes entre si que em relação a qualquer outra. Isto tanto em relação ao Atlântico quanto aos outros oceanos, mesmo sendo as populações geograficamente mais próximas (Tabela 21).

Já na rede de COI é possível notar que AN apresenta compartilhamento de haplótipos com a maioria das populações brasileiras (exceto G1). Isto vale inclusive para G3 (Fernando de Noronha 2), que até essa análise não havia compartilhado nenhum haplótipo.

Dentre as populações brasileiras, os haplótipos da população G4 mostraram-se melhor distribuídos na rede, apresentando poucos passos mutacionais separando-os dos outros haplótipos de todas as populações.

Em relação aos valores de F_{st} com P significativos, G1 e G4 foram as populações geneticamente mais próximas, enquanto as populações mais distantes foram G2 e AN, cujo valor indica alta diferenciação genética entre elas (Tabelas 21 e 23).

Com base nas correntes superficiais brasileiras (C), considerando que estas exerçam papel altamente significativo na distribuição de espécies epipelágicas, é possível supor que o limite do fluxo gênico entre Nordeste e Sudeste/Sul possa ser em Pernambuco e adjacências, local onde a Corrente Sul-Equatorial (C27) bifurca para norte (Corrente Norte do Brasil, C8) e sul (Corrente do Brasil, C28). Além disso, é possível notar que C27 é direcionada de Fernando de Noronha para a costa brasileira, o que poderia de certa forma, limitar o fluxo gênico por algum fator que impeça o deslocamento contracorrente das populações em direção ao arquipélago, mas favorecer o deslocamento de grupos desse local em direção ao continente (Figura 8). Além disso, a direção da corrente C27 para o norte pode explicar o compartilhamento do haplótipo da população G3 (Fernando de Noronha 2) com um haplótipo correspondente a população do Atlântico Norte (Figura 9), mas não pode explicar a alta diferenciação genética entre a outra população de Fernando de Noronha (G2) e AN. Como os grupos amostrados de Fernando de Noronha mostraram indícios de fidelidade de sítio, é possível que o fluxo gênico não ocorra devido a aspectos ecológicos e sociais, como visto em outras populações insulares (OREMUS *et al.*, 2007; ANDREWS *et al.*, 2010).

Kingston e colaboradores (2009) atribuem que o endemismo de *Stenella clymene* e *S. frontalis* no oceano Atlântico de certa forma pode estar associado ao movimento das correntes em torno do Cabo da Boa Esperança (C26, Figura 8), que pode ter desfavorecido a saída do oceano Atlântico (KINGSTON *et al.*, 2009), mas pode ter favorecido a entrada de *Stenella longirostris*.

Além disso, algumas propriedades da Corrente Norte do Brasil, como águas com menor produtividade primária do que a Corrente do Brasil podem exercer influência sobre os padrões de distribuição da espécie. Andrews e colaboradores acreditam que a disponibilidade de recursos é um fator de grande influência na distribuição do golfinho rotador, visto que pode influenciar os padrões de dispersão,

estrutura genética e social nas populações de águas adjacentes às ilhas do Hawaii. Porém, Andrews e colaboradores verificaram que nas regiões das ilhas menores com menor disponibilidade de recursos, os índices de fluxo gênico são maiores. Segundo estes autores, provavelmente as ilhas menores tenham menos recursos e possuam populações menores do que as águas adjacentes às ilhas maiores, e por isso os níveis mais elevados de fluxo gênico entre as ilhas menores possam resultar em crescentes pressões competitivas e endogâmicas. Entretanto, talvez este padrão não se aplique a populações não insulares, visto que estas se encontram numa região com maior disponibilidade de recursos (Corrente do Brasil, com maior produtividade primária), e ainda assim apresentaram maiores índices de fluxo gênico com outras populações, inclusive com populações de outros oceanos.

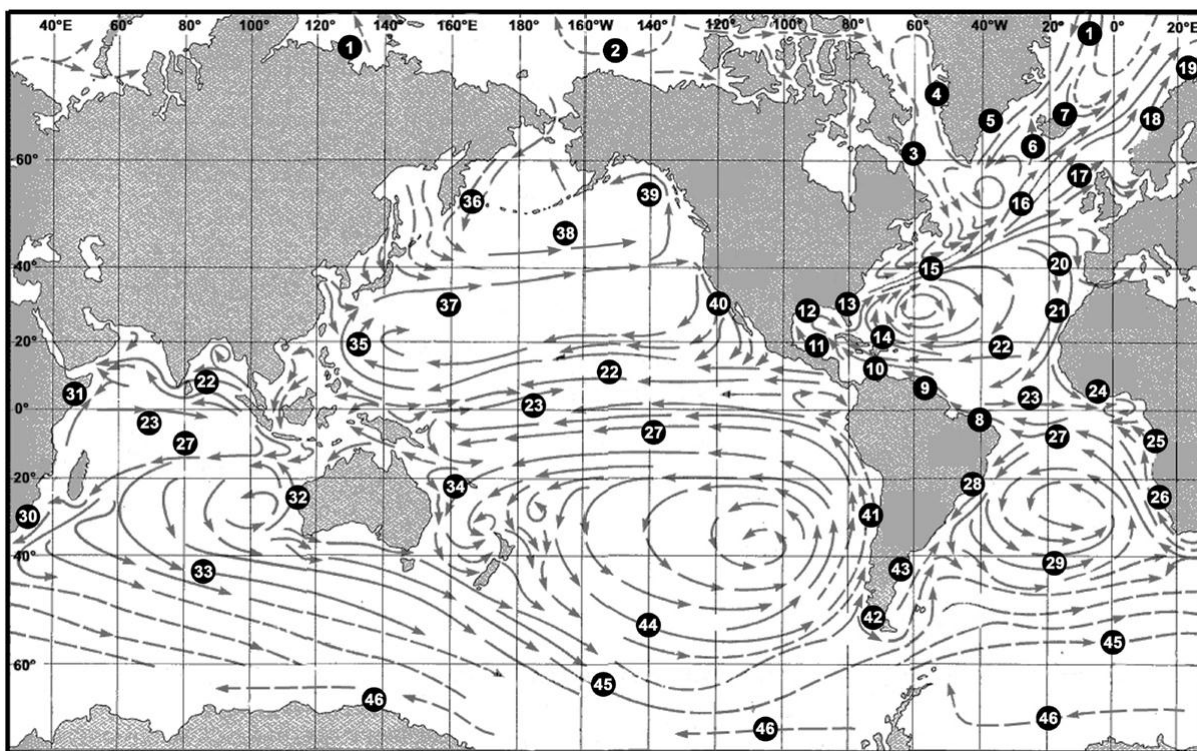


Figura 10. Maiores correntes superficiais oceânicas (C.) (Okolodkov, 2010).

Legenda: 1. Deriva Transártica (Transpolar), 2. Giro de Beaufort, 3. C. de Labrador, 4. C. da Groenlândia Ocidental, 5. C. da Groenlândia Oriental, 6. C. de Irminger, 7. C. da Islândia Oriental, 8. C. Norte do Brasil, 9. C. da Guiana, 10. C. do Caribe, 11. C. de Iucatã, 12. C. de Laço, 13. C. da Flórida, 14. C. das Antilhas, 15. C. do Golfo, 16. C. do Atlântico Norte, 17. C. da Deriva do Atlântico Norte, 18. C. da Noruega, 19. C. do Cabo Norte, 20. C. dos Açores, 21. C. das Canárias, 22. C. Norte Equatorial, 23. Contracorrente Equatorial, 24. C. de Guiné, 25. C. de Angola, 26. C. de Benguela, 27. C. Sul Equatorial, 28. C. do Brasil, 29. C. do Atlântico Sul, 30. C. de Agulhas, 31. C. da Somália, 32. C. de Austrália Ocidental, 33. C. de Índico Sul, 34. C. da Austrália Oriental, 35. C. de Kuroshio, 36. C.

de Oyashio, 37. C. do Pacífico Norte, 38. C. Subártica, 39. C. do Alasca, 40. C. da Califórnia, 41. C. do Peru, 42. C. do Cabo de Hornos, 43. C. das Malvinas, 44. C. do Pacífico Sul, 45. C. Antártica Circumpolar, 46. Deriva dos Ventos do Oeste.

6. CONCLUSÕES:

No litoral brasileiro as populações insulares de golfinhos rotadores apresentam alta diferenciação genética em relação as não insulares. Logo, o fluxo gênico entre elas é restrito.

Como foi verificada a presença de haplótipos muito diferentes em uma mesma área (Fernando de Noronha, populações G2 e G3), pode-se sugerir que exista fidelidade de sítio dos indivíduos correspondentes a estas populações associadas a ilhas. Além disso, a baixa diversidade genética encontrada nestas populações mostra que o fluxo gênico entre os animais é altamente restrito (corroborado pelos valores de F_{st}), o que sugere que a segregação de golfinhos rotadores pode estar relacionada a fatores comportamentais.

Os animais do litoral Sudeste e Sul do Brasil (população G4) apresentaram maior diversidade genética, fator este que pode ser atribuído à alta mobilidade desses animais não insulares.

As populações brasileiras amostradas foram intermediadas por populações de outros oceanos (Índico e Pacífico), o que sugere que o fluxo gênico entre elas possa ser determinado por outros fatores ecológicos e comportamentais. No entanto, para compreender melhor a dinâmica populacional e o padrão de distribuição da espécie no litoral brasileiro, são necessários mais estudos, principalmente envolvendo ilhas adjacentes e análises complementares.



PERGUNTAS A SEREM RESPONDIDAS:

- ❖ Qual é o centro de origem de *Stenella longirostris*? Quando foi essa origem: antes ou depois do fechamento do istmo do Panamá?
- ❖ Como a glaciação do Pleistoceno interferiu na conformação atual das populações de golfinho rotador?
- ❖ Como será o fluxo gênico entre os golfinhos rotadores do litoral oeste e leste do Atlântico Sul?
- ❖ Existem barreiras que delimitam as populações não insulares geograficamente próximas? Quais seriam elas?
- ❖ Como o fluxo gênico ocorre entre populações do Sudeste e Sul em relação à América do Norte, e não ocorre com Fernando de Noronha?
- ❖ Como os golfinhos rotadores de Fernando de Noronha possuem maior similaridade genética com indivíduos do oceano Pacífico, ao invés de apresentar com populações brasileiras?
- ❖ Qual é o fluxo gênico entre as populações de Fernando de Noronha e as ilhas adjacentes?
- ❖ O que torna as populações de Fernando de Noronha relativamente isoladas?

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Para a elaboração de um plano de conservação é necessário, dentre outros dados, que os gestores possuam informações suficientes acerca dos padrões bio e filogeográficos das espécies. Dentre outras aplicações, o conhecimento detalhado das populações é de suma importância para definição de áreas prioritárias, visto que muitas são constituídas por populações com características únicas e de grande relevância para conservação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMARAL, A. R; SEQUEIRA, M.; COELHO, M. M. A first approach to the usefulness of cytochrome c oxidase I barcodes in the identification of closely related delphinid cetacean species. **Marine and Freshwater Research**, v. 58, p. 505-510, 2007.

ANDREWS, K.R.; KARCZMARSKI, L.; AU, W.W.L.; RICKARDS, S.H.; VANDERLIP, C.A. & ROBERT, J.T. Patterns of genetic diversity of the Hawaiian spinner dolphin (*Stenella longirostris*). *Atoll Research Bulletin*, vol. 543, p.65-73. 2006.

ANDREWS, K. R.; KARCZMARSKI, L.; AU, W. W. L.; RICKARDS, S. H.; VANDERLIP, C. A.; BOWEN, B. W.; GRAU, E. G.; ROBERT, J. T. Rolling stones and stable homes: social structure, habitat diversity and population genetics of the Hawaiian spinner dolphin (*Stenella longirostris*). **Molecular Ecology**, v. 19, p. 732-748, 2010.

AVISE, J. C.; ARNOLD J.; BALL, M. R.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, v. 18, p. 489-522, 1987.

BALLANCE, L. T.; PITMAN, R. L.; FIEDLER, P. C. Oceanographic influences on seabirds and cetaceans of the eastern tropical Pacific: A review. **Progress in Oceanography**, v. 69, p. 360-390, 2006.

BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: **Molecular genetic analyses of populations: A Practical Approach**. HOELZEL, A. R. (Ed.). Oxford: IRL Press, 1992. p. 225-269.

CANÃDAS, A.; SAGARMINAGA, R.; GARCIA-TISCAR, S. Cetacean distribution related with depth and slope in the Mediterranean waters off southern Spain. **Deep-Sea Research I**, v. 49, p. 2053-2073, 2002.

CREMER, M. J. **Ecologia e conservação de populações simpátricas de pequenos cetáceos em ambiente estuarino no sul do Brasil**. 2007. 232 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

ENGUIARTE, L. E.; SOUZA, V.; AGUIRRE, X. **Ecologia Molecular**. Delegacion Coyoacan: Instituto Nacional de Ecologia, 2007. 608p.

ESCORZA-TREVINO, S.; DIZON, A. E. Phylogeography, intraspecific structure and sex-biased dispersal of Dall's porpoise, *Phocoenoides dalli*, revealed by mitochondrial and microsatellite DNA analyses. **Mol. Ecol.**, v. 9, p. 1049-1060, 2000.

FARIA, D. M. **Diversidade e estruturação genética de golfinhos-rotadores (*Stenella longirostris*) baseada em uma região do DNA mitocondrial**. 2010. 69 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2010.

FARRO, A. P. C. **Variabilidade genética de golfinhos rotadores (*Stenella longirostris*) a partir de marcadores microssatélites**. 2006. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

FARRO, A. P. C.; ROLLO-JR, M. M.; SILVA-JR, J. M.; MARINO, C. L. A simple protocol of low invasive DNA accessing in *Stenella longirostris* (Cetacea: Delphinidae). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 3, p. 130-134, 2008.

FISH, F. E.; NICASTRO, A. J.; WEIHS, D. Dynamics of the aerial maneuvers of spinner dolphins. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 590-598, 2006.

FU, Y. X. *The χ -calculus*, IEEE Computer Society Press, Advances in Computing Science, Proceedings of the 1997 International Conference on Advances in Parallel and Distributed Computing (APDC'97), p. 74-81, 1997.

GALVER, L. M. **The molecular ecology of spinner dolphins, *Stenella longirostris*: genetic diversity and population structure**. 2002. 211 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Marine Biology), University of California, San Diego, 2002.

GREENWOOD, P. J. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. **Anim. Behav.**, v. 28, p. 1140-1162, 1980.

KIMURA, M. Evolutionary rate at the molecular level. **Nature**, v. 217, p. 624-626, 1968.

KINGSTON, S. E.; ADAMS, L. D.; ROSEL, P. E. Testing mitochondrial sequences and anonymous nuclear markers for phylogeny reconstruction in a rapidly radiating group: molecular systematics of the Delphininae (Cetacea: Odontoceti: Delphinidae). **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, n. 245, p. 1-19, 2009.

MATSUURA, Y. Os ecossistemas brasileiros e os principais macrovetores de desenvolvimento. Subsídio ao Planejamento da Gestão Ambiental. Brasília: Projeto Cenários para o Planejamento da Gestão Ambiental (MMA/PNMA). 1995. 104p.

MOLLER, L. M.; BEHEREGARAY, L. B. Genetic evidence for sex biased dispersal in resident bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). **Mol. Ecol.**, v. 13, p. 1607-1612, 2004.

NORRIS, K. S.; SCHILT, C. R. Cooperative societies in three-dimensional space: on the origins of aggregations, flocks, and schools, with special reference to dolphins and fish. **Ethology and Sociobiology**, v. 9, p. 149-179, 1988.

OKOLODKOV, Y. B. 2010. **Biogeografía Marina**. Universidad Autónoma de Campeche. 217p.

OREMUS, M.; POOLE, M. M.; STEEL, D.; BAKER, C. S. Isolation and interchange among insular spinner dolphin communities in the South Pacific revealed by individual identification and genetic diversity. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 336, p. 275-289, 2007.

PERRIN, W. F.; GILPATRICK-JR, J. W. Spinner dolphin *Stenella longirostris* (Gray, 1828). In: RIGWAY S. H.; HARRISON, S. (Orgs.). **Handbook of Marine Mammals: the first book of dolphins**. London: Academic Press, 1994. p. 99-128.

PICHLER, F. B.; BAKER, C. S. Loss of genetic diversity in the endemic Hector's dolphin due to fisheries-related mortality. **Proc. Roy. Soc.**, v. 267, p. 97-102, 2000.

PICHLER, F.B.; ROBINEAU, D.; GOODALL, R.N.P.; MEYER, M.A.; OLIVARRIA, C. & BAKER, C.S.. Origin and radiation of Southern Hemisphere coastal dolphins (genus *Cephalorhynchus*). *Molecular Ecology*, v.10, p.2215-2223. 2001.

REEVES, R. R.; DAWSON, S. M.; JEFFERSON, T. A.; KARCZMARSKI, L.; LAIDRE, K.; O'CORRY-CROWE, G.; ROJAS-BRACHO, L.; SECCHI, E. R.; SLOOTEN, E.; SMITH, B. D.; WANG, J. Y.; ZHOU, K. 2008. *Cephalorhynchus hectori*. In: **IUCN, 2011**. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. Available in <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 10 August 2011.

SICILIANO, S. Review of small cetaceans and fishery interactions in coastal waters of Brazil. **Reports of the International Whaling Commission**, v. 15, p. 241-250. 1994.

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

VIRICEL, A.; ROSEL, P. E. Evaluating the utility of *cox1* for cetacean species identification. **Marine Mammal Science**, v. 28, n. 1, p. 37-62, 2012.

OBSERVAÇÃO: As referências bibliográficas foram formatadas de acordo com a norma técnica NBR-6023:2002 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

ANEXOS

ANEXO 1

Relação das amostras e suas respectivas localidades, bem como o material disponível e a metodologia de coleta. Essa tabela continua nas próximas duas folhas:

Identificação	Localidade	Material	Coleta
Slo 226^A	Praia do Futuro em Fortaleza/CE	Coração	Encalhe
Slo D01^B	Morro Pintado, Areia Branca/RN	NI	Encalhe
Slo 2002^A	Praia de Boa Viagem/PE	Fígado	Encalhe
Slo 2003^A	Praia de Piedade, Jaboatão dos Guararapes/PE	Fígado	Encalhe
Slo 87 A^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 88 A^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 90 A^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 92 A^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 08 B^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 11 B^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 37 B^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 57 B^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 72 B^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 10 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 11 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 32 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 37 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 45 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 56 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 61 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 62 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 70 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 80 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 93 C^C	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 83^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo 89^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo 100^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo 101^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo 104^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo 105^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo 106^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe

Slo 107^B	Fernando de Noronha/PE	NI	Encalhe
Slo A26^B	Ilha do Meio (Mar de Dentro), Noronha/PE	Músculo	Encalhe
Slo A27^B	Ilha Dois Irmãos (Mar de Dentro), Noronha/PE	Fígado	Encalhe
Slo B29^B	Ilha do Meio (Mar de Dentro), Noronha/PE	Músculo	Encalhe
Slo B30^B	Baía do Sueste (Mar de Fora), Noronha/PE	Fígado	Encalhe
Slo B31^B	Mar de Fora, Noronha/PE	Fígado	Encalhe
Slo B32^B	Entre Ilhas (Mar de Dentro), Noronha/PE	Músculo	Encalhe
Slo C30^B	Cacimba do Padre (Mar de Dentro), Noronha/PE	Fígado	Encalhe
Slo C36^B	Entre Ilhas (Mar de Dentro), Noronha/PE	Fígado	Encalhe
Slo C37^B	Alagados (Mar de Fora), Noronha /PE	Músculo	Encalhe
Slo C40^B	Entre Ilhas (M. Cuscuz), Noronha/PE	Fígado	Encalhe
Slo 63 C^{C*}	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 76 C^{C*}	Fernando de Noronha/PE	Pele	Raspagem
Slo 01 ES^D	Meaípe, Guarapari, Espírito Santo	Músculo	Encalhe
Slo 02 ES^D	Praia de Boa Vista, Maratáizes, Espírito Santo	Músculo	Encalhe
Slo 26 RJ^E	Rio de Janeiro, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 30 RJ^E	Rio de Janeiro, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 31 RJ^E	Rio de Janeiro, Talude 3	Músculo	Balestra
Slo 32 RJ^E	Rio de Janeiro, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 33 RJ^E	Rio de Janeiro, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 34 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 35 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 36 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 37 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 38 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 40 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 41 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 42 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 43 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 44 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 45 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 46 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 47 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 48 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 49 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra

Slo 50 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 51 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 52 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 53 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 54 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 55 RJ^F	Rio de Janeiro/RJ	Pele	Balestra
Slo 13 SP^E	São Paulo, Talude 1	Pele	Balestra
Slo 11 PR^E	Paraná, Talude 1	Pele	Balestra
Slo 12 PR^E	Paraná, Talude 1	Pele	Balestra
Slo 22 PR^E	Paraná, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 23 PR^E	Paraná, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 24 PR^E	Paraná, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 07 SC^E	Santa Catarina, Talude 1	Pele	Balestra
Slo 08 SC^E	Santa Catarina, Talude 1	Pele	Balestra
Slo 17 SC^E	Santa Catarina, Talude 3	Pele	Balestra
Slo 18 SC^E	Santa Catarina, Talude 3	Pele	Balestra

Legenda: CE: Ceará; RN: Rio Grande do Norte; PE: Pernambuco; ES: Espírito Santo; RJ: Rio de Janeiro; SP: São Paulo. PR: Paraná. SC: Santa Catarina. A: coletada em 2004. B: coletada em 2006. C: coletada em 2009.

NI: Não Identificado (material muito degradado e/ou sem identificação).

*: corresponde estruturação significativa encontrada por Faria (2010) em seu estudo de diversidade genética da população de Fernando de Noronha/PE.

^A: cedidas pelo Projeto Aquasis.

^B: cedidas pelo Projeto Golfinho Rotador.

^C: coletadas em 2004, 2006 e 2009 para o projeto da pesquisadora Dra. Ana Paula Cazerta Farro.

^D: cedidas pelo Instituto Orca.

^E: coletadas nos cruzeiros realizados Instituto Aqualie e Universidade Federal do Rio Grande/FURG.

^F: coletadas no cruzeiro realizado pelo projeto Cenpes/Petrobrás.

ANEXO 2

Coordenadas geográficas (latitude e longitude) de cada amostra. Essa tabela continua nas próximas duas folhas:

NOME	LOCALIDADE	LATITUDE	LONGITUDE	SEXO
Slo 226	Praia do Futuro em Fortaleza/CE	-3,717	-38,543	M
Slo D01	Natal/RN	-5,795	-35,209	F
Slo 2002	Praia de Boa Viagem, Recife/PE	-8,085	-34,907	M
Slo 2003	Praia de Piedade, Jaboatão dos Guararapes/PE	-8,112	-35,015	F
Slo 87 A	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	-
Slo 88 A	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	-
Slo 90 A	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	-
Slo 92 A	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	-
Slo 08 B	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 11 B	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 37 B	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 57 B	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 72 B	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 10 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 11 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 32 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 37 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 45 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 56 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 61 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 62 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 70 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 80 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 93 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 83	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	-
Slo 89	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	-

Slo 100	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 101	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 104	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 105	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 106	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 107	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo A26	Ilha do Meio (Mar de Dentro), Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo A27	Ilha Dois Irmãos (Mar de Dentro), Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo B29	Ilha do Meio (Mar de Dentro), Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo B30	Baía do Sueste (Mar de Fora), Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo B31	Mar de Fora, Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo B32	Entre Ilhas (Mar de Dentro), Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo C30	Cacimba do Padre (Mar de Dentro), Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo C36	Entre Ilhas (Mar de Dentro), Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo C37	Alagados (Mar de Fora), Noronha /PE	-3,856	-32,428	F
Slo C40	Entre Ilhas (M. Cuscuz), Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 63 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	M
Slo 76 C	Fernando de Noronha/PE	-3,856	-32,428	F
Slo 01 ES	Meaípe, Guarapari, ES	-20,667	-40,498	-
Slo 02 ES	Marataízes, Praia de Boa Vista, ES	-21,043	-40,824	-
Slo 26 RJ	Rio de Janeiro, Talude 3	-23,479	-41,110	-
Slo 30 RJ	Rio de Janeiro, Talude 3	-23,803	-41,453	-
Slo 31 RJ	Rio de Janeiro, Talude 3	-23,803	-41,453	-
Slo 32 RJ	Rio de Janeiro, Talude 3	-23,803	-41,453	-
Slo 33 RJ	Rio de Janeiro, Talude 3	-23,753	-41,773	-
Slo 34 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	F
Slo 35 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	F
Slo 36 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	F
Slo 37 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	M
Slo 38 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	F

Slo 40 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	M
Slo 41 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	F
Slo 42 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-22,534	-40,313	M
Slo 43 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	M
Slo 44 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	M
Slo 45 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	F
Slo 46 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	-
Slo 47 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	F
Slo 48 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	M
Slo 49 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	-
Slo 50 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	F
Slo 51 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,383	-41,108	M
Slo 52 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,560	-41,298	F
Slo 53 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,560	-41,298	M
Slo 54 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,560	-41,298	F
Slo 55 RJ	Bacia de Campos, Rio de Janeiro	-23,560	-41,298	-
Slo 13 SP	São Paulo, Talude 1	-25,214	-44,799	-
Slo 11 PR	Paraná, Talude 1	-25,835	-45,337	-
Slo 12 PR	Paraná, Talude 1	-25,835	-45,337	-
Slo 22 PR	Paraná, Talude 3	-25,705	-45,140	-
Slo 23 PR	Paraná, Talude 3	-25,705	-45,140	-
Slo 24 PR	Paraná, Talude 3	-25,705	-45,140	-
Slo 07 SC	Santa Catarina, Talude 1	-28,158	-46,725	-
Slo 08 SC	Santa Catarina, Talude 1	-28,158	-46,725	-
Slo 17 SC	Santa Catarina, Talude 3	-26,851	-46,194	-
Slo 18 SC	Santa Catarina, Talude 3	-26,851	-46,194	-

Legenda: CE: Ceará; RN: Rio Grande do Norte; PE: Pernambuco; ES: Espírito Santo; RJ: Rio de Janeiro; SP: São Paulo. PR: Paraná. SC: Santa Catarina. A: coletada em 2004. B: coletada em 2006. C: coletada em 2009. F: Fêmea. M: Macho.

ANEXO 3

Protocolo de extração com a resina Chelex a 5%

Soluções:

- ❖ Chelex (Sigma) diluído em ddH₂O a uma concentração de 5%.

1. Colocar 200µL de Chelex 5% nos tubos.
2. Com auxílio de uma pinça e um bisturi, cortar o tecido em cima de um Parafilm apoiado em uma placa de Petri. Use água sanitária e álcool para esterilizar a pinça e o bisturi cada vez que trocar de tecido. Adicione o tecido picado a um tubo de 1,5mL.
3. Colocar um pedaço do tecido no Chelex 5%, no meio de onde as bolinhas estão concentradas.
4. Colocar os tubos em banho-seco a 65°C por 16 horas.
5. Centrifugar os tubos a 14000 rpm por 3 minutos.
6. Transferir o líquido sem tecido e bolinhas para um novo tubo.

ANEXO 4

Protocolo com solução salina adaptado por David Vieites – U.C. Berkeley

Soluções:

- ❖ Tampão de extração*
- ❖ ddH₂O estéril
- ❖ SDS 10%
- ❖ Proteinase K 20mg/ML
- ❖ NaCl (5M)
- ❖ Isopropanol
- ❖ Etanol 80%

1. Com auxílio de uma pinça e um bisturi, corte o tecido em cima de um Parafilm apoiado em uma placa de Petri. Use água sanitária e álcool para esterilizar a pinça e o bisturi cada vez que trocar de tecido. Adicione o tecido picado a um tubo de 1,5mL.
2. Adicionar a solução de lise aos tubos (410µL de buffer de extração + 80µL SDS 10% + 15µL proteinase K (20µ/µL). (opcional: + 2µL Rnase A). OBS: Se for deixar os tecidos digerindo overnight, acrescentar apenas 10µL de proteinase K.
3. Incubar a 55°C por aproximadamente 2 horas (vortexar a cada 10 minutos) até a digestão do tecido.
4. Centrifugar a 13.000 rpm por 5 minutos.
 - Transferir o sobrenadante (líquido) para um novo tubo de 1,5mL.
 - Adicionar 180µL NaCl (5M).
 - Inverter o tubo 50 vezes para homogeneizar. Um precipitado branco será formado. Se a coloração do precipitado não for branca, o reagente NaCl está velho.
5. Centrifugar a 13.000 rpm por 5 minutos.
 - Transferir o sobrenadante para um novo tubo (manter em um bloco resfriado) e adicionar 1.000µL de isopropanol gelado;
 - Misturar gentilmente.
6. Centrifugar a 13.000 rpm por 7 minutos.
 - Descartar sobrenadante.
 - Adicionar 250µL etanol 80%.
 - Inverter 50 vezes para misturar.
7. Repetir o passo nº6.

8. Centrifugar a 13.000 rpm por 7 minutos.
 - Descartar sobrenadante.
 - Remover álcool completamente no banho a 50-55°C.
 9. Ressuspender o DNA em 50-100µL de água ultrapura ou tampão TE.
- OBS: Sem pellet colocar 25µL. Com muito pellet colocar até 200µL.
10. Deixar na geladeira *overnight* (4°C) para diluir a pellet.

* Tampão (Buffer) de Extração (Autoclavar):

- ❖ 1M Tris (pH= 8) 0.5mL
- ❖ 5M NaCl 1.0mL
- ❖ 0.5M EDTA (pH= 8) 1.0mL
- ❖ ddH₂O estéril 47.5mL

Observações: Os reagentes e princípios aplicados são os de Bruford *et al.* (1992). David Vieites adequou algumas quantidades, materiais e procedimentos para facilitar a extração.

BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: **Molecular genetic analyses of populations: A Practical Approach**. HOELZEL, A. R. (Ed.). Oxford: IRL Press, 1992. p. 225-269.

ANEXO 5

Descrição dos marcadores mitocondriais

❖ Região controle (D-loop):

- Primers: KRApLp e DLp.

- Sequência dos primers:

Foward: KRApLp 5' TGTAACACGACAGCCAGTACACCCAAAGCTGGAATTC 3'

Reverse: DLp5 5' CCATCGWGATGTCTTATTTAAGRGGAA 3'

Observação: A sequência dos primers KRApLp e DLp5 foi desenvolvida por Pichler *et al.* (2001) e incrementado por Andrews *et al.* (2006).

- Referencial bibliográfico:

ANDREWS, K.R.; KARCZMARSKI, L.; AU, W.W.L.; RICKARDS, S.H.; VANDERLIP, C.A. & ROBERT, J.T. Patterns of genetic diversity of the Hawaiian spinner dolphin (*Stenella longirostris*). *Atoll Research Bulletin*, vol. 543, p.65-73. 2006.

PICHLER, F.B.; ROBINEAU, D.; GOODALL, R.N.P.; MEYER, M.A.; OLIVARRIA, C. & BAKER, C.S.. Origin and radiation of Southern Hemisphere coastal dolphins (genus *Cephalorhynchus*). *Molecular Ecology*, v.10, p.2215-2223. 2001.

❖ Citocromo Oxidase subunidade I (COI):

- Primers: COX1F e COX1R

- Sequência dos primers:

Foward: COX1F 5' TGCCTACTCGGCCATTTTAC 3'

Reverse: COX1R 5' TGAAACCCAGGAAGCCAATA 3'

- Referencial bibliográfico:

AMARAL, A. R; SEQUEIRA, M.; COELHO, M. M. A first approach to the usefulness of cytochrome c oxidase I barcodes in the identification of closely related delphinid cetacean species. **Marine and Freshwater Research**, v. 58, p. 505-510, 2007.

ANEXO 6

Relação das amostras depositadas no GenBank utilizadas neste estudo, separadas de acordo com o autor, a localidade correspondente a sequência e a região mitocondrial correspondente:

❖ D-LOOP

GALVER, 2002

AY989808.1 Stenella longirostris isolate SWFSC13463 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989773.1 Stenella longirostris isolate SWFSC9857 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989772.1 Stenella longirostris isolate SWFSC9856 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989771.1 Stenella longirostris isolate SWFSC9854 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989770.1 Stenella longirostris isolate SWFSC9849 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989769.1 Stenella longirostris isolate SWFSC9848 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989766.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC9545 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989765.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC9544 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989764.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC9543 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989763.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC9542 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989762.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7202 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989761.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7201 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989760.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7200 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989759.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7199 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989758.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7198 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989757.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7197 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989756.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7196 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989755.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7195 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989754.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7194 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989753.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7193 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989752.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7192 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989751.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7191 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989750.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7190 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989749.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7189 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989748.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7188 control region, partial sequence; mitochondrial

AY989747.1 Stenella longirostris longirostris isolate SWFSC7187 control region, partial sequence; mitochondrial

<u>AY989746.1</u>	<i>Stenella longirostris longirostris</i> isolate SWFSC7186 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989745.1</u>	<i>Stenella longirostris longirostris</i> isolate SWFSC7185 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989744.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC5538 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989743.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC5537 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989721.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2757 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989720.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2756 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989719.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2689 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989718.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2684 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989717.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2680 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989716.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2617 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989715.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2616 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989714.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2615 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989713.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2614 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989712.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2613 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989711.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2612 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989710.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2611 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989709.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2610 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989708.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2609 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989707.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2608 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989706.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2603 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989705.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2532 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989704.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC2528 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989664.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC1722 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989657.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC605 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989656.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC604 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989655.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC594 control region, partial sequence; mitochondrial
<u>AY989654.1</u>	<i>Stenella longirostris</i> isolate SWFSC462 control region, partial sequence; mitochondrial

OREMUS et al., 2007

EF558767.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo04FP83 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558766.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo04FP82 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558765.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo04FP79 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558764.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo04FP78 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558763.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo04FP70 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558762.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo04FP59 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558761.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo03FP41 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558760.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo03FP37 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558759.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo03FP34 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558758.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo03FP33 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558757.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo03FP32 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558755.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo03FP18 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558754.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP49 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558753.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP45 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558752.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP38 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558751.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP36 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558750.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP27 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558749.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP22 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558748.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP20 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558747.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP15 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558746.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP11 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558745.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP09 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558743.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP07 D-loop, partial sequence; mitochondrial

EF558742.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype Slo02FP06 D-loop, partial sequence; mitochondrial

GU253256.1 *Stenella longirostris longirostris* haplotype HW01 control region, partial sequence; mitochondrial

❖ COI

VIRICEL *et al.*, 2012

EU496335.1 *Stenella longirostris* voucher SEFSC:MMMGL:MMES97145GA cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial cds mitochondrial

EU496334.1 *Stenella longirostris* voucher SEFSC:MMMGL:MMES97144GA cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial CDs mitochondrial

EU496333.1 *Stenella longirostris* voucher SEFSC:MMMGL:MML0201 cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial CDs mitochondrial

EU496332.1 *Stenella longirostris* voucher SEFSC:MMMGL:1Satt001 cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial CDs mitochondrial

EU496331.1 *Stenella longirostris* voucher SEFSC:MMMGL:GA141 cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial CDs mitochondrial

International Barcode of Life (iBOL)

GU674138.1 Cetacea sp. BOLD:AAG1886 voucher BW-A7339 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial CDs mitochondrial
