

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS- BACHARELADO**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA
DE GOLFINHO-COMUM-DE-BICO-CURTO NA
BACIA DE SANTOS**

RAYELLE PANCIERI LIMA

SÃO MATEUS/ES

2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS- BACHARELADO**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA
DE GOLFINHO-COMUM-DE-BICO-CURTO NA
BACIA DE SANTOS**

RAYELLE PANCIERI LIMA

Monografia de conclusão de curso apresentada ao Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS.

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Paula Cazerta Farro

SÃO MATEUS/ES

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Rayelle Pancieri Lima

Título: Diversidade e estruturação genética de golfinho-comum-de-bico-curto na Baía de Santos.

Monografia do Curso de Ciências Biológicas
(Bacharelado) Defendida e aprovada em 10/08/2022

Com nota 9,5 pela comissão julgadora:

Orientador(a) Dra Ana Paula Cazerta Farro

Prof. Dr. Maurício Hostim Silva
CEUNES - UFES
SIAPE: 1651997
ICTIOLOGIA

Dr. Maurício Hostim-Silva

MSc. Heloisa Helena Linhares

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus acima de todas as coisas. Obrigada pela sua infinita misericórdia Jesus. Sou grata pela sabedoria, saúde, amor e carinho. Sempre estás comigo nos melhores e piores momentos. Sei que sempre posso deixar tudo em tuas mãos. Obrigada por moldar meu espírito todos os dias. Te amo pai.

Agradeço à minha amada família. Obrigada papai e mamãe por nunca me deixarem faltar nada. Obrigada por serem os melhores pais que eu poderia ter. Sou grata por todos os ensinamentos e instruções. Apesar de todos os problemas, vocês sempre estiveram presentes, e é difícil demonstrar todo o carinho que sinto por vocês, mas eu simplesmente amo você papai, és meu super herói. Mamãe é o meu grande refúgio. Amo os dois, pra sempre.

Minha querida irmãzinha, minha Sinha. Obrigada por estar junto comigo em todos os momentos, desde pequenas passamos por muitas dificuldades, mas juntas conseguimos fortalecer nossos laços. A você que sempre esteve me incentivando e aconselhando, parte do que sou hoje é mérito seu. Obrigada por ajudar a moldar meu caráter, a me tornar uma pessoa melhor cada dia. Te amo pequena.

Agradeço à minha avó, minha grande rainha. Sou grata a Deus pela sua existência, és uma das pessoas mais importantes para mim. Sou grata aos meus tios e tias, obrigada por todo carinho. Sou grata aos meus primos e primas, em especial Valéria pelos conselhos e conversas jogadas fora e Matheus pra sempre minha dupla.

Agradeço imensamente a minha querida orientadora Ana Paula. Obrigada por ter me dado a oportunidade de aprender um pouco mais todos os dias. Obrigada por todos ensinamentos e conselhos que me permitiram crescer e me tornar alguém melhor. Obrigada por fazer parte da minha história.

Agradeço à minha co-orientadora Manu. Obrigada por toda ajuda disponibilizada em meio aos meus momentos de medo e confusão. Sou grata pela confiança que você colocou em mim.

Gostaria de agradecer às minhas colegas do GECOM pelos ensinamentos e atenção disponibilizada nos procedimentos: Karla, Lorena, Mylla, Fernanda, Vanessa, Dahiani e Drienne.

Quero agradecer em especial a Joice, Sandieli e Gabriela. Obrigada por ouvirem minhas reclamações, questionamentos e indecisões. Grata por sempre estarem disponíveis para me dar

um ombro amigo, vocês são minhas parceiras de choros, risadas e profissão. Agradeço por estarmos juntas.

Aos meus amigos de Montanha e do IFES, obrigada por sempre estarem presentes na minha vida. Em especial Kelly, Amabilly, Mayne e Iara, obrigada meninas por serem minhas amigas, amo muito vocês.

Agradeço a Sigrid por ter entrado na minha vida, mesmo que tenhamos convivido por pouco tempo, ainda me recordo de tudo que me ensinou. Mãe e irmã, Sigrid Berguer, obrigada por ter nascido neste mundo, sinto falta de nossas histórias. Te amo irmã.

Agradeço a Édlen e Gabi por todo companheirismo. Obrigada pela amizade meninas. Nos conhecemos a pouco tempo, mas mesmo assim estávamos destinadas a nos encontrar. Sei disso porque Ele tem tudo premeditado.

Agradeço a todos os meus amigos que a UFES me proporcionou, em especial Rafaelly, Lórem, Yasmim e Izabella. Sou grata a vocês por todas as risadas, brincadeiras e momentos de paz.

Agradeço em especial ao meu amigo Jackson que está sendo um anjo na minha vida. Obrigada por sempre me ouvir e nunca me deixar sozinha, sou grata por seu sorriso, suas piadas, mal humor e momentos sarcásticos. Agradeço todos os dias por sua vida. Te amo.

Agradeço ao meu amigo Fabrício que desde 2018 emana uma luz indescritível. Obrigada por sempre estar do meu lado e me aceitar como sou. Obrigada por me passar calma de espírito. Te amo pra sempre.

Agradeço aos membros da banca, Maurício Hostim e Heloísa Helena Linhares por aceitarem o convite.

Aos colaboradores e co-autores deste estudo, que disponibilizaram as sequências: PMCBS- Projeto de Monitoramento de cetáceos na Bacia de Santos e SCA - Socioambiental Consultores Associados.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- OBJETIVOS.....	4
Objetivos gerais.....	4
Objetivos específicos.....	4
3- MATERIAIS E MÉTODOS.....	5
Coleta de amostras.....	5
Extração, Amplificação, Purificação e Sequenciamento do DNA.....	6
Alinhamento e Edição.....	7
Análise da diversidade genética.....	7
Sequências adicionais.....	8
4- RESULTADOS.....	8
Bacia de Santos.....	8
Oceano Atlântico Sudoeste X Oceano Atlântico Norte	11
5- DISCUSSÃO.....	13
Bacia de Santos.....	13
Oceano Atlântico Sudoeste X Oceano Atlântico Norte	16
6- CONCLUSÃO.....	18
7- REFERÊNCIAS.....	19

SUMÁRIO DE TABELAS

- Tabela 1.** Localidades, Número de sequências (N), acesso e referências das sequências obtidas no GenBank para o marcador mitocondrial D-loop da espécie *Delphinus delphis*.....**8**
- Tabela 2.** Número amostral (n), número de haplótipos (H), diversidade haplotípica (h), diversidade nucleotídica (π), D de Tajima (D) e Fs de Fu (Fs) para *Delphinus delphis* no litoral de São Paulo (SP) e Rio de Janeiro (RJ). Valores significativos estão apresentados em negrito.....**9**
- Tabela 3.** Diversidade haplotípica (h) e diversidade nucleotídica (π) para *Delphinus delphis* entre São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Mar Mediterrâneo e Leste do Atlântico Norte (MS), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e Arquipélagos Açores e Madeira (AAM).....**11**
- Tabela 4.** Valores de F_{ST} encontrados para as localidades de São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Mar Mediterrâneo e leste do Atlântico Norte (MS), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e Arquipélagos Açores e Madeira (AAM) para *Delphinus delphis*. Os valores em negrito são considerados significativos.....**13**
- Tabela 5.** Valores de diversidade genética para diferentes espécies de odontocetos no Brasil para a região do mtDNA (D-loop), sendo apresentados o número amostral (n), diversidade haplotípica (h) e diversidade nucleotídica (π) encontrados em diferentes estudos.**15**

SUMÁRIO DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica dos golfinhos-comum-de-bico-curto em amarelo (IUCN, 2021).....	1
Figura 2. Golfinho-comum-de-bico-curto (<i>Delphinus delphis</i>), filhote e adulto (JEFFERSON et al., 2007).....	2
Figura 3. Localização das unidades amostrais de <i>Delphinus delphis</i> na Bacia de Santos, Brasil. Os círculos verdes representam as amostras em São Paulo, e em rosa no Rio de Janeiro.....	6
Figura 4. Rede de haplótipos de <i>Delphinus delphis</i> das amostras da Bacia de Santos, São Paulo e Rio de Janeiro, representadas pelas cores verde e rosa. O tamanho dos círculos remete a frequência de surgimento dos haplótipos nos diferentes indivíduos.....	9
Figura 5. Análise de distribuição <i>Mismatch</i> do mtDNA para a espécie <i>Delphinus delphis</i> nas populações de São Paulo (gráfico A) e Rio de Janeiro (gráfico B). O eixo x mostra o número de diferenças entre os pares de haplótipos, enquanto Y mostra a frequência das diferenças. Colunas indicam valores observados e linhas os valores simulados.....	10
Figura 6. Rede de haplótipos de <i>Delphinus delphis</i> das áreas de São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Mar Mediterrâneo e Leste do Atlântico Norte (MS), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e Arquipélagos Açores e Madeira (AAM) representados pelas cores verde, rosa, azul, laranja e amarelo, respectivamente. O tamanho dos círculos corresponde à frequência dos haplótipos.	12

RESUMO

A espécie *Delphinus delphis*, popularmente conhecida como golfinho-comum-de-bico-curto, é um pequeno cetáceo pertencente à família Delphinidae. Possui ampla distribuição nos mares temperados, subtropicais e tropicais dos oceanos Atlântico e Pacífico. Está classificada como “Pouco Preocupante” na lista vermelha de espécies ameaçadas da IUCN e como Dados Deficientes (DD) de acordo com o Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Até o momento, estudos de estrutura populacional de *Delphinus delphis* foram realizados somente nos oceanos Pacífico e Atlântico Norte. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de diversidade e estruturação genética de golfinhos-comum na Bacia de Santos (BS), Oceano Atlântico Sudoeste, e compará-los através de análises com sequências do Oceano Atlântico Norte. Foram avaliados 30 indivíduos coletados a partir do método de biópsia e 120 sequências presentes no GenBank. O fragmento avaliado da região controle do DNA mitocondrial (D-loop) para os indivíduos amostrados na Bacia de Santos foi de 696 pb. Quando foram incluídas as demais sequências provenientes do GenBank, o fragmento, após alinhamento, foi de 320 pb. Foi observada moderada estruturação (F_{ST}) entre os golfinhos-comum-de-bico-curto de São Paulo (SP) e Rio de Janeiro (RJ) ($F_{ST}= 0,208$; $p= 0,001$). A população de SP apresentou moderada diversidade haplotípica ($h = 0,602 \pm 0,130$) e baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,0011 \pm 0,0009$), enquanto a do RJ dispôs de alta diversidade haplotípica ($h = 0,808 \pm 0,078$) e baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,00209 \pm 0,0014$). Na Análise de Distribuição *Mismatch* para as duas populações foram observadas curvas unimodais, sugerindo que estas populações estão passando por recentes expansões populacionais. Foi verificada alta diferenciação entre os animais presentes em São Paulo e Rio de Janeiro com três localidades respectivamente: Mar Mediterrâneo e leste do Atlântico Norte (SP: $F_{ST}= 0,92$; RJ: $F_{ST}= 0,87$ $p= 0,00$), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (SP: $F_{ST}= 0,51$; RJ: $F_{ST}= 0,49$ $p= 0,00$) e Arquipélagos Açores e Madeira (SP: $F_{ST}= 0,42$; RJ: $F_{ST}= 0,41$ $p= 0,00$). A rede haplotípica entre SP e RJ apresentou um padrão próximo ao tipo estrela e entre as demais localidades não há compartilhamento de haplótipos com os animais presentes no Oceano Atlântico Sudoeste. Esse estudo evidencia a possível presença de duas populações diferentes de *Delphinus delphis* na Bacia de Santos com moderada diversidade mitocondrial, aumentando o conhecimento da espécie na região e sugerindo a continuidade das análises com um maior número amostral para o Oceano Atlântico Sul.

Palavras-chave: Cetáceos. Delphinidae. D-loop. Variabilidade genética.

ABSTRACT

The species *Delphinus delphis*, popularly known as short-beaked common dolphin is a small cetacean belonging to the Delphinidae family. It has a wide distribution in temperate, subtropical and tropical seas of the Atlantic and Pacific oceans. It is classified as “Least Concern” on the IUCN Red List of Threatened Species, in addition, it is considered Data Deficient (DD) according to the Red Book of Brazilian Fauna Threatened of Extinction. Population structure studies of *Delphinus delphis* were carried out only in the Pacific and North Atlantic oceans. The objective of this study was to evaluate the levels of diversity and genetic structure of common dolphins in the Santos Basin (BS), Southwest Atlantic Ocean, and to compare them through analyzes with sequences from North Atlantic Ocean. We evaluated thirty individuals collected from the biopsy method and 120 sequences present in GenBank. There evaluated fragment of the mitochondrial DNA control region (D-loop) for the individuals sampled in the Santos Basin was 696 bp, when the other sequences from GenBank were included, the final fragment was 320 bp. Moderate structuring (F_{ST}) was observed among the short-beaked common dolphins from São Paulo (SP) and Rio de Janeiro (RJ) ($F_{ST}= 0,208$; $p= 0,001$). Individuals from SP showed moderate haplotypic diversity ($h = 0,602 \pm 0,130$) and low nucleotide diversity ($\pi = 0,0011 \pm 0,0009$), those from RJ had high haplotypic diversity ($h = 0,808 \pm 0,078$) and low nucleotide diversity ($\pi = 0,00209 \pm 0,0014$). In the Mismatch Distribution Analysis for the two populations, unimodal curves were observed, suggesting that these populations are undergoing recent population expansions. High differentiation was observed between the animals present in the Southwest Atlantic Ocean with three locations respectively: Mediterranean Sea and eastern North Atlantic (SP: $F_{ST}= 0,92$; RJ: $F_{ST}= 0,87$ $p= 0,00$), North and Northeast Atlantic Ocean (SP: $F_{ST}= 0,51$; RJ: $F_{ST}= 0,49$ $p= 0,00$) and Azores and Madeira Archipelagos (SP: $F_{ST}= 0,42$; RJ: $F_{ST}= 0,41$ $p= 0,00$). The haplotypic network between SP and RJ showed a pattern close to the star type and among the other locations there is no sharing of haplotypes with the animals present in the Southwest Atlantic Ocean. This study evidences the possible presence of two different populations of *Delphinus delphis* in the Santos Basin with moderated mitochondrial diversity, increasing the knowledge of the species in the region, and it is suggested to continue the analysis with a larger sample number for the South Atlantic Ocean.

Keywords: Cetaceans. Delphinidae. D-loop. Genetic variability.

1. INTRODUÇÃO

O golfinho-comum-de-bico-curto *Delphinus delphis* Linnaeus, 1758 é um mamífero da Ordem Cetartiodactyla, Subordem Odontoceti e da família Delphinidae, sendo um cetáceo pequeno com ampla distribuição em mares temperados, subtropicais e tropicais dos oceanos Atlântico e Pacífico (MACDONALD & BARRETT, 1993; PERRIN et al., 2009). Geralmente ocorre em águas costeiras e zonas mais oceânicas, preferindo regiões de alta produtividade como montes submarinos e zonas íngremes como taludes (EVANS, 1994; JEFFERSON et al., 2007; BRITO et al., 2009). Realizam mergulhos de curta duração (até 8 minutos) ao redor de 280 metros de profundidade, atingindo cerca de 50 km por hora (MACDONALD & BARRETT, 1993; NOREN & WILLIAMS, 2000). Esses animais são considerados ativos e sociáveis, visto que viajam em grupos e mostram padrões não aleatórios de associação entre indivíduos, ou seja, os agrupamentos ocorrem independentemente das relações genéticas, mas com possíveis segregações de gênero e idade (BRUNO et al., 2004).



Figura 1. Distribuição geográfica dos golfinhos-comum-de-bico-curto em amarelo (IUCN, 2021).

Os golfinhos do gênero *Delphinus* possuem um padrão de coloração único, havendo duas linhas que se cruzam em forma de X, envolvendo quatro cores diferentes: o dorso apresenta cor negra, o ventre branco, região do tórax amarelo e cinza na parte posterior do flanco. Mitchell (1970) atribuiu esse padrão como o mais complexo e especializado dentre os cetáceos. A espécie *Delphinus delphis* está classificada na lista vermelha de espécies ameaçadas da IUCN como “Pouco Preocupante” e, de acordo com o Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção publicado pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (MMA, 2018), é classificado como dados deficientes (DD). Ações antropogênicas nos oceanos podem afetar a conservação da espécie no ambiente marinho, deixando lacunas sobre estimativas confiáveis do tamanho e densidade da população (MARQUES et al., 2012).



Figura 2. Golfinho-comum-de-bico-curto (*Delphinus delphis*), filhote e adulto (JEFFERSON et al., 2007).

De acordo com Perrin (2009), as fêmeas desta espécie medem cerca de 1,93 metros de comprimento, já os machos, podem medir até 2,30 metros, pesando mais de 100 kg, no entanto esses tamanhos variam geograficamente. As fêmeas atingem primeiro a maturidade sexual, entre 5 a 9 anos, com média de 1,79 metros de comprimento, já os machos de 8 a 11 anos com cerca de 1,88 metros (MURPHY & ROGAN, 2006). A época de acasalamento é entre julho e outubro e o período gestacional das fêmeas dura cerca de 10-11 meses, ademais, o período de lactação pode chegar a durar cerca de 10 meses após o parto (DUGUY & ROBINEAU, 1987; MURPHY, 2004).

O golfinho-comum-de-bico-curto possui uma dieta composta por alimentos ricos em calorias (SPITZ et al., 2012; SANTOS et al., 2013), na qual suas presas preferenciais são espécies de cefalópodes e pequenos peixes pelágicos em cardumes (ZHOU et al., 2001;

BROPHY et al., 2009). Esta espécie se beneficia dos cardumes trazidos para a superfície ou descartados pela atividade pesqueira, visto que suas presas são muito comercializadas, contudo, esses cetáceos estão mais expostos a eventos de captura acidental em artes de pesca de profundidade (rede de arrasto e pesca polivalentes) ou costeiras (pesca de cerco) (GOETZ et al., 2015). Segundo Silva e Sequeira (2003), a mortalidade de populações de golfinho-comum-de-bico-curto pode representar 44% a 54% por interação pesqueira, ademais, sua cadeia alimentar está ameaçada por conta da sobreexploração de suas presas (BEARZI et al., 2003).

A evolução e os processos ambientais afetam a diversidade genética e, portanto, a probabilidade de sobrevivência da população (ARENAS et al., 2014). Contudo, a Genética da Conservação busca esclarecer tópicos que são importantes sobre a biologia das espécies, fazendo uso de análises moleculares para estudos de biodiversidade e favorecendo melhores resultados de manejo e conservação (FRANKHAM et al., 2002). O uso de marcadores moleculares em pesquisas relacionadas à conservação, não apenas ajuda a manejar populações, mas também aumenta a compreensão da estrutura populacional, relações filogenéticas, diversidade genética e aspectos biológicos e evolutivos dos animais (WILSON et al., 1985; DIZON et al., 1991).

Em um estudo taxonômico de diferenciação morfológica e molecular entre *Delphinus delphis* e *Delphinus capensis* utilizando-se o marcador mitocondrial citocromo b (Cyt-B), Cunha et al. (2015) observaram que todos os indivíduos amostrados no Oceano Atlântico Sudoeste, desde o Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul e Argentina, se tratavam da espécie *Delphinus delphis* com altos valores de diversidade haplotípica ($h= 0,973$) e baixa diversidade nucleotídica ($\pi= 0,006$). Em outros estudos também foram observados altos valores de diversidade genética para as populações de *D. delphis* no Oceano Atlântico Norte (AMARAL et al., 2007; MIRIMIN et al., 2009).

O marcador mitocondrial D-loop foi utilizado para a espécie *Delphinus delphis*, sugerindo que o parentesco materno pode influenciar na associação desses animais, pois indivíduos com os mesmos haplótipos de mtDNA, pertencentes a mesma linhagem materna, podem ocorrer nas mesmas associações (ZANARDO et al., 2016). Essa região controle do DNA mitocondrial possui rápida taxa evolutiva, podendo fornecer informações genéticas relevantes sobre a história populacional através de especiações, fluxo gênico e estrutura de populações (AVISE, 1994). Todavia, há escassez de informações de estruturação, diversidade e dinâmica das populações de animais marinhos devido à alta capacidade de mobilidade. Diferenciações genéticas populacionais podem ocorrer por separação de centenas de quilômetros, assim como foi observado o isolamento por distância dos golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops* sp.) presentes na Austrália (KRÜTZEN et al., 2004).

Oremus et al. (2007) detectaram que é possível a ocorrência de comunidades pequenas e fechadas em um grupo de ilhas que não são geograficamente isoladas, como aconteceu com os golfinhos-rotadores (*Stenella longirostris*) presentes no Pacífico Sul. Além disso, outros estudos observaram que apesar de não haver grandes barreiras geográficas, houve diferenciação de determinadas populações em função das características presentes no habitat, como a temperatura da superfície da água, disponibilidade de recursos e estruturas sociais, assim como aconteceu com as baleias-orcas (*Orcinus orca*) (HOELZEL et al., 1998), golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (HOELZEL et al., 1998a) e golfinhos-pintados-pantropical (*Stenella attenuata*) (ESCORZA-TREVIÑO et al., 2005). Contudo, Natoli et al. (2008) observaram diferenciação genética significativa para golfinhos-comum-de-bico-curto com dados de DNA mitocondrial para águas mediterrâneas ocidentais e Atlânticas adjacentes.

Na genética da conservação, a análise de diversidade e diferenciação genética é um dos principais focos para a conservação global (MCNEELY et al., 1990). Assim, no decorrer dos anos, estes estudos vêm auxiliando planos de conservação, indicando espécies que necessitam de mais proteção e favorecendo a viabilidade de populações naturais (JOHNSON et al., 2001). Em função disso, é de suma importância aumentar informações acerca da diversidade genética e estrutura populacional de golfinho-comum-de-bico-curto no litoral brasileiro a fim de ampliar o conhecimento sobre a espécie e possibilitar a continuidade e aprofundamento dos estudos genéticos populacionais.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a diversidade e possível estruturação genética do golfinho-comum-de-bico-curto *Delphinus delphis* da Baía de Santos no Oceano Atlântico Sudoeste, com outras populações do Oceano Atlântico.

Objetivos específicos

- Determinar os índices de diversidade do DNA mitocondrial (D-loop) de *Delphinus delphis*;
- Comparar as diversidades haplotípicas e nucleotídicas presentes nesta espécie com aquelas já publicadas para outras localidades;

- Avaliar a existência de estruturação genética na Bacia de Santos;
- Verificar a existência de diferenciação genética entre o litoral brasileiro com outras localidades.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de amostras

Foram analisados 30 golfinhos-comum-de-bico-curto na Bacia de Santos, 13 deles encontrados no litoral de São Paulo (SP) e 17 no do Rio de Janeiro (RJ) (Fig. 3). Os animais foram amostrados a partir do método de biópsia pela equipe responsável pelo Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS). A coleta de biópsia ocorreu durante as campanhas de avistagem embarcada/MAP (Monitoramento Acústico Passivo) e de Telemetria com utilização de dardos flutuantes e balestras, lançados da proa da embarcação (botes infláveis) (PETROBRAS, 2021) (Anexo 1).

As primeiras etapas das análises genéticas foram realizadas no Laboratório de Biologia Genômica e Molecular, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), em Porto Alegre-RS. O sequenciamento foi realizado pela empresa MacroGen Inc. (Seoul, Coréia do Sul). Posteriormente, as sequências foram enviadas ao Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (UFES/CEUNES), São Mateus, ES.

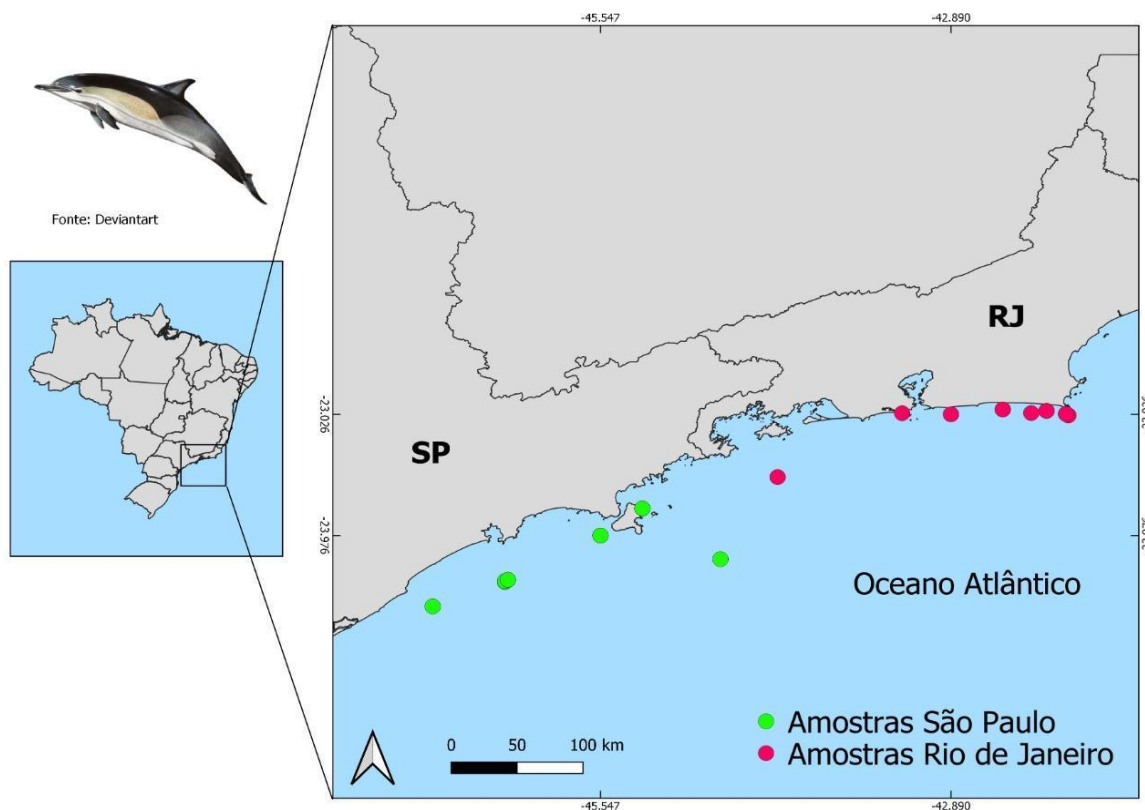


Figura 3. Localização das unidades amostrais de *Delphinus delphis* na Bacia de Santos, Brasil. Os círculos verdes representam as amostras em São Paulo e em rosa no Rio de Janeiro. Fonte: Elaborado por Manoela da Silva Pereira.

Extração, Amplificação, Purificação e Sequenciamento do DNA

Os procedimentos laboratoriais foram realizados pela equipe do Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS). Na extração de DNA foram utilizados o *DNeasy Blood Kit Tissue* (Qiagen), seguindo protocolos de fabricação (PETROBRAS, 2020). Os *primers* de Pichler et al. (2001) foram utilizados para amplificação do DNA mitocondrial. Para a PCR foram utilizados: 1 mM MgCl₂, 0,4 mM de dNTPs, 0,8 μM de cada primer, 0,14 U da enzima Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 1 X o tampão (Invitrogen), e 10- 100 μl de DNA. O termociclador atuou nas seguintes condições: desnaturação inicial de 2 min a 94°C, em seguida 35 ciclos de 30 s a 94°C, anelamento 45 s a 55°C, extensão 40 s a 72°C e por fim uma extensão de 10 min a 72°C. Com gel de agarose a 1,5%, os fragmentos amplificados foram corados com *Bluejuice* e *Gelred* para fotoidentificação. Em seguida, os produtos da PCR foram purificados com ExoSap-IT (USB) e sequenciados pela Macrogen Inc. (Coréia do Sul) (PETROBRAS, 2020).

Alinhamento e Edição

Após o sequenciamento as sequências de *Delphinus delphis* foram enviadas ao LGCA. Estas foram alinhadas e editadas no programa MEGA 11.0, permitindo verificar a existência de diferenças nucleotídicas entre indivíduos. Através de comparação com sequências já depositadas em dois bancos genômicos internacionais (GenBank) (ferramenta BLAST) e DNA *Surveillance* (ROSS et al., 2003), foi confirmada a espécie das sequências, *D. delphis*.

Análise da diversidade genética

Com o programa DNA *Sequence Polymorphism* (DNAsp v 6.12.03.) (ROZAS et al., 2010) foi possível criar arquivos de entrada para o Arlequin (LIBRADO & ROZAS, 2009) e Pop Art. O programa Arlequin v.3.11 (EXCOFFIER et al., 2010) foi utilizado para calcular as diversidades haplotípicas (h) e nucleotídicas (π), número de haplótipos, bem como a análise de variância molecular (AMOVA) e teste de estruturação (F_{ST}). Valores de F_{ST} variam de 0 a 1, ou seja, quanto mais próximo de um, maior a diferenciação. Os valores de P relatam a significância do teste, ou seja, valores de p abaixo de 0,05 são considerados significativos. O mesmo programa foi utilizado para calcular o teste de neutralidade Tajima's D , que quando apresenta valores absolutos, demonstra desvios de neutralidade. Esse teste realiza uma comparação de dois estimadores populacionais, o número de sítios polimórficos presentes nas sequências e o número da média de diferenças entre os pares de haplótipos. Quando esses valores são negativos é possível que a população em si esteja em expansão, caso contrário, é sugerida a presença de recentes gargalos populacionais (TAJIMA, 1989). Para D de Tajima o valor de p é significativo quando menor que 0,05.

F_s de Fu (1997) também é um teste de neutralidade realizado no Arlequin que utiliza a probabilidade de observar em determinados tamanhos amostrais, os alelos presentes, condicionada à média observada de diferenças emparelhadas. Este teste é sensível a desvios de equilíbrio populacional, como em expansões populacionais. Valores negativos de F_s de Fu indicam seleção direcionada, ou seja, que tendem a favorecer um único fenótipo, ademais, sugerem seleção de possíveis alelos deletérios ou expansões populacionais. No teste de F_s de Fu os valores de p são significativos quando menor que 0,02 (FU, 1997).

O Arlequin possibilitou a realização do cálculo de distribuição *Mismatch*, que examina a história demográfica populacional, na qual curvas unimodais representam expansão populacional e curvas multimodais equilíbrio populacional em longo prazo (ROGERS & HARPENDING, 1992). O programa PopArt possibilitou a construção das redes de haplótipos através dos cálculos de Median-Joining.

Sequências adicionais

Além das 30 sequências obtidas da Bacia de Santos, 120 sequências provenientes do GenBank foram incluídas e estas foram avaliadas no DNA *Surveillance* para confirmação da espécie. Quatro sequências são provenientes do Mar Mediterrâneo e Leste do Atlântico Norte (MS), 15 sequências foram agrupadas como Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e 101 sequências são pertencentes aos Arquipélagos Açores e Madeira (AAM).

Tabela 1. Localidades, Número de sequências (N), acesso e referências das sequências obtidas no GenBank para o marcador mitocondrial D-loop da espécie *Delphinus delphis*.

Localidades	N	Acessos	Referências
Mar Mediterrâneo e leste do Atlântico Norte (MS)	4	EU365172; EU365159; EU365158; EU365141	Natoli et al., 2008.
Açores e Madeira (AAM)	101	EF682649-47; EF682644-42; EF682639; EF682637-35; EF682633; EF682631; EF682629; EF682627; EF682623; EF682620-18; EF682616-09; EF682606-00; EF682599; EF682595-94; EF682592-88; EF682585; EF682583; EF682581-80; EF682578-73; EF682571-68; EF682566-59; EF682557; EF682555-47; EF682545-39; EF682537-36; EF682534-21; EF682516-15; EF682512-11; EF682509-07	Quérrouil et al., 2010.
Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA)	15	FM211547; FM211543; FM211536; FM211529; FM211516; FM211510; FM211506; FM211501; FM211496; FM211495; FM211541; DQ378136; DQ378123; DQ378106; DQ378103;	Mirimin et al., 2009; Amaral et al., 2007.

4. RESULTADOS

Bacia de Santos

As 30 sequências provenientes da Bacia de Santos resultaram em um fragmento de 696 pb com alta diversidade haplotípica ($h = 0,7839 \pm 0,0509$) e baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,001893 \pm 0,001350$). No teste de divergência genética foi identificada diferença significativa entre São Paulo e Rio de Janeiro ($F_{ST} = 0,20869$; $p = 0,00149$). Com a análise AMOVA a porcentagem de diferenciação entre SP e RJ foi de 20,87% e dentro das populações foi de

79,13%, ademais foi encontrado valores significativos ($F_{ST}= 0,20869$; $p= 0,00257$). Os valores de D de Tajima e Fs de Fu foram negativos, todavia o único valor significativo foi para a população do Rio de Janeiro no teste de neutralidade Fs de Fu (Tab. 2).

Tabela 2. Número amostral (n), número de haplótipos (H), diversidade haplotípica (h), diversidade nucleotídica (π), D de Tajima (D) e Fs de Fu (Fs) para *Delphinus delphis* no litoral de São Paulo (SP) e Rio de Janeiro (RJ). Valores significativos estão apresentados em negrito.

	(n)	(H)	(h)	(π)	D de Tajima (D)	Fs de Fu (Fs)
SP	13	4	0,6026+/-0,1306	0,001105+/-0,000969	-0,64598 (p= 0,27800)	-1,07932 (p= 0,10300)
RJ	17	7	0,8088+/-0,0789	0,002092+/-0,001494	-0,60264 (p= 0,31300)	-2,58682 (p= 0,02100)

No programa PopArt, foram encontrados nove haplótipos, sendo H1 e H3 compartilhados entre São Paulo e Rio de Janeiro e os haplótipos H2 e H4 foram frequentes somente com animais do Rio de Janeiro. Os haplótipos H5, H6 e H7 foram exclusivos do RJ e H8 e H9 exclusivos de SP (Fig. 4).

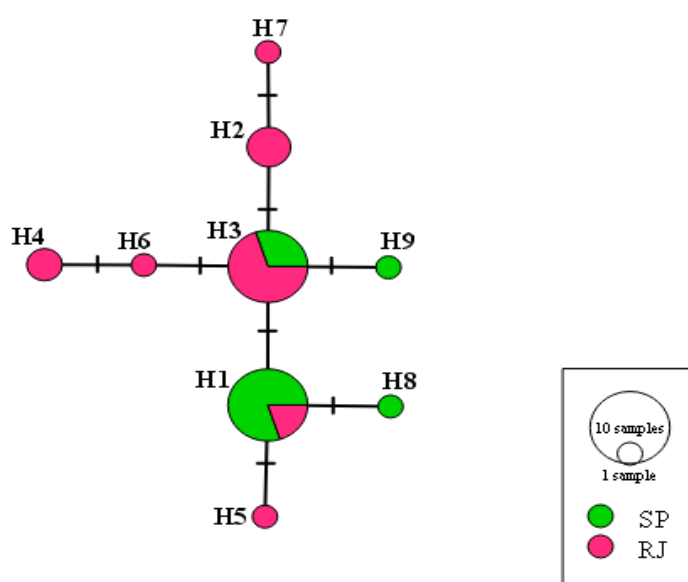


Figura 4. Rede de haplótipos de *Delphinus delphis* das amostras da Baía de Santos, São Paulo e Rio de Janeiro, representadas pelas cores verde e rosa. O tamanho dos círculos remete a frequência de surgimento dos haplótipos nos diferentes indivíduos.

A análise de distribuição *Mismatch* evidenciou curvas unimodais tanto para a população de São Paulo quanto para a população do Rio de Janeiro (Fig. 5).

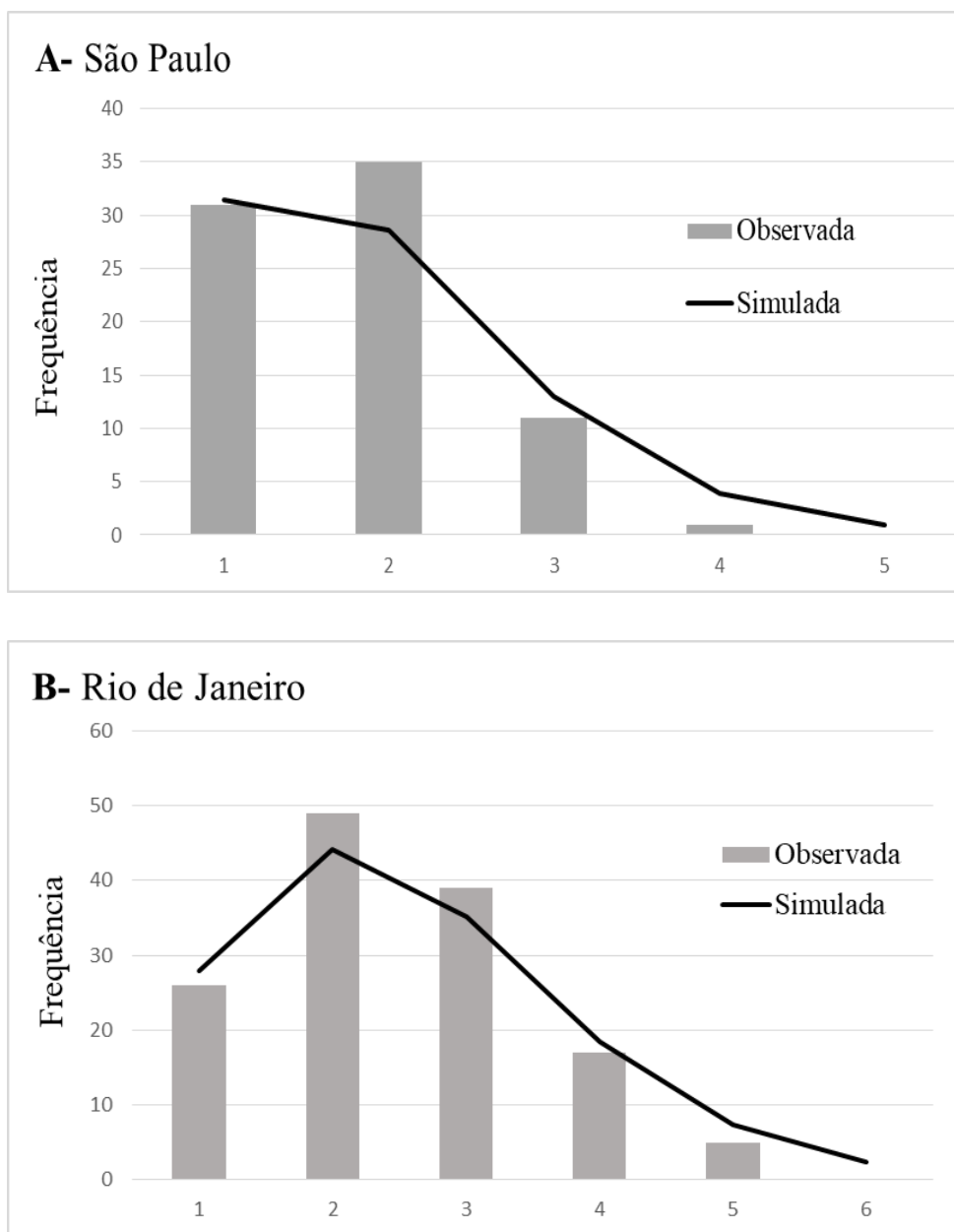


Figura 5. Análise de distribuição *Mismatch* do mtDNA para a espécie *Delphinus delphis* nas populações de São Paulo (gráfico A) e Rio de Janeiro (gráfico B). O eixo X mostra o número de diferenças entre os pares de haplótipos, enquanto Y mostra a frequência das diferenças. Colunas indicam valores observados e linhas os valores simulados.

Quando foram inseridas as 120 sequências de indivíduos de outras bacias oceânicas, provenientes do GenBank, foi obtido um fragmento de 320 pb. Como a frequência para cada haplótipo não estava disponível no GenBank, não foram calculadas diversidades haplotípicas e nucleotídicas, nem realizado os testes de neutralidade F_s de F_u e Tajima's D , para MS, NA e AAM. Contudo, as diversidades haplotípica e nucleotídica dessas regiões foram apresentadas nos seus respectivos artigos e quando comparadas com os valores de diversidade de SP e RJ, observou-se alta diversidade haplotípica, variando de 0,602 a 0,987, e baixa nucleotídica, variando de 0,001 a 0,018 (Tab. 3).

Tabela 3. Diversidade haplotípica (h) e diversidade nucleotídica (π) para *Delphinus delphis* entre São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Mar Mediterrâneo e Leste do Atlântico Norte (MS), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e Arquipélagos Açores e Madeira (AAM).

Localidade	(h)	(π)	Referência
SP	0,602	0,001	Este estudo
RJ	0,808	0,002	Este estudo
MS	0,943	0,015	Natoli et al., 2008
NA	0,949 e 0,987	0,014 e 0,018	Mirimin et al., 2009; Amaral et al., 2007
AAM	0,953 (Açores) 0,975 (Madeira)	0,013	Quérrouil et al., 2010.

A rede haplotípica entre as localidades evidenciou 46 haplótipos, sendo H1, H3, H17, H22, H23, H29, H38, H39 e H44 como os mais frequentes. Houve compartilhamento dos haplótipos H15 e H17 entre AAM e NA. Os haplótipos H8 e H9 foram compartilhados entre os animais de MS e NA. Não houve compartilhamento de haplótipos de outras localidades com o Oceano Atlântico Sudoeste (Fig. 5).

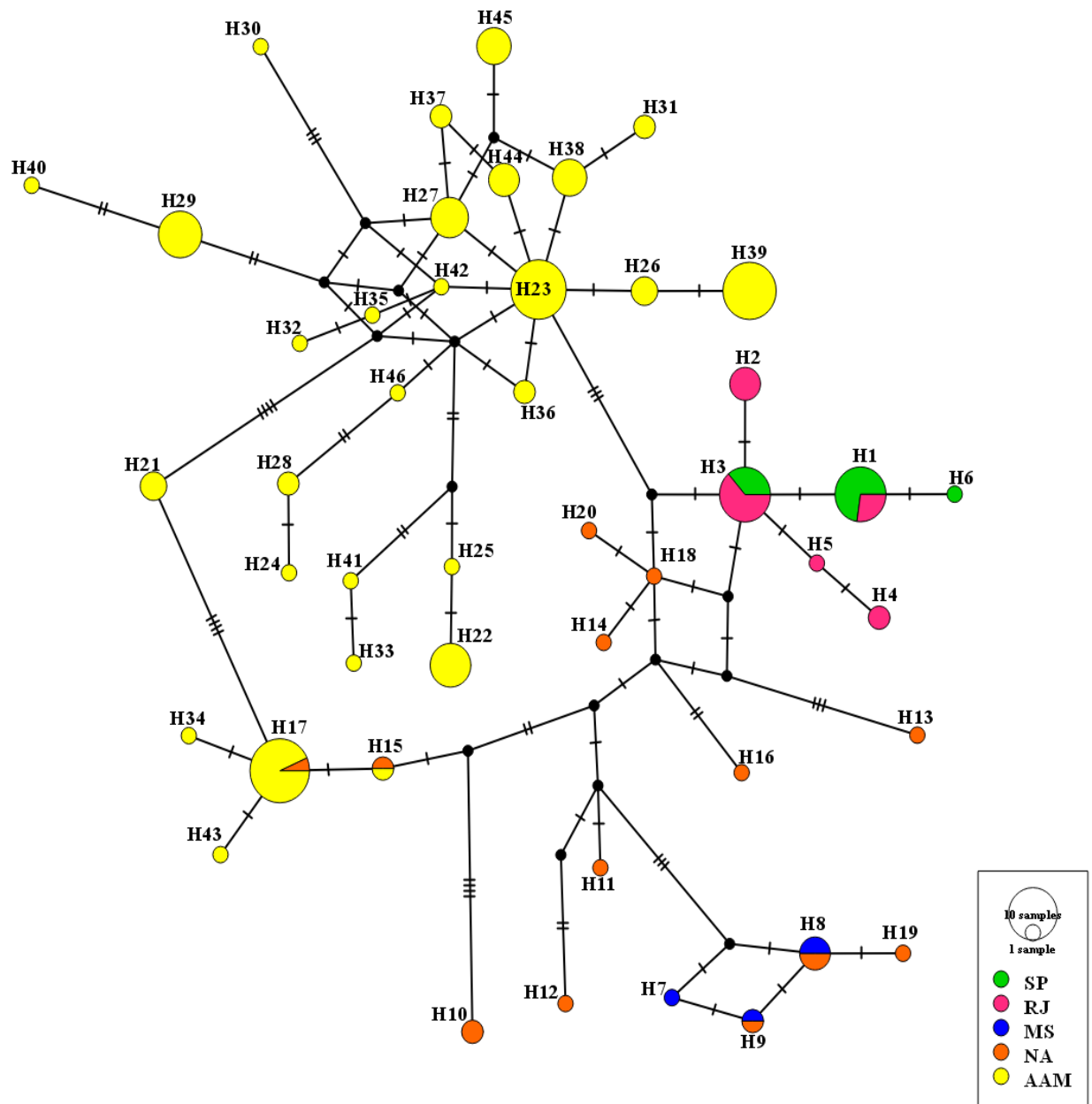


Figura 6. Rede de haplótipos de *Delphinus delphis* das áreas de São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Mar Mediterrâneo e Leste do Atlântico Norte (MS), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e Arquipélagos Açores e Madeira (AAM), representados pelas cores verde, rosa, azul, laranja e amarelo, respectivamente. O tamanho dos círculos corresponde à frequência dos haplótipos.

O teste de estruturação (F_{ST}) entre SP, RJ, MS, NA e AAM revelou diferenças significativas de divergência genética entre todas as localidades (Tab. 4). Além disso, a AMOVA apresentou resultado significativo ($F_{ST} = 0,44311$; $p = 0,00000$), com 44,31% de variação entre as populações e 55,69% dentro das populações.

Tabela 4. Valores de F_{ST} encontrados para as localidades de São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ), Mar Mediterrâneo e leste do Atlântico Norte (MS), Oceano Atlântico Norte e Nordeste (NA) e Arquipélagos Açores e Madeira (AAM) para *Delphinus delphis*. Os valores em negrito são considerados significativos.

	SP	RJ	MS	NA	AAM
SP	*	0,00149	0,00030	0,00000	0,00000
RJ	0,24214	*	0,00020	0,00000	0,00000
MS	0,92616	0,87395	*	0,04049	0,00000
NA	0,51650	0,49813	0,19631	*	0,00000
AAM	0,42496	0,41611	0,55337	0,36644	*

5. DISCUSSÃO

Bacia de Santos

Os resultados de diferenciação genética e AMOVA com o DNA mitocondrial entre as unidades amostrais presentes na Bacia de Santos mostrou-se altamente significativo e com moderada estruturação ($F_{ST}= 0,208$; $p \leq 0,001$), indicando a existência de duas populações geneticamente distintas de *Delphinus delphis* nesta região. A estruturação entre esses golfinhos pode ser explicada pelas diferentes características presentes no litoral de São Paulo e Rio de Janeiro. Na costa do Rio de Janeiro, no verão, é observada predominância de Áreas de ressurgência (PALMA & MATANO, 2009). Não obstante, a Bacia de Santos possui um platô oceânico, havendo maior disponibilidade de habitats sob o platô de São Paulo. A Bacia de Santos está inserida em um grande ecossistema marinho denominado Plataforma Sul do Brasil, que está associado aos maiores estoques pesqueiros brasileiros devido ao enriquecimento da água costeira (MATSUURA, 1996; CASTELLO et al., 2009). A corrente predominante é a Corrente do Brasil, com águas quentes que percorrem de norte ao sul. A Corrente das Malvinas possui grande influência no inverno, propiciando encontro de águas quentes e frias, caracterizando uma Convergência Subtropical (CAMPOS et al., 1995). Contudo a Corrente das Malvinas possui maior influência ao sul da bacia.

Para espécies marinhas com alta mobilidade em áreas que não possuem barreiras geográficas evidentes são esperados baixos níveis de diferenciação. No entanto, diferentes autores identificaram em cetáceos estruturação genética que pode estar relacionada a diferentes

características, como a disponibilidade de recursos, salinidade, temperatura, comportamento social, dentre outros, mesmo para unidades amostrais próximas (BILGMANN et al., 2007; MÖLLER et al., 2007; MENDEZ et al., 2010). Em um estudo realizado com a espécie *T. truncatus*, foi evidenciada estruturação em distâncias geográficas muito curtas para um mamífero altamente móvel (RICHARDS et al., 2013). Ansmann et al. (2012) observaram estrutura genética entre *T. truncatus* em uma pequena porção geográfica na Baía de Moreton, Austrália, apesar da característica altamente móvel do animal. Nesse estudo ainda foi indicado o uso de diferentes habitats por esses golfinhos, mostrando a existência de um possível isolamento, no entanto, esse uso preferencial provavelmente ocorreu por influência pesqueira, que pode ter acarretado essa divisão social.

Em um estudo de diferenciação molecular e morfológica entre *Delphinus* sp. no Atlântico Sudoeste, Cunha et al. (2015), através de análises com o citocromo b, detectaram altos valores de diversidade haplotípica ($h= 0,973$) e baixa diversidade nucleotídica ($\pi= 0,006$) para *Delphinus delphis*. Entretanto, Cunha et al. (2015) não realizaram análises de genética populacional, somente taxonomia molecular entre *D. delphis* e *D. capensis*. As populações de *Delphinus delphis* na Bacia de Santos obtiveram de moderada ($SP= 0,602 \pm 0,13$) a alta diversidade haplotípica ($RJ= 0,808 \pm 0,07$), no entanto baixa diversidade nucleotídica para ambas populações (Tab. 2). Entre as duas localidades, mesmo com números amostrais parecidos, a diversidade genética ficou menor para SP. De acordo com Grant e Bowen (1998), diversidades haplotípicas acima de 0,5 e diversidades nucleotídicas abaixo de 0,5 são características de populações que obtiveram gargalos populacionais seguidos por uma recente expansão, podendo acumular novas mutações.

Quando comparada com espécies de outros gêneros, *D. delphis* também apresenta altos valores de diversidade haplotípica, no entanto possui menor diversidade nucleotídica que as demais (Tab. 5).

Tabela 5. Valores de diversidade genética para diferentes espécies de odontocetos no Brasil para a região do mtDNA (D-loop), sendo apresentados o número amostral (n), diversidade haplotípica (h) e diversidade nucleotídica (π) encontrados em diferentes estudos.

Espécie	(n)	(h)	(π)	Referência
<i>D. delphis</i>	30	0,78 +/- 0,050	0,0018 +/- 0,0013	Este estudo
<i>S. attenuata</i>	17	0,79 +/- 0,06	0,08 +/- 0,05	Teixeira, 2018
<i>P. blainvillei</i>	512	0,895 +/- 0,008	0,011 +/- 0,006	Santos, 2011
<i>S. clymene</i>	8	1,0 +/- 0,1	0,0133 +/- 0,0	Nara, 2015
<i>S. coeruleoalba</i>	12	0,984	0,294	Freire, 2017

Na rede de haplótipos da Bacia de Santos (Fig. 4), foi evidenciada a presença de haplótipos exclusivos e compartilhamento de haplótipos entre São Paulo e Rio de Janeiro. É perceptível a distância de somente um passo mutacional entre os haplótipos, isso pode indicar que estes animais possuem linhagens próximas. Além disso, a rede de haplótipos apresentou padrão próximo ao tipo estrela, que também aponta para crescimento das populações (AMARAL et al., 2007; CUNHA et al., 2014).

Valores negativos para F_s de F_u significam seleção direcionada, ou seja, que tendem a favorecer determinado fenótipo. Sugerem que haja seleção de alelos deletérios ou por fim, expansões populacionais (FU, 1997). Esse teste mostrou-se significativo para a população do Rio de Janeiro visto que $p \leq 0,02$, indicando que esta população pode estar em expansão.

Os gráficos de distribuição *Mismatch* (Fig. 5) para São Paulo (A) e Rio de Janeiro (B) apresentaram um único pico (curva unimodal), essa característica sugere que as populações estejam passando por expansões demográficas recentes (EXCOFFIER et al., 1992; ROGERS & HARPENDING, 1992). A hipótese de expansão populacional corrobora com a baixa diversidade nucleotídica, o resultado significativo para o teste de neutralidade F_s de F_u para o Rio de Janeiro e rede haplotípica próxima ao formato estrela. Faria (2010) e Reblin (2016) também observaram um gráfico similar de distribuição *Mismatch* unimodal para outras espécies de delfínídeos, como *Stenella longirostris* em Fernando de Noronha, e *Sotalia guianensis* no litoral do Espírito Santo, respectivamente.

O golfinho-comum-de-bico-curto é uma espécie oportunista, com uma dieta que reflete na abundância de presas (YOUNG & COCKROFT, 1994; MURPHY et al., 2013). O Rio de Janeiro possui áreas de ressurgência, zonas com alta produtividade primária, e isso pode explicar uma maior presença para a região (maior número amostral) e elevada diversidade haplotípica em comparação com São Paulo. Tershy et al. (1993) acreditam que o movimento

de cetáceos para a costa dessas regiões de São Paulo e Rio de Janeiro pode ser explicado pela presença de presas pelágicas, como as sardinhas *Sardinella brasiliensis*, que desovam na costa no verão e outono (PAIVA & MOTTA, 2000). Santos et al. (2013) observaram que na península Ibérica houve declínio de espécies de sardinhas, e isso provocou alterações na dieta de golfinhos-comum-de-bico-curto, uma vez que está presa tornou-se menos disponível. Em muitas áreas as sardinhas e anchovas estão presentes na dieta desses animais (KEMPER & GIBBS, 2002; MEYNER et al., 2008), além disso, a maior parte da distribuição desse cetáceo tende a coincidir com a distribuição desses peixes (GRANT & BOWER, 1998).

Oceano Atlântico Sudoeste X Oceano Atlântico Norte

Todos os testes de estruturação em relação ao Atlântico Norte foram significativos (Tab. 4), dentre eles, MS demonstrou maior estruturação em comparação com os animais presentes no Oceano Atlântico Sudoeste, mostrando que essas populações provavelmente possuem linhagens mais distantes. Os golfinhos-comum-de-bico-curto presentes no Mar Mediterrâneo foram classificados como “Ameaçados de extinção” (EN) pela lista vermelha de animais ameaçados da IUCN. É relatado que a redução drástica desta população se deve ao esgotamento de presas e capturas acidentais (BEARZI et al., 2003). Estudos genéticos indicam que existe certo nível significativo de divergência entre os golfinhos presentes no Mediterrâneo e Atlântico (NATOLI et al., 2008). Natoli et al. (2008) identificaram que quando ocorre troca genética entre golfinhos-comum-de-bico-curto do Oceano Atlântico e Mar Mediterrâneo, apenas os animais de Alborán são envolvidos. Isso ocorre devido a particularidades oceanográficas presentes na área como a termohalina e Almería-Orán (rota que conecta Espanha com Argélia) que funcionam como barreiras ecológicas às espécies (TINTORÉ et al., 1988; SANJUAN et al., 1994).

Açores e Madeira (AAM) são os arquipélagos mais isolados do Atlântico Norte. Em vista disso, a diferenciação desses animais com os indivíduos presentes no Oceano Atlântico Sudeste pode ocorrer pelo isolamento por distância, em função da grande distância geográfica, assim como já aconteceu para a espécie de golfinhos-nariz-de-garrafa (*T. truncatus*) na Austrália Ocidental (KRÜTZEN et al., 2004). Estrutura e diferenças genéticas tendem a acontecer em populações livres em função da união de fatores ambientais, biológicos e comportamentais, além da intervenção humana (FRANKHAM et al., 2008).

Em uma comparação geral com outros estudos, as diversidades haplotípicas e nucleotídicas dos animais presentes em SP e RJ foram menores que os indivíduos provenientes

de MS, NA e AAM (Tab. 3). Geralmente os elevados índices de variabilidades genética são características de grandes populações panmíticas, que possuem grande mobilidade em seu habitat (FRANKHAM et al., 2002), como já evidenciado em estudos anteriores para esta espécie (REEVES et al., 2002).

A rede haplotípica revelou o compartilhamento de haplótipos entre AAM e NA (Fig. 6), que pode ser explicado pela característica altamente móvel do golfinho-comum-de-bico-curto. Mirimin et al. (2009) indicaram a presença de pelo menos duas populações de golfinhos-comum-de-bico-curto diferenciados geneticamente no Atlântico Norte, para as quais, apesar das grandes distâncias, o mar aberto pode não representar uma forte barreira à migração. MS e NA compartilham haplótipos, evidenciando que ocorreu alguma troca genética entre esses animais, como indicado em Natoli et al. (2008) para os animais presentes em Alborán. Os animais Do Oceano Atlântico Sudoeste são mais distantes de MS, visto que há mais passos mutacionais que os diferenciam, e isso pode ser explicado pelas particularidades oceânicas presentes no meio, que tende a inviabilizar a dispersão desses animais ao Atlântico Sul, assim como a diminuição das populações, uma vez que os golfinhos-comum-de-bico-curto estão criticamente ameaçados no Mar Mediterrâneo.

A população do Oceano Atlântico Sudoeste é possivelmente uma linhagem mais próxima geneticamente do Atlântico Norte e Nordeste, isso em vista da proximidade de haplótipos na rede, formando um haplogrupo entre essas localidades (Fig. 6). De acordo com Natoli et al. (2008) as populações de golfinhos-comum-de-bico-curto do Oceano Atlântico não apresentam diferenças genéticas significativas, sugerindo que esta espécie é altamente dispersa a longas distâncias, habitando meios diferentes (AMARAL et al., 2007; MIRIMIN et al., 2009). Vale ressaltar que a rede haplotípica apresentou vários haplótipos com quatro passos mutacionais de distância do cluster central da rede, indicando a presença de linhagens mitocondriais divergentes. Os *median vectors* apresentados na rede haplotípica correspondem a possíveis sequências de ancestrais extintos ou sequências existentes que não foram amostradas.

Estudos genéticos populacionais são essenciais para a espécie *Delphinus delphis* no Oceano Atlântico Sul, tornando-se necessário o emprego de análises com DNA nuclear (microssatélites) para ampliar e assegurar dados de diversidade e estruturação genética. Através da variabilidade genética ocorrem os processos de adaptação e evolução das espécies, em vista disso, a eficácia da conservação de cetáceos depende do conhecimento genético, biológico, ecológico, evolutivo e comportamental.

6. CONCLUSÕES

Foram observadas de moderada a alta diversidade haplotípica e baixa diversidade nucleotídica para *Delphinus delphis* no Oceano Atlântico Sudoeste. O teste de estruturação indica possível presença de duas populações de *Delphinus delphis* na Bacia de Santos com possível expansão dos animais amostrados no litoral do Rio de Janeiro. Além disso, os resultados obtidos indicam estruturação entre os animais presentes no Oceano Atlântico Sul e demais localidades. Os indivíduos amostrados na Bacia de Santos obtiveram menor diversidade genética quando comparados com outras localidades.

7. REFERÊNCIAS

- AMARAL, A. R.; SEQUEIRA, M.; MARTÍNEZ-CEDEIRA, J; et al. New insights on population genetic structure of *Delphinus delphis* from the northeast Atlantic and phylogenetic relationships within the genus inferred from two mitochondrial markers. **Marine Biology** 151, 1967–1976, 2007.
- ANSMANN, I. C.; PARRA, G. J.; LANYON, J. M.; SEDDON, J. M. Fine-scale genetic population structure in a mobile marine mammal: inshore bottlenose dolphins in Moreton Bay, Australia. **Molecular Ecology**, v.21, p. 4472–4485, 2012.
- ARENAS BUSTO, M.; MONA, S.; TROCHET, A.; SRAMKOVA HANULOVA, A.; CURRAT, M.; RAY, N.; EXCOFFIER, L. **The scaling of genetic diversity in a changing and fragmented world**, 2014.
- AVISE, J. C. **Molecular Markers: natural history and evolution**. Chapman & Hall, New York, USA, 1994.
- BEARZI, G.; REEVES, R. R.; NOTARBARTOLO DI SCIARA, G.; POLITI, E.; CANADAS, A.; FRANTZIS, A.; & MUSSI, B. Ecology, status and conservation of short-beaked common dolphins *Delphinus delphis* in the Mediterranean Sea. **Mammal Review**. 33 (3). pp. 224-252, 2003.
- BILGMANN, K.; MOLLER, L. M.; HARCOURT, R. G.; GIBBS, S. E.; BEHEREGARAY, L. B. Genetic differentiation in bottlenose dolphins from South Australia: association with local oceanography and coastal geography. **Marine Ecology Progress Series**, v.341, p. 265–276, 2007.
- BRITO, C.; VIEIRA, N.; SÁ, E. & CARVALHO, I. Cetaceans' occurrence off the west central Portugal coast: a compilation of data from whaling, observations of opportunity and boat-based surveys. **Journal of Marine Animals and Their Ecology**. 2 (1). pp. 10-13, 2009.
- BROPHY, J. T.; MURPHY, S. & ROGAN, E. The diet and feeding ecology of the short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*) in the northeast Atlantic. Paper SC/61/SM 14. International Whaling Commission, **Cambridge**, UK, 2009.
- BRUNO, S.; POLITI, E.; BEARZI, G. Social organization of a common dolphin community in the eastern Ionian Sea: evidence of a fluid fission-fusion society. **European Research on Cetaceans**, 2004.
- CAMPOS, E. J. D.; MILLER, J. L.; MULLER, T. J. & PETERSON, R. G. Physical oceanography of the Southwest Atlantic Ocean. **Oceanography**, 8, 87–91, 1995.
- CASTELLO, J. P.; SUNYE, P. S.; HAIMOVICI, M.; HELLEBRANDT, D. Fisheries in southern Brazil: a comparison of their management and sustainability. **Journal of Applied Ichthyology** 25: 287–293, 2009.
- CUNHA, H. A.; DE CASTRO, R. L.; SECCHI, E. R.; CRESPO, E. A.; LAILSON-BRITO, J.; AZEVEDO, A. F.; et al. Molecular and Morphological Differentiation of Common Dolphins (*Delphinus* sp.) in the Southwestern Atlantic: Testing the Two Species Hypothesis in Sympatry. **PLoS ONE** 10(11): e0140251, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140251>

CUNHA, H. A.; MEDEIROS, B. V.; BARBOSA, L. A.; CREMER, M. J.; MARIGO, J.; et al. Population Structure of the Endangered Franciscana Dolphin (*Pontoporia blainvillei*): **Reassessing Management Units**, 2014.

DIZON, A. E.; SARKA O. S.; PERRIN, W. F. Molecular analysis of mtDNA types in exploited populations of spinner dolphin (*Stenella longirostris*). **Reports of the International Whaling Commission**, v. 13, p. 183-202, 1991.

DUGUY, R. & ROBINEAU, D. Guía de los mamíferos marinos de Europa. **Omega**. Barcelona. 200 p., 1987.

ESCORZA-TREVIÑO, S.; et al. Genetic differentiation and intraspecific structure of Eastern Tropical Pacific spotted dolphins, *Stenella attenuata*, revealed by DNA analyses. **Conservation Genetics**, v. 6, p. 587-600, 2005.

EVANS, W. E. Common dolphin, White-bellied Porpoise *Delphinus delphis* Linnaeus, 1758. In: **Handbook of Marine Mammals Vol 5: The First Book of Dolphins** (Ridgway, S.H. & Harrison, R., eds.). Academic Press, London. pp. 191- 224, 1994.

EXCOFFIER, L. & LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**. v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.

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

FARIA, D. M. **Diversidade e estruturação genética de golfinhos-rotadores (*Stenella longirostris*, Gray 1828) baseada em uma região do DNA mitocondrial**. Monografia - Universidade Federal do Espírito Santo, 2010.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. Fundamentos de genética da conservação. **Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética**. p. 280, 2008.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. Introduction to conservation genetics. **Cambridge University Press**, 640pp, 2002.

FREIRE, M. C. C. **Estruturação genética de *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) no Oceano Atlântico**. 56 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical), Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2017.

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

GOETZ, S.; SANTOS, M. B.; VINGADA, J.; COSTAS, D. C.; VILLANUEVA, A. G. & PIERCE, G. J. Do pingers cause stress in fish? An experimental tank study with European sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) (Actinopterygii, Clupeidae), exposed to a 70 kHz dolphin pinger. **Hydrobiologia**. 749. pp. 83–96, 2015.

GRANT, W. S.; BOWEN, B. W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **The American Genetic Association**, 89, p. 415-426, 1998.

- HOELZEL, A. R.; DAHLHEIM, M.; STERN, S. J. Low genetic variation among killer whales (*Orcinus orca*) in the Eastern North Pacific and genetic differentiation between foraging specialists. **Journal of Heredity** 89:121–128, 1998.
- HOELZEL, A. R.; POTTER, C. W.; BEST, P. B. Genetic differentiation between parapatric ‘nearshore’ and ‘offshore’ populations of the bottlenose dolphin. **Proc R Soc Lond.**265:1177–1183, 1998a
- JEFFERSON, T. A.; WEBBER, M. W. & PITMAN, R. L. Marine Mammals of the World: A Comprehensive Guide to their Identification. **Academic Press**. California. 592 p., 2007.
- JOHNSON, W. E.; EIZIRIK, 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 University Press, pp 335-358, 2001.
- KEMPER C. M.; GIBBS, S. E. Dolphin interactions with tuna feedlots at Port Lincoln, South Australia and recommendations for minimising entanglements. **Journal of Cetacean Research and Management** 3:283–292, 2002.
- KRÜTZEN, M.; SHERWIN, W. B.; BERGGREN, P.; GALES, N. Population structure in an inshore cetacean revealed by microsatellite and mtDNA analysis: bottlenose dolphins (*Tursiops* sp.) in Shark Bay, Western Australia. **Marine Mammal Science** 20:28–47, 2004.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1.451- 1.452, 2009.
- MACDONALD, D. & BARRETT, P. Collins Field Guide: Mammals of Britain & Europe. **Harper Collins Publishers**. London, 1993.
- MARQUES, T. A.; THOMAS, L.; MARTIN, S. W.; MELLINGER, D. K.; WARD, J. A.; MORETTI, D. J.; HARRIS, D.; TYACK, P. L. Estimating animal population density using passive acoustics. **Biological Reviews**, [S.L.], v. 88, n. 2, p. 287-309, 29 nov, 2012.
- MATSUURA, Y. A probable cause of recruitment failure of the Brazilian sardine *Sardinella aurita* population during the 1974/75 spawning season. **African Journal Marine Science** 17: 29–35, 1996.
- MCNEELY, J. A.; MILLER, K. R.; REID, W. V.; MITTERMEIER, R. A.; WERNER, T. B. Conserving the world’s biological diversity. **International Union for Conservation of Nature and Natural Resources**, 1990.
- MENDEZ, M.; ROSENBAUM, H. C.; SUBRAMANIAM, A.; YACKULIC, C.; BORDINO, P. Isolation by environmental distance in mobile marine species: molecular ecology of franciscana dolphins at their southern range. **Molecular Ecology**, v. 19, p. 2212–2228, 2010.
- MEYNER, L.; PUSINERI, C.; SPITZ, J.; SANTOS, M. B.; PIERCE, G. J.; RIDOUX, V. Intraspecific dietary variation in the short-beaked common dolphin *Delphinus delphis* in the Bay of Biscay: Importance of fat fish. **Marine Ecology Progress Series** 354:277–287, 2008.
- MIRIMIN, L.; WESTGATE, A.; ROGAN, E.; ROSEL, P.; READ, A.; COUGHLAN, J. & CROSS, T. Population structure of short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) in the North Atlantic Ocean as revealed by mitochondrial and nuclear genetic markers. **Marine Biology**, 156: 821-834, 2009.

- MITCHELL, E. Pigmentation pattern evolution in delphinid cetaceans: an essay in adaptive coloration. **Canadian Journal Of Zoology**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 717-740, 1970.
- MMA- **Ministério do Meio Ambiente**. 2018. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso: 29 de jul de 2022.
- MÖLLER, L. M.; et al. Habitat type promotes rapid and extremely localised genetic differentiation in dolphins. **Marine and Freshwater Research**, v. 58, p. 640-648, 2007.
- MURPHY, S.; PINN, E. H. & JEPSON, P. D. The Short-Beaked Common Dolphin (*Delphinus delphis*) in the North-East Atlantic: Distribution, Ecology, Management and and Conservation Status. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review**. 51. pp. 193-280, 2013.
- MURPHY, S. & ROGAN, E. External morphology of the short-beaked common dolphin, *Delphinus delphis*: growth, allometric relationships and sexual dimorphism. **Acta Zool-Stockholm**. 87. pp. 315-329, 2006.
- MURPHY, S. **The biology and ecology of the common dolphin *Delphinus delphis* in the North-east Atlantic**. Dissertação de Doutorado. University College Cork, Ireland, 2004.
- NARA, L. B. C. **Estrutura genética populacional de *Stenella clymene* (Gray, 1850) e sua relação filogenética com o gênero**. Dissertação de mestrado - Universidade Federal do Espírito Santo, 2015.
- NATOLI, A.; CAÑADAS, A.; VAQUERO, C.; POLITI, E.; FERNANDEZ-NAVARRO, P.; HOELZEL, A. R. Conservation genetics of the short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*) in the Mediterranean Sea and in the eastern North Atlantic Ocean. **Conservation Genetics** 9:1479– 1487, 2008.
- NOREN, S. R. & WILLIAMS, T. M. Body size and skeletal muscle myoglobin of cetaceans: adaptations for maximizing dive duration. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. 126. pp. 181–191, 2000.
- 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. **Marine Ecology Progress Series** 336:275–289, 2007.
- PAIVA, M. P. & MOTTA, P. C. S. D. Schools of Brazilian-sardine, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner), in coastal waters of Rio de Janeiro State (Brazil). **Revista Brasileira de Zoologia**, 17(2): 339-346, 2000.
- PALMA, E. D. & MATANO, R. P. Disentangling the upwelling mechanisms of the South Brazil Bight. **Continental Shelf Research**, 29: 1525–1534, 2009.
- PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B. & THEWISSEN, J. G. M. Encyclopedia of marine mammals 2nd Ed. **Academic Press**, Amsterdam, pp. 255-259, 2009.
- PETROBRAS. 5º Relatório Anual – Ciclos 1 a 10. **Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS)**. Relatório técnico elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC, 2020
- PETROBRAS. **Relatório Consolidado: Projeto de Monitoramento de cetáceos na Bacia de Santos (PMC-BS)**. Elaborado pela SOCIOAMBIENTAL Consultores Associados para a PETROBRAS. Florianópolis-SC, 2021.

- PICHLER, F. B.; et al. Origin and radiation of Southern Hemisphere coastal dolphins (genus *Cephalorhynchus*). **Molecular Ecology**, v. 10, n. 9, p. 2215- 2223, 2001.
- QUÉROUIL, S.; FREITAS, L.; CASCÃO, I.; et al. Molecular insight into the population structure of common and spotted dolphins inhabiting the pelagic waters of the Northeast Atlantic. **Marine Biology** 157, 2567–2580, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00227-010-1519-0>
- REBLIN, R. D. **Diversidade e estruturação genética do boto-cinza (*sotalia guianensis*, Van Béneden 1864) no litoral do Espírito Santo**. 31 f. Monografia- Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2016.
- REEVES, R. R.; STEWART, B. S.; CLAPHAM, P. J.; POWELL, J. A. Guide to marine mammals of the world. **Alfred A. Knopf**, New York, 2002.
- RICHARDS, V. P.; et al. Patterns of Population Structure for Inshore Bottlenose Dolphins along the Eastern United States. **Journal of Heredity**, v. 104, n. 6, p. 765–778, 2013.
- ROGERS, A. R. & HARPENDING, H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences, **Molecular Biology and Evolution** vol.9, pp 552- 559, 1992.
- ROSS, H. A.; LENTO, G. M.; DALEBOUT, M. L.; GOODE, M.; EWING, G.; MCLAREN, P.; RODRIGO, A.G.; LAVERY, S. & BAKER, C.S. DNA surveillance: web-based molecular identification of whales, dolphins, and porpoises. **Journal of Heredity**, v. 94, n. 2, p. 111-114, 2003.
- ROZAS, J.; LIBRADO, P.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J. C.; MESSEGUER, X.; ROZAS, R. **DNA Sequence Polymorphism**, version: 5.10.1. Universitat de Barcelona, 2010.
- SANJUAN, A.; ZAPATA, C. & ALVAREZ, G. *Mytilus galloprovincialis* and *M. edulis* on the coasts of the Iberian Peninsula. **Marine Ecology Progress Series**, 113, 131– 146, 1994.
- SANTOS, E. V. **Estrutura populacional e história filogeográfica da toninha (*Pontoporia blainvillei*)**. Dissertação de mestrado - Pontifícia Universidade Católica Do Rio Grande Do Sul, 2011.
- SANTOS, M. B.; GERMAN, I.; CORREIA, D.; READ, F. L.; MARTINEZ-CEDEIRA, J.; CALDAS, M.; LÓPEZ, A.; VELASCO, F. & PIERCE, G. J. Long-term variation in common dolphin diet in relation to prey abundance. **Marine Ecology Progress Series**. 481. pp. 249-268, 2013.
- SILVA, M. A. & SEQUEIRA, M.. Patterns in the mortality of common dolphins (*Delphinus delphis*) on the Portuguese coast, using stranding records, 1975-1998. **Aquatic Mammals**. 29 (1). pp. 88-98, 2003.
- SPITZ, J.; TRITES, A. W.; BECQUET, V.; BRIND'AMOUR, A.; CHEREL, Y.; GALOIS, R. & RIDOUX, V. Cost of Living Dictates what Whales, Dolphins and Porpoises Eat: The Importance of Prey Quality on Predator Foraging Strategies. **PLoS ONE**. 7 (11). e50096, 2012.
- TAJIMA, F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. **Genetics**. 105:437-460, 1989.
- TEIXEIRA, F. L. **Estruturação genética entre os golfinhos-pintados-pantropicais (*Stenella attenuata*, Gray 1846) dos oceanos Atlântico e Pacífico**. 45 f. Monografia- Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2018.

TERSHEY, B. R.; ACEVEDO-GUTIÉRREZ, A.; BREESE, D.; STRONG, C. Diet and feeding behavior of fin and Bryde's whales in the central Gulf of California, Mexico. **Journal of Scientific Research of the Autonomous University of Baja California Sur**, 1: 31-38, 1993.

TINTORÉ, J.; LA VIOLETTE, P. E.; BLADE, I. & CRUZADO, A. A study of an intense density front in the eastern Alborán Sea: the Almería-Oran front. **Journal of Physical Oceanography of the American Meteorological Society**, 18, 1384– 1397, 1988.

WILSON, A. C.; CANN, R. L.; CARR, S. M.; GEORGE, M.; GYLLENSTEN, U. B.; HELM-BYCHOWSKI, K. M. & STONEKING, M. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 26, n. 4, p. 375-400, 1985.

YOUNG, D. D. & COCKCROFT, V. G. Diet of common dolphins (*Delphinus delphis*) off the south-east coast of southern Africa: Opportunism or specialization. **Journal of Zoology London**. 234. pp. 41-53, 1994.

ZANARDO N.; BILGMANN, K.; PARRA, G. J.; MÖLLER, L. M. Socio-genetic structure of short-beaked common dolphins in southern Australia. **Journal of Zoology**, 299(2), 89-97, 2016

ZHOU, J. L.; SALVADOR, S. M.; LIU, Y. P. & SEQUEIRA, M. Heavy metals in the tissues of common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded on the Portuguese coast. **The Science of the Total Environment**. 273. pp. 61-76, 2001.

8. ANEXOS

Anexo 1. Lista para *Delphinus delphis*, identificação, localidade, latitude e longitude da coleta de amostras pelo PMC-BS.

Espécie	Identificação	Localidade	Latitude	Longitude
<i>Delphinus delphis</i>	G10	São Paulo	-23,97636	-45,54699
<i>Delphinus delphis</i>	G11	São Paulo	-23,97636	-45,54699
<i>Delphinus delphis</i>	G59	Rio de Janeiro	-23,02583	-42,88959
<i>Delphinus delphis</i>	G60	Rio de Janeiro	-23,02583	-42,88959
<i>Delphinus delphis</i>	G81	Rio de Janeiro	-23,01736	-43,25983
<i>Delphinus delphis</i>	G180	São Paulo	-23,76393	-45,22914
<i>Delphinus delphis</i>	G181	São Paulo	-23,76393	-45,22914
<i>Delphinus delphis</i>	G212	Rio de Janeiro	-23,03453	-41,99925
<i>Delphinus delphis</i>	G332	Rio de Janeiro	-22,98803	-42,49685
<i>Delphinus delphis</i>	G333	Rio de Janeiro	-22,98803	-42,49685
<i>Delphinus delphis</i>	G334	Rio de Janeiro	-22,98803	-42,49685
<i>Delphinus delphis</i>	G335	Rio de Janeiro	-22,98803	-42,49685
<i>Delphinus delphis</i>	G388	Rio de Janeiro	-23,02283	-42,01702
<i>Delphinus delphis</i>	G389	Rio de Janeiro	-23,02283	-42,01702
<i>Delphinus delphis</i>	G390	Rio de Janeiro	-23,02283	-42,01702
<i>Delphinus delphis</i>	G391	Rio de Janeiro	-23,02283	-42,01702
<i>Delphinus delphis</i>	G398	São Paulo	-24,3341	-46,27042
<i>Delphinus delphis</i>	G399	São Paulo	-24,3341	-46,27042
<i>Delphinus delphis</i>	G400	São Paulo	-24,3341	-46,27042
<i>Delphinus delphis</i>	G401	São Paulo	-24,3341	-46,27042
<i>Delphinus delphis</i>	G427	São Paulo	-24,32351	-46,24859
<i>Delphinus delphis</i>	G428	São Paulo	-24,32351	-46,24859
<i>Delphinus delphis</i>	G429	São Paulo	-24,32351	-46,24859
<i>Delphinus delphis</i>	G447	Rio de Janeiro	-23,51801	-44,20394
<i>Delphinus delphis</i>	G465	Rio de Janeiro	-23,01616	-42,28143
<i>Delphinus delphis</i>	G503	São Paulo	-24,53148	-46,8185
<i>Delphinus delphis</i>	G505	São Paulo	-24,16118	-44,63735
<i>Delphinus delphis</i>	G541	Rio de Janeiro	-22,99889	-42,165
<i>Delphinus delphis</i>	G542	Rio de Janeiro	-22,99889	-42,165
<i>Delphinus delphis</i>	G543	Rio de Janeiro	-22,99889	-42,165