



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA E ZOOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Bruna Baleeiro dos Santos

**Diversidade genética e estrutura populacional de golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) com base no DNA mitocondrial**

Florianópolis

2024

Bruna Baleeiro dos Santos

**Diversidade genética e estrutura populacional de golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) com base no DNA mitocondrial**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Borges de C. Costa  
Coorientador: Prof. Dr. Paulo César Simões-Lopes

Florianópolis

2024

Santos, Bruna Baleeiro dos

Diversidade genética e estrutura populacional de golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) com base no DNA mitocondrial / Bruna Baleeiro dos Santos ; orientadora, Ana Paula Borges de C. Costa, coorientador, Paulo César Simões-Lopes, 2024.

42 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Cetáceos. 3. Genética. 4. Populações. 5. Oceano Atlântico. I. Costa, Ana Paula Borges de C.. II. Simões-Lopes, Paulo César . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Bruna Baleeiro dos Santos

**Diversidade genética e estrutura populacional de golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*)  
com base no DNA mitocondrial**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciências Biológicas.

Florianópolis, 11 de dezembro de 2024.

Insira neste espaço  
a assinatura

Coordenação do Curso

**Banca examinadora**

Insira neste espaço  
a assinatura

Profa. Dra. Ana Paula Borges de C. Costa  
Orientadora

Insira neste espaço  
a assinatura

Profa. Dra. Daniela Cristina De Toni  
Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço  
a assinatura

Prof. Dr. Fábio Daura Jorge  
Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço  
a assinatura

Me. Thaís Leal Silva  
Avaliadora suplente

Florianópolis, 2024.

À minha madrinha, que sempre foi uma boa gargalhada e  
um abraço apertado, dedico com muito carinho este  
trabalho.



## AGRADECIMENTOS

Quero começar agradecendo aos meus orientadores, figuras centrais deste trabalho. Agradeço à Ana, por, desde o início, ter a paciência de sentar e esclarecer todas as minhas dúvidas, além de sempre demonstrar muito cuidado e atenção em cada etapa da construção. Agradeço ao Paulinho, por separar inúmeros momentos para conversar comigo. Para além de me orientar nesta pesquisa, ele foi uma pessoa que me escutou e me ajudou a colocar a cabeça no lugar, sempre contando histórias e confiando no meu caminho.

Agradeço ao LAMAQ, espaço onde conheci pessoas que admiro e que me inspiram profundamente. Levo comigo cada pessoa desse laboratório, que, desde o início de 2021, me acolheu como uma família. Agradeço ao Mau, por ter sido minha maior companhia de cafezinhos no laboratório, e ao Ale, por todo o carinho e atenção, sempre se dispondo a ajudar e a saber como eu estava. Ale, obrigado por todas as conversas sobre futuro e todo o incentivo que você me deu para continuar na academia, você foi muito importante para me motivar a continuar e confiar em mim. Agradeço à Bia, que foi a primeira pessoa a me adotar no laboratório e que me ensinou muito sobre a importância daquele espaço e suas rotinas. Meu agradecimento também vai para a Jara, Gustavo, Fe, Hanna, Ana, Thais e tantas outras pessoas dessa família, que fazem o LAMAQ ocupar um espaço enorme no meu coração. Vejo a paixão de quem já passou por lá se manter viva ao longo da vida, e fico feliz por ser uma dessas pessoas que sempre levarão o desejo de contribuir e construir esse lugar.

Agradeço aos meus Amigos do Cantinho, meu grupinho desde o primeiro semestre, agradeço por terem sido um lar para mim na graduação. Agradeço todos os momentos no Cantinho conversando, no gramado pós-RU, os papos mais caóticos e os mais família fazendo jantinhas. Agradeço ao Apolo, Gi, Ian, Mat, Nicolas, Miguel, Thi e Leo, vocês têm meu coração de uma forma inexplicável. Sempre que lembrar da graduação, vou lembrar dos bons momentos com vocês. Cada um, com sua personalidade única, tornou essa jornada especial. Não teria chegado aqui sem a companhia de vocês. A Ju, que compartilhou aniversários e a minha família comigo, agradeço por ser testemunha de todas as Brunas que viveram essa graduação e ter sido a maior companhia de todas elas. Ju, obrigada por descobrir este curso junto comigo e por fazer parte de tantos outros momentos da minha vida. A Bi, minha primeira amiga da biologia, agradeço por ser quem você é, por suas opiniões firmes e por sempre me dizer o que eu precisava ouvir. Acompanhar o seu trilhar da graduação e ver toda a sua determinação e certeza nas suas decisões me inspira. Você é uma mulher e tanto, obrigada por estar ao meu lado até hoje e por dividir comigo os momentos mais caóticos deste final de

curso. Agradeço ao Pedro, que me conheceu como poucas pessoas e que foi meu maior companheiro nessa caminhada. Obrigada pelas inúmeras noites e idas ao bar discutindo este trabalho. Você construiu ele junto comigo e, com certeza, também não teria chegado aqui sem você.

Aos professores, tanto da graduação quanto da escola, meu agradecimento profundo. Se hoje estou aqui, é por cada professor que me fez brilhar os olhos pela área. Um agradecimento especial ao André e ao Marquinhos, professores do ensino fundamental e médio, que me apoiaram na minha escolha e davam aulas incríveis. Aos professores da graduação, obrigada por todo o conhecimento transmitido e por me formarem como bióloga. Espero levar comigo um pouco de cada um de vocês. Ao PET e ao grupo PIBID, que foram transformadores na minha jornada pessoal e profissional, agradeço por também terem sido família, vou sempre levar comigo muito carinho dessas vivências. E à UFSC, sou grata por ter proporcionado tantas oportunidades e encontros que mudaram minha vida. Vivi as experiências mais diversas nesse espaço e me formo uma pessoa totalmente diferente de quando entrei.

Aos amigos que dividiram comigo a experiência do Projeto Baleia Jubarte — Tata, Agathinha, Lele, Dan, Gio e Nat — e a Ilha Anchieta — Ceci, Aninha, Flá, Kid, Thi, Jardel, Fran, Giu, Pietra e Tha — agradeço por terem me feito enxergar outro mundo da biologia e me reencontrar em outras Brunas. Mesmo de longe, vocês continuam próximos e me ensinam sempre sobre carinho e amizade.

Agradeço principalmente a minha família. Tudo o que eu sou vem dessas pessoas que eu amo tanto. Agradeço aos meus tios e tias, primos e primas, e as minhas avós, que vibram com minhas conquistas como se fossem deles. Obrigada por serem meu lugar de conforto e afeto. Ao meu avô Roberto, que não me viu entrar na faculdade, mas que foi a primeira pessoa a me escutar falar que queria fazer biologia e a achar incrível. Não teve um dia na graduação que não lembrei das nossas conversas quando você chegava do trabalho vô, cheguei aqui também por causa de você, obrigado por acreditar tanto no meu futuro. À minha madrinha, a quem dedico este trabalho, que também não está mais aqui, mas que sempre ocupava os ambientes com sua gargalhada alta e seu jeito que exalava carinho e vida. Te levo comigo em cada sorriso que eu dou. Queria poder escolher contigo a epígrafe deste trabalho, tenho certeza que você teria referências lindas para citar. Ao Carlinhos, amigo e vizinho desde que nasci, obrigada pelas caronas, pelos filmes de terror e toda a leveza que você trouxe para os meus dias. Não tem nada que me salve mais de um dia difícil do que um café com você e minha mãe lá em casa, cada um contando histórias e fofocas que acontecem na rua. Agradeço



também à Sal Sal, amiga de escola que sempre esteve por perto, seja por ligações, bares, praias ou em inúmeras conversas de desabafo, sonhos e amores. Obrigada, Sal, por estar sempre disponível e por sentir comigo cada uma das minhas histórias. Você é a minha médica favorita no mundo, e tenho muito orgulho do caminho que percorremos juntas ao longo desses anos.

Agradeço aos meus pais, as pessoas mais inspiradoras e que eu tenho a honra de conviver. Não teria uma vida inteira para dizer o quanto esse trabalho é fruto deles também. Minha mãe, sendo sempre o abraço mais aconchegante do mundo, uma professora carinhosa e uma amiga incrível. Obrigada mãe por todos os nossos momentos juntas, por todos os conselhos, os carinhos, os momentos falando o que eu precisava escutar, as puxadas de orelha e os beijos na testa falando que tudo ia ficar bem. Ao meu pai, que sempre se dedicou muito ao seu trabalho mas que sempre foi meu companheiro, seja brincando de boneca quando criança, como trazendo os assuntos mais aleatórios e polêmicos para gente conversar nas sextas a noite, agradeço por me ensinar a sempre levantar a cabeça e seguir os meus sonhos. Você é minha inspiração de determinação e amor ao que faz. Obrigada mãe e pai, por todas as terças a noite assistindo o programa do Fábio Porchat, os jantares de sexta, as risadas, conselhos, por me escutarem e por tudo o que vocês abdicaram para me dar oportunidade de estar aqui hoje. Dedico esse trabalho e todas as minhas conquistas a vocês também.

Por último, agradeço à vida, do jeito que ela é, por me permitir estudá-la, e às baleias e golfinhos, que trazem um toque a mais de mistério e magia ao oceano. Fico feliz de me encontrar nesse lugar do mundo, a Bruna criança não poderia estar mais realizada. A todos que também não citei aqui, mas que me acompanharam nesta jornada, agradeço por cruzarem meu caminho. A ciência nunca é feita sozinha, e este trabalho é meu maior aprendizado sobre como as pessoas fazem a diferença. Sou um pouco de todos e coloco aqui tudo o que me construiu. Sou imensamente grata.

Agradeço à PETROBRAS por ter cedido os dados do PMC-BS. Esse projeto foi executado pela PETROBRAS para cumprimento de condicionante ambiental exigida no Licenciamento Ambiental conduzido pelo IBAMA das atividades de produção e escoamento de petróleo e gás natural no Pólo Pré-Sal da BS (processo no. 02001.114279/2017-80, ACCTMB no. 657/2015).

"Sejamos água, em matéria e espírito, em nossa movência  
e capacidade de mudar de rumo, ou estaremos perdidos"  
(KRENAK, 2022, p. 14)

## RESUMO

O golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), especificamente a subespécie oceânica (*T. t. truncatus*), é amplamente distribuída ao longo da costa brasileira, com preferência por águas mais profundas. Na Bacia de Santos (BS), região de intensa atividade antrópica, devido à exploração de petróleo, ainda não se compreende completamente o impacto dessas ações sobre as populações marinhas e os ecossistemas onde vivem. Nesse contexto, a genética de populações desempenha um papel crucial para obter informações sobre a biologia das espécies, fornecendo subsídios para a conservação desses ecossistemas. Este estudo visou avaliar a diversidade genética de *T. t. truncatus*, utilizando a região controle do DNA mitocondrial (mtDNA), e compreender a estrutura populacional da subespécie oceânica (*T. t. truncatus*), por parte das fêmeas, na BS. Foram analisados 307 indivíduos, posteriormente classificados em três grupos: *T. t. gephyreus* (subespécie costeira), *T. t. truncatus* nerítico (águas <200 metros) e *T. t. truncatus* pelágico (águas  $\geq$ 200 metros). Os resultados indicaram 38 haplótipos, com 7 exclusivos para *T. t. gephyreus* e 31 para *T. t. truncatus*. Os índices de diversidade genética ( $\Phi_{st}$  e  $F_{st}$ ) mostraram que *T. t. gephyreus* possui menor variabilidade em relação a *T. t. truncatus*, refletindo seu comportamento filopátrico e preferência por ambientes costeiros. Além disso, foi observada uma diferenciação genética significativa entre ambos os grupos oceânicos e *T. t. gephyreus* ( $F_{st} = 0,23801$ ;  $\Phi_{st} = 0,41043$  para o grupo pelágico e  $F_{st} = 0,29601$ ;  $\Phi_{st} = 0,43392$  para o grupo nerítico;  $p < 0,05$ ). Mesmo ocorrendo uma área de sobreposição geográfica entre as subespécies costeira e oceânica na BS, a conectividade genética observada é baixa, o que reforça a importância de fatores como comportamento e uso de habitat, na estruturação das populações de *T. t. truncatus*. Para os grupos nerítico e pelágico de *T. t. truncatus*, a análise de estruturação genética revelou que os indivíduos associados à águas profundas (grupo pelágico) apresentam uma diferenciação genética moderada ( $F_{st} = 0,07835$ ;  $\Phi_{st} = 0,06936$ ,  $p < 0,05$ ) em relação aos indivíduos encontrados em áreas sobre a plataforma continental (grupo nerítico), sugerindo uma segregação espacial associada, também, a diferentes preferências de habitat. Esses resultados destacam a complexidade das interações entre indivíduos de golfinho-nariz-de-garrafa e reforçam a importância do monitoramento e estratégias de conservação específicas para essa espécie. Estudos futuros que utilizem marcadores nucleares, como microssatélites, são necessários para oferecer informações mais detalhadas sobre a estrutura genética, complementando as análises baseadas no mtDNA, que revela apenas o lado materno da herança genética.

**Palavras-chave:** cetáceos, Oceano Atlântico, estrutura genética.

## ABSTRACT

The bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*), specifically the oceanic subspecies (*T. t. truncatus*), is widely distributed along the Brazilian coast, with a preference for deeper waters. In the Santos Basin (SB), a region of intense anthropogenic activity due to oil exploration, the impact of these activities on marine populations and ecosystems is still not fully understood. In this context, population genetics plays a crucial role in providing information about the biology of species, supporting the conservation of these ecosystems. This study aimed to evaluate the genetic diversity of *T. t. truncatus* using the mitochondrial DNA (mtDNA) control region and to understand the population structure of the oceanic subspecies (*T. t. truncatus*), based on females, in the Santos Basin (BS). A total of 307 individuals were analyzed and subsequently classified into three groups: *T. t. gephyreus* (coastal subspecies), neritic *T. t. truncatus* (waters <200 meters deep), and pelagic *T. t. truncatus* (waters  $\geq$ 200 meters deep). The results identified 38 haplotypes, 7 exclusive to *T. t. gephyreus* and 31 to *T. t. truncatus*. The genetic diversity indices revealed that *T. t. gephyreus* has lower variability compared to *T. t. truncatus*, reflecting its philopatric behavior and preference for coastal habitats. Additionally, significant genetic differentiation was observed between both groups and *T. t. gephyreus* ( $F_{st} = 0.23801$ ;  $\Phi_{st} = 0.41043$  for the pelagic group and  $F_{st} = 0.29601$ ;  $\Phi_{st} = 0.43392$  for the neritic group;  $p < 0.05$ ). Despite the geographical overlap between the coastal and oceanic subspecies in the SB, the observed genetic connectivity is low, emphasizing the importance of factors such as behavior and habitat use in shaping the population structure of *T. truncatus*. For the neritic and pelagic groups of *T. t. truncatus*, the genetic structuring analysis revealed moderate genetic differentiation ( $F_{st} = 0.07835$ ;  $\Phi_{st} = 0.06936$ ,  $p < 0.05$ ) between individuals associated with deeper waters (pelagic group) and those found in continental shelf areas (neritic group), suggesting spatial segregation related to distinct habitat preferences. These results highlight the complexity of interactions among bottlenose dolphin individuals and reinforce the need for monitoring and specific conservation strategies for this species. Future studies employing nuclear markers, such as microsatellites, are essential to provide more detailed information on genetic structure, complementing mtDNA analyses, which reveal only the maternal side of genetic inheritance.

**Keywords:** cetaceans, Atlantic Ocean, genetic structure.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização e área da Bacia de Santos.....	22
Figura 2 – Localização das 103 amostras coletadas pela equipe do PMC-BS.....	23
Figura 3 – Trajeto percorrido pelas Campanhas de Avistagem Embarcada do PMC-BS.....	24
Figura 4 – Coleta de biópsia com balestras e dardos flutuantes pela equipe do PMC-BS.....	24
Figura 5 – Mapa com a distribuição das amostras por subespécie e haplótipo.....	29
Figura 6 – Rede haplotípica dos 38 haplótipos encontrados nas 307 amostras usadas neste trabalho.....	30
Figura 7 – Mapa com a distribuição das amostras por sexo.....	31
Figura 8 – Mapa com a distribuição das amostras por grupos classificados de acordo com a classificação taxonômica e profundidade.....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de diferenciação genética ( $F_{st}$ e $\Phi_{st}$ ) entre <i>T. t. gephyreus</i> e os grupos nerítico e pelágico ( $p < 0,05$ ).....	32
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOVA	Análise da Variância Molecular
ASO	Oceano Atlântico Sul Ocidental
BIC	Bayesian Information Criterion
BS	Bacia de Santos
CB	Corrente do Brasil
CM	Corrente das Malvinas
<i>Fst</i>	Índice de fixação
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
mtDNA	DNA mitocondrial
pb	Pares de base
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
PMC-BS	Projeto de Monitoramento de Cetáceos da Bacia de Santos
$\Phi_{st}$	Índice de fixação que considera distâncias genéticas entre haplótipos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>HIPÓTESE.....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	20
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
4.1	ÁREA DE ESTUDO E COLETA DAS AMOSTRAS.....	21
4.2	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	25
4.3	ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS DE DNA MITOCONDRIAL.....	26
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>36</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>
	<b>APÊNDICE A – RELAÇÃO DE HAPLÓTIPOS E AS SEQUÊNCIAS ANALISADAS.....</b>	<b>40</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Os cetáceos são mamíferos exclusivamente aquáticos amplamente estudados, divididos em dois clados: Mysticeti e Odontoceti (Committee on Taxonomy, 2024). Os odontocetos são gregários em sua maioria, vivendo em grupos sociais complexos e dinâmicos (Connor *et al.*, 2000). Dentro desse grupo, o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) é uma das espécies mais amplamente distribuídas no mundo, ocorrendo de águas costeiras e rasas até regiões oceânicas e com grandes profundidades. Devido ao alcance geográfico abrangente e à plasticidade na ocupação de diferentes habitats, essa espécie possui uma notável variação, tanto morfológica como genética, entre as populações (Wells *et al.*, 1999; Vollmer & Rosel, 2017).

Diversos estudos sobre a estrutura populacional de *T. truncatus* têm revelado a existência de diferentes ecótipos. No oceano Atlântico Sul Ocidental (ASO), foram reconhecidas duas subespécies de golfinho-nariz-de-garrafa: *Tursiops truncatus gephyreus*, com hábitos costeiros e relacionadas a águas rasas, e *T. truncatus truncatus*, com hábitos oceânicos e tipicamente associadas a águas mais profundas (Simões-Lopes *et al.*, 2019; Costa *et al.*, 2016). Tal preferência de habitat dificulta a coleta de dados da subespécie oceânica, fazendo com que grande parte do conhecimento acumulado sobre *T. truncatus* seja referente a populações costeiras (Fruet *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2021). Essas subespécies possuem divergências tanto no nicho ecológico, como diferenças morfológicas (Costa *et al.*, 2016; Simões-Lopes *et al.*, 2019), genéticas (Costa *et al.*, 2021), de padrão de coloração (Simões-Lopes *et al.*, 2019), isotópicas (Pereira *et al.*, 2020) e de distribuição (Simões-Lopes *et al.*, 2019).

A subespécie oceânica tende a formar grupos maiores que apresentam menor diferenciação genética entre si, em comparação aos grupos costeiros, devida às diferenças de fidelidade ao habitat e adaptações ecológicas e comportamentais específicas (Costa *et al.*, 2021; Vollmer & Rosel, 2013; Hoelzel *et al.*, 2009; Perrin *et al.*, 2009). Além disso, a distinta preferência de habitat entre as subespécies pode estar impulsionando seu processo de especiação, levando os indivíduos a acasalar preferencialmente com aqueles que compartilham preferências similares, mesmo havendo certa sobreposição de áreas entre as subespécies na região sul do Brasil (25°51'50"S a 28°29'39"S) (Costa *et al.*, 2021; Simões-Lopes *et al.*, 2019). Essa zona de sobreposição, ou zona híbrida, onde as subespécies coexistem, permite interações e fluxo gênico. Estudos recentes abordam as diferenças entre subespécies (*e.g.*, Costa *et al.*, 2021; Simões-Lopes *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2020; Fruet *et*

*al.*, 2017), com foco maior na subespécie costeira (*e.g.*, Costa *et al.*, 2015; Daura-Jorge *et al.*, 2016; Fruet *et al.*, 2014). No entanto, ainda há lacunas sobre a subespécie oceânica e a conectividade entre elas na área de sobreposição.

A Bacia de Santos (BS) é a maior bacia sedimentar oceânica do Brasil, caracterizada por uma dinâmica oceanográfica complexa e uma grande heterogeneidade ambiental (PETROBRAS, 2024a). Nessa região, duas correntes marítimas distintas interagem: a Corrente do Brasil (CB), que traz águas quentes e salinas, e a Corrente das Malvinas (CM), que transporta águas mais frias e ricas em nutrientes. A interação dessas correntes forma a Confluência Brasil-Malvinas, um fenômeno crucial para a dinâmica do ambiente marinho da Bacia de Santos. A bacia também abriga o Talude Continental Brasileiro, uma área situada entre o fim da plataforma continental e o assoalho oceânico, cuja influência é fundamental para o habitat de diversas espécies e para a dinâmica oceânica da região (Rossi-Wongtschowski & Madureira, 2006).

O talude brasileiro abriga a maior reserva de petróleo e gás do país, o que o torna um ambiente de grande relevância não apenas ecológica, mas também econômica. Contudo, essa exploração econômica levanta preocupações quanto aos possíveis impactos ambientais, especialmente sobre as populações locais de cetáceos (PETROBRAS, 2024a). Espécies como o golfinho nariz-de-garrafa podem ser afetadas tanto diretamente, a partir de acidentes com embarcações, redes e linhas de pesca, vazamento de óleo e a poluição sonora, quanto indiretamente, a partir de distúrbios ambientais (Gomes *et al.*, 2000). Além disso, a região de Cabo Frio, que faz parte da Bacia de Santos, é caracterizada pelo fenômeno de ressurgência costeira, que envolve o movimento ascendente de massas de água próximas à costa, permitindo o enriquecimento de nutrientes nas águas superficiais. Esse fenômeno contribui para uma das áreas mais biodiversas do país (Rossi-Wongtschowski & Madureira, 2006).

A BS é de particular interesse para o estudo de *Tursiops truncatus* já que abarca a área restrita onde ocorre a sobreposição de distribuição entre as subespécies oceânica (*T. t. truncatus*) e costeira (*T. t. gephyreus*), o que pode facilitar interações ocasionais entre elas. Essa área ocorre da costa de Guaratuba (25° 51' 50" S) até Laguna (28° 29' 39" S), entre 3 e 18 metros de profundidade e de 1 a 4 km de distância da costa (Costa *et al.*, 2016; Simões-Lopes *et al.*, 2019). Simões-Lopes *et al.* (2019) sugeriu que a zona híbrida entre *T. t. truncatus* e *T. t. gephyreus* desempenha um papel importante na manutenção da diversidade genética da espécie. No entanto, a conectividade genética entre essas subespécies é limitada, o que contribui para a preservação das distinções genéticas entre elas (Costa *et al.*, 2021; Fruet *et al.*, 2017). Além disso, a complexa dinâmica ecológica da região, com a presença de

habitats distintos entre a plataforma continental e a região oceânica, pode influenciar ainda mais a estrutura populacional da espécie. Isso faz da Bacia de Santos uma área única para investigar como a sobreposição geográfica entre os ecótipos e os diferentes habitats moldam a conectividade genética e a diversidade populacional de *T. truncatus*.

A compreensão da estrutura genética e da conectividade entre as populações oceânicas e costeiras de *T. truncatus* é fundamental para a conservação da espécie, especialmente em áreas onde a atividade humana pode impactar diretamente os golfinhos (Hartl *et al.*, 1988). Com base na diversidade genética, é possível identificar diferentes populações e direcionar a atenção para aquelas que são mais vulneráveis à extinção, particularmente aquelas com baixa variabilidade genética (Frankham *et al.*, 2005). Apesar de ser de transmissão exclusivamente materna, estudos genéticos em *T. truncatus* têm utilizado marcadores do DNA mitocondrial (mtDNA) para explorar questões relacionadas à diversidade genética e diferenciação populacional, uma vez que, por existir em grande quantidade de cópias nas células, é um material genético mais acessível para o sequenciamento (Rosel *et al.*, 2017; Zink *et al.*, 2008).

A região controle do mtDNA, em particular, é amplamente empregada devido à sua alta variabilidade e capacidade de revelar padrões de conectividade entre populações (Zhang *et al.*, 1993; Rosel *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2021). No ASO, análises dessa região demonstraram a existência de haplótipos distintos entre as subespécies e sugeriram níveis variados de fluxo gênico em diferentes áreas geográficas (Fruet *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2021). No entanto, para a subespécie oceânica (*T. t. truncatus*), ainda há lacunas no entendimento de possíveis diferenças genéticas entre indivíduos que ocupam habitats neríticos e pelágicos. Compreender esses padrões é particularmente relevante na Bacia de Santos (BS), onde a exploração de recursos marinhos, como a extração de petróleo e gás, tem aumentado significativamente (PETROBRAS, 2024a). Essas atividades representam uma potencial ameaça à integridade dos habitats marinhos e podem impactar a conectividade e a dinâmica populacional de espécies marinhas (Paschoalini *et al.*, 2020).

Assim, entender a diversidade genética e a estruturação populacional de *T. t. truncatus* é essencial para a implementação de estratégias de conservação efetivas. Neste contexto, este trabalho busca avaliar a diversidade genética de golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) na BS, utilizando a região controle do mtDNA. Além disso, será investigada a diferenciação genética entre indivíduos das subespécies costeira e oceânica, contribuindo para o entendimento das zonas híbridas e fornecendo subsídios para estratégias de manejo e conservação, especialmente frente às atividades antrópicas intensas na região.

## 2 HIPÓTESE

A partir dessas informações, este estudo tem como hipóteses:

1. A subespécie oceânica, *Tursiops truncatus truncatus*, apresenta estruturação populacional longitudinal na região da Bacia de Santos, devido à associação de indivíduos a habitats distintos: alguns relacionados às águas profundas (batimetria > 200 metros), enquanto outros a águas rasas (batimetria < 200 metros);

2. Mesmo com uma sobreposição de distribuição de *T. t. truncatus* e *T. t. gephyreus* na região sul do Brasil, a conectividade genética entre essas subespécies é baixa, por apresentarem estado avançado de especiação.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 OBJETIVO GERAL

Compreender a diversidade genética e diferenciação genética dos golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) da Bacia de Santos, assim como o nível de conectividade genética da subespécie oceânica (*T. t. truncatus*) com a subespécie costeira (*T. t. gephyreus*) encontradas no sul do Brasil, com base no marcador mitocondrial.

### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Utilizar a região controle do DNA mitocondrial (mtDNA) para quantificar a diversidade genética de *T. truncatus* na BS;

2. Utilizar a região controle do mtDNA para compreender se há diferenciação genética dentro da subespécie oceânica (*T. t. truncatus*) que habita aBS, levando em consideração informações de distribuição espacial e profundidade onde esses indivíduos foram amostrados;

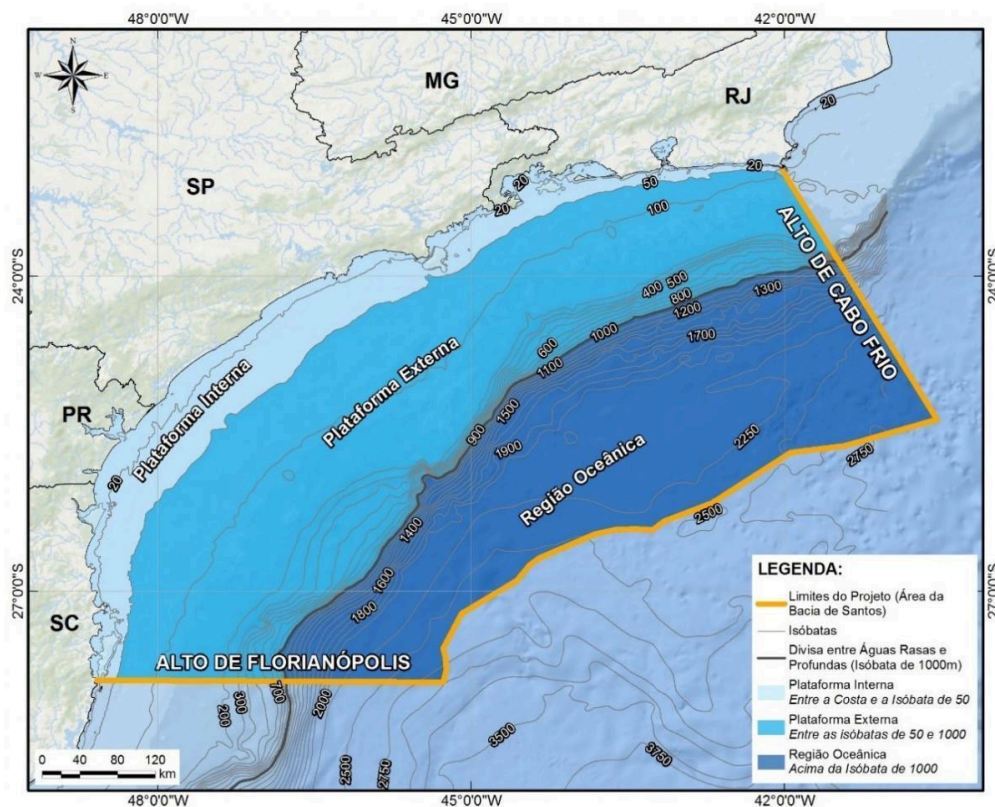
3. Através da região controle do mtDNA, investigar o nível de conectividade genética entre *T. t. truncatus* da BS e indivíduos de *T. t. gephyreus* da região sul do Brasil, onde há uma área de sobreposição de distribuição entre as subespécies.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO E COLETA DAS AMOSTRAS

A Bacia de Santos é a maior bacia sedimentar marítima do Brasil, abrangendo uma área total de 272.567 km<sup>2</sup>, entre as latitudes 23°S e 27°S e longitudes 41°W e 47°W (PETROBRAS, 2024a; Figura 1). Essa bacia tem grande importância econômica devido à exploração de petróleo e gás, mas também pela biodiversidade marinha, com águas que variam entre rasas e profundas. A região possui três zonas principais: a plataforma continental interna (até 50 metros de profundidade), onde a dinâmica costeira e a ressurgência de nutrientes em regiões como Cabo Frio tem maior influência, a plataforma continental externa (de 50 a 1.000 metros de profundidade), onde possui alta produtividade biológica, gerada pelo encontro das correntes do Brasil e das Malvinas, e a região oceânica (acima de 1.000 metros de profundidade), que possui indivíduos adaptados a condições de águas profundas (PETROBRAS, 2024a; Rossi-Wongtschowski & Madureira, 2006). Os estudos realizados na bacia contemplam toda sua faixa costeira, chegando até 350 km de distância da costa e a 2.000 metros de profundidade.

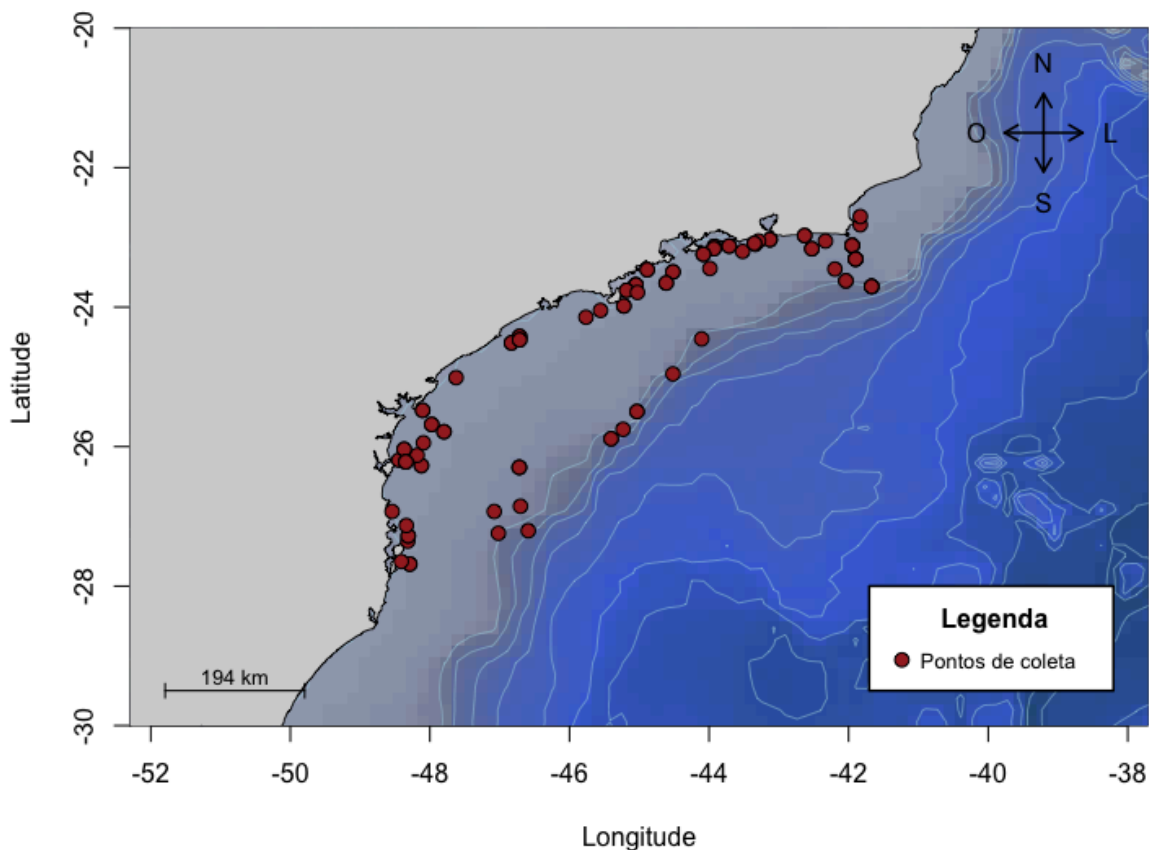
**Figura 1:** Localização e área da Bacia de Santos.



Fonte: Projeto de monitoramento de cetáceos da Bacia de Santos (PMC-BS).

As amostras utilizadas neste estudo foram coletadas pela equipe do Projeto de Monitoramento de Cetáceos da Bacia de Santos (PMC-BS). Foram coletadas 103 biópsias em campanha de avistagem e telemetria (Figura 2). Nos embarques, foram percorridos transectos lineares sistematizados na intenção de cobrir toda a área de estudo na Bacia de Santos (PETROBRAS, 2024a; Figura 3). Para a coleta das biópsias, foram utilizadas balestras e flechas adaptadas atiradas de um navio ou bote inflável (Lambertsen *et al.*, 1987; Figura 4). Logo após a coleta, as biópsias foram armazenadas em etanol 70% e enviadas para o Laboratório de Biologia Genômica e Molecular da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) em Porto Alegre (RS). Todas as amostras do PMC-BS foram identificadas como da subespécie oceânica (*T. t. truncatus*) durante a coleta de campo seguindo características da morfologia externa (Simões-Lopes *et al.* 2019).

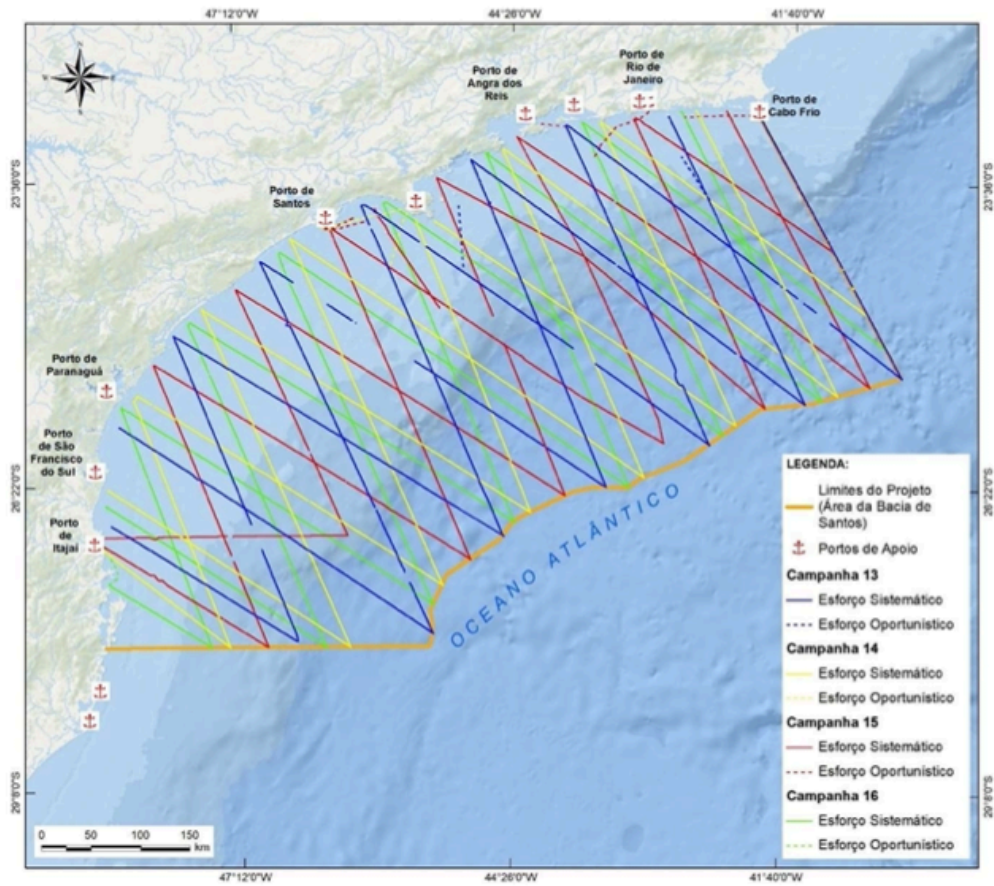
**Figura 2:** Localização das 103 amostras coletadas pela equipe do PMC-BS.



Fonte: Mapa obtido pela autora através do programa RStudio utilizando os pacotes marmap, mapdata, rgdal e randomcoloR.



**Figura 3:** Trajeto percorrido pelas Campanhas de Avistagem Embarcada do PMC-BS.



Fonte: Projeto de monitoramento de cetáceos da Baía de Santos (PMC-BS).

**Figura 4:** Coleta de biópsia com balestras e dardos flutuantes pela equipe do PMC-BS.



Fonte: Projeto de monitoramento de cetáceos da Baía de Santos (PMC-BS).

## 4.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

A equipe do PMC-BS realizou a extração de DNA e a amplificação da região controladora do mtDNA, assim como a sexagem das amostras na PUCRS. A extração de DNA foi feita com o DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen), seguindo o protocolo do fabricante. Para a sexagem molecular, foram utilizados os primers Y53-3C e Y53-3D; P1-5EZ e P2-3EZ, para amplificar, respectivamente, o gene *sry* (macho específico), e os genes *zfx/zfy* (fêmea e macho), como controle positivo. Já para a amplificação da região controle do mtDNA, foi utilizado um fragmento de 675 pares de base (pb), com os primers Dlp1.5 e Dlp8. Tanto para a sexagem das amostras, como para a amplificação do mtDNA foram realizadas através da reação em cadeia da polimerase (PCR). Na PCR, foram utilizados: 2,5 mM de cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ), 0,2 mM de desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTPs), 0,4  $\mu M$  de cada primer, 0,3 U da enzima 10 Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 1 X o tampão de reação (Invitrogen) e 1  $\mu l$  de DNA (aproximadamente 20 ng). Para a sexagem, o perfil do PCR incluiu uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguida por 35 ciclos compostos de desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 60°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto, com uma extensão final a 72°C por 10 minutos. O produto amplificado foi verificado em gel de agarose a 1,5%, e o sexo dos indivíduos foram identificados como machos (quando as amostras apresentaram duas bandas) ou fêmeas (quando as amostras apresentaram uma única banda). Para o mtDNA, o protocolo de amplificação consistiu em uma desnaturação inicial a 94°C por dois minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 45 segundos, e extensão a 72°C por 40 segundos, finalizando com uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Os resultados de PCR foram encaminhados para a Macrogen Inc. (Seoul, Coréia do Sul), onde foi realizada a purificação e sequenciamento em um sequenciador ABI 3730XL (Applied Biosystems). O sequenciamento foi realizado em ambas as direções. Por último, as sequências foram alinhadas e ajustadas pela equipe do PMC-BS, utilizando o programa SEQUENCHER 5.4.6 (Gene Codes Corporation) (PETROBRAS, 2024a).



### 4.3 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS DE DNA MITOCONDRIAL

A partir de fragmentos de 675 pb da região controle do mtDNA, a identificação taxonômica das sequências foi confirmada utilizando a ferramenta BLAST na plataforma GENBANK (NCBI, 2024). Essa plataforma também foi utilizada para verificar se as sequências obtidas neste estudo tinham 100% de correspondência com sequências de *T. truncatus* registradas em outras localidades do mundo, utilizando a opção % *Pairwise Identity*. Além disso, acessaram-se dados de sequências de 29 haplótipos de *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*, disponibilizados por Costa *et al.* (2021), os quais foram utilizados para identificar as subespécies e aumentar o número amostral do estudo, compreendendo informações sobre a frequência de haplótipos e sexagem desses indivíduos. Essa inclusão adicional resultou em 204 indivíduos do estudo de Costa *et al.* (2021), totalizando 307 amostras analisadas (103 deste estudo e 204 de Costa *et al.* 2021; Apêndice A).

As amostras foram separadas em três grupos: nerítico, pelágico e *T. t. gephyreus*. A classificação desses grupos teve como base as informações de profundidade descritas nas planilhas de campo disponibilizadas no SisPMC (PETROBRAS, 2024b), sendo classificados como nerítico os indivíduos associados a profundidades menores que 200 metros, e pelágica acima de 200 metros, associadas a águas mais profundas. Para as amostras sem informações de profundidade, foram utilizados mapas gerados no programa RStudio v2022.07.0 (RSTUDIO TEAM, 2019), sendo possível observar a localização geográfica em relação à batimetria. A classificação de *T. t. gephyreus* foi baseada na identificação taxonômica disponibilizada por Costa *et al.* (2021). Os pacotes *marmap*, *mapdata*, *rgdal* e *randomcoloR*, foram utilizados no programa RStudio v2022.07.0 (RSTUDIO TEAM, 2019) para a produção dos mapas geográficos, os quais foram produzidos a fim de observar padrões espaciais de distribuição das amostras, como a separação dos grupos associados a plataforma continental ou região pelágica, e os haplótipos. O programa também foi utilizado para realizar o teste de qui-quadrado de independência, verificando a relação entre sexo e subespécie (*T. t. truncatus* e *T. t. gephyreus*), assim como entre sexo e os grupos estabelecidos (nerítico, pelágico e *T. t. gephyreus*).

Todas as sequências utilizadas neste estudo (N = 307; 103 do PMC-BS e 204 de Costa *et al.* 2021) foram alinhadas utilizando o programa MUSCLE, implementado no software MEGA v6.06 (Kumar *et al.*, 2018). O alinhamento foi convertido para o formato de entrada para o programa DNAsp v6.12.03 (Rozas *et al.*, 2017), que foi utilizado para identificar a frequência haplotípica das amostras. A relação genética entre os haplótipos foi

investigada utilizando o programa NETWORK v10.2.0.0 (Bandelt *et al.*, 1999), através da construção de uma rede haplotípica aplicando o método *median-joining network*. O programa ARLEQUIN v3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2010) foi utilizado para estimar as diversidades haplotípica e nucleotídica dentro de cada grupo (nerítico, pelágico e *T. t. gephyreus*). A análise da variância molecular (AMOVA) foi realizada para quantificar a variação genética dentro e entre os grupos, utilizando 10.000 permutações para testar a significância dos valores observados. Os índices de fixação ( $F_{st}$  e  $\Phi_{st}$ ) foram calculados para avaliar o nível de diferenciação genética entre os grupos. O cálculo  $F_{st}$  evidencia a proporção da variação nas frequências alélicas entre os grupos em relação à variação total da população, enquanto o  $\Phi_{st}$  leva em consideração a diferenças de sequências nucleotídicas entre os haplótipos. Para o cálculo de  $\Phi_{st}$ , o melhor modelo evolutivo selecionado foi o Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993), estimado através do jModelTest v2.1.6 (Posada, 2008) no CIPRES Science Gateway (Miller, Pfeiffer & Schwartz, 2010), utilizando o algoritmo Bayesian Information Criterion (BIC).

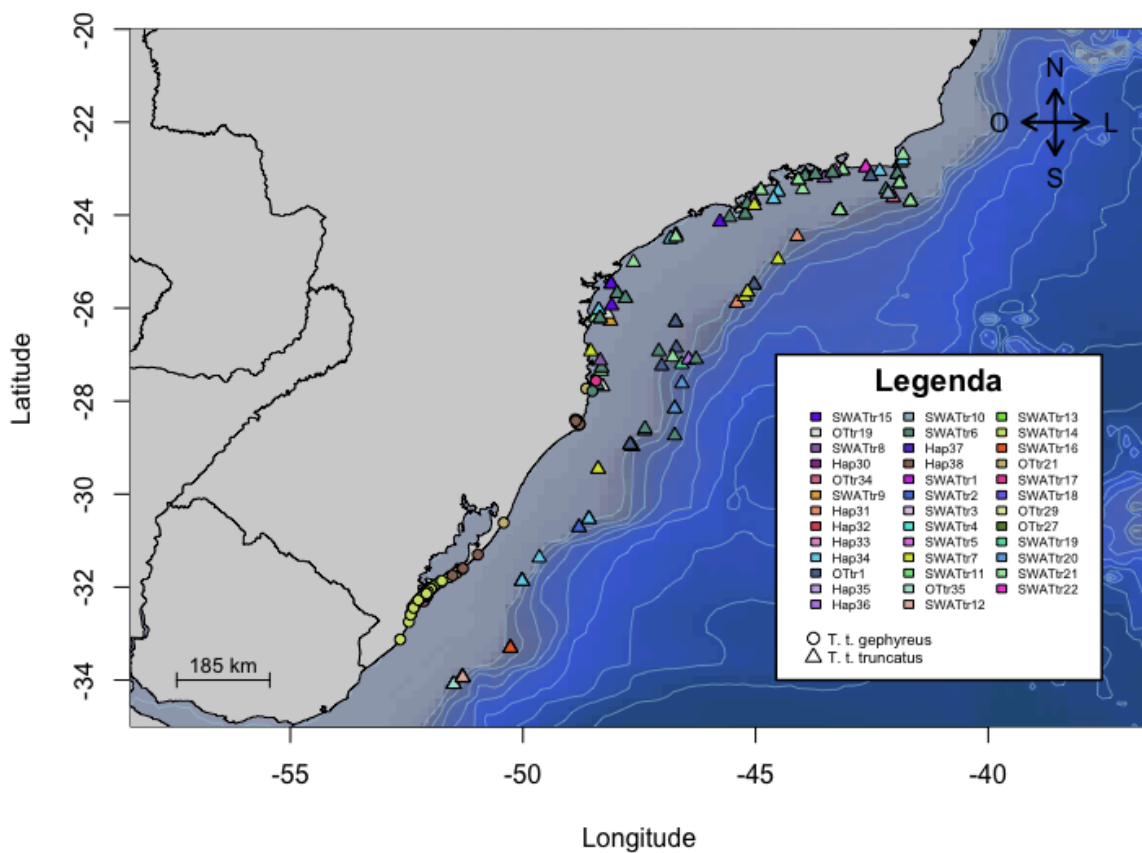
## 5 RESULTADOS

Foi identificado um total de 19 haplótipos entre as 103 sequências do PMC-BS utilizando um fragmento de 675 pb da região controle do mtDNA. Todas as sequências utilizadas neste estudo foram identificadas como pertencentes à *Tursiops truncatus*. Das 103 amostras de mtDNA coletadas pelo PMC-BS, sete sequências apresentaram 100% de compatibilidade com registros de quatro indivíduos no Oceano Atlântico Norte disponíveis no GenBank (DQ073659, DQ073670, KF570321, KT601200). Essas sete sequências correspondem ao haplótipo OTr19 e foram encontradas no grupo nerítico (N = 4; G14, G122, G342, G555) e pelágico (N = 3; G2, G84, G168). A identificação foi feita com base no alinhamento máximo da região em comum entre as sequências, a qual variou de 826 a 16387 pb.

Após o alinhamento das 307 sequências utilizadas neste estudo, o tamanho dos fragmentos das sequências do PMC-BS diminuiu de 675 pb para 346 pb. Entre as 307 amostras, 145 foram previamente identificadas como *T. t. gephyreus* e 162 como *T. t. truncatus*. No total, foram identificados 38 haplótipos utilizando um fragmento de 346 pb da região controle do mtDNA (Figura 5): nove haplótipos exclusivos das amostras do PMC-BS e encontrados neste estudo, 21 haplótipos exclusivos das amostras coletadas por Costa *et al.* (2021) (sete de *T. t. gephyreus* e 14 de *T. t. truncatus*), e oito haplótipos de *T. t. truncatus*

compartilhados entre ambos os estudos. O haplótipo OTtr34 foi o único compartilhado entre as subespécies *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus* (Figura 6). Além disso, através da sexagem prévia das amostras, foram identificados 142 indivíduos machos (67 *T. t. gephyreus* e 75 *T. t. truncatus*), 151 fêmeas (63 *T. t. gephyreus* e 88 *T. t. truncatus*) e 14 não tiveram o sexo determinado (10 *T. t. gephyreus* e 4 *T. t. truncatus*) (Figura 7). A razão sexual entre as duas subespécies foi comparada estatisticamente, utilizando o teste de Qui-quadrado, mas não observou-se diferença significativa ( $X^2 = 0,6768$ ,  $p = 0,4107$ ).

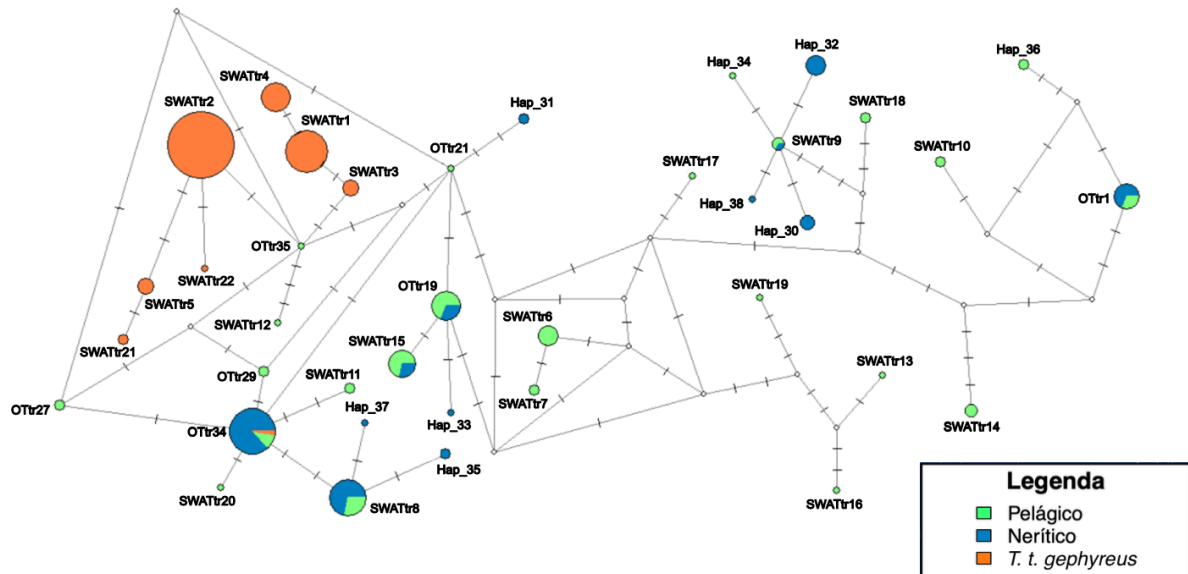
**Figura 5:** Mapa com a distribuição das amostras por subespécie e haplótipo.



Fonte: Mapa obtido pela autora através do programa RStudio utilizando os pacotes marmap, mapdata, rgdal e randomcoloR.

Legenda: Distribuição geográfica das amostras usadas neste estudo de acordo com o haplótipo e com a classificação taxonômica definida em Costa et al. (2021) ou por identificação em campo de acordo com a morfologia externa seguindo Simões-Lopes et al. (2019). Cada cor representa um haplótipo e cada símbolo representa uma subespécie. SWATtr: haplótipos originalmente encontrados em Costa et al. (2021); OTtr: haplótipos originalmente encontrados em golfinhos nariz-de-garrafa oceânicos do Atlântico Norte; Hap: haplótipos encontrados neste estudo em amostras do PMC-BS.

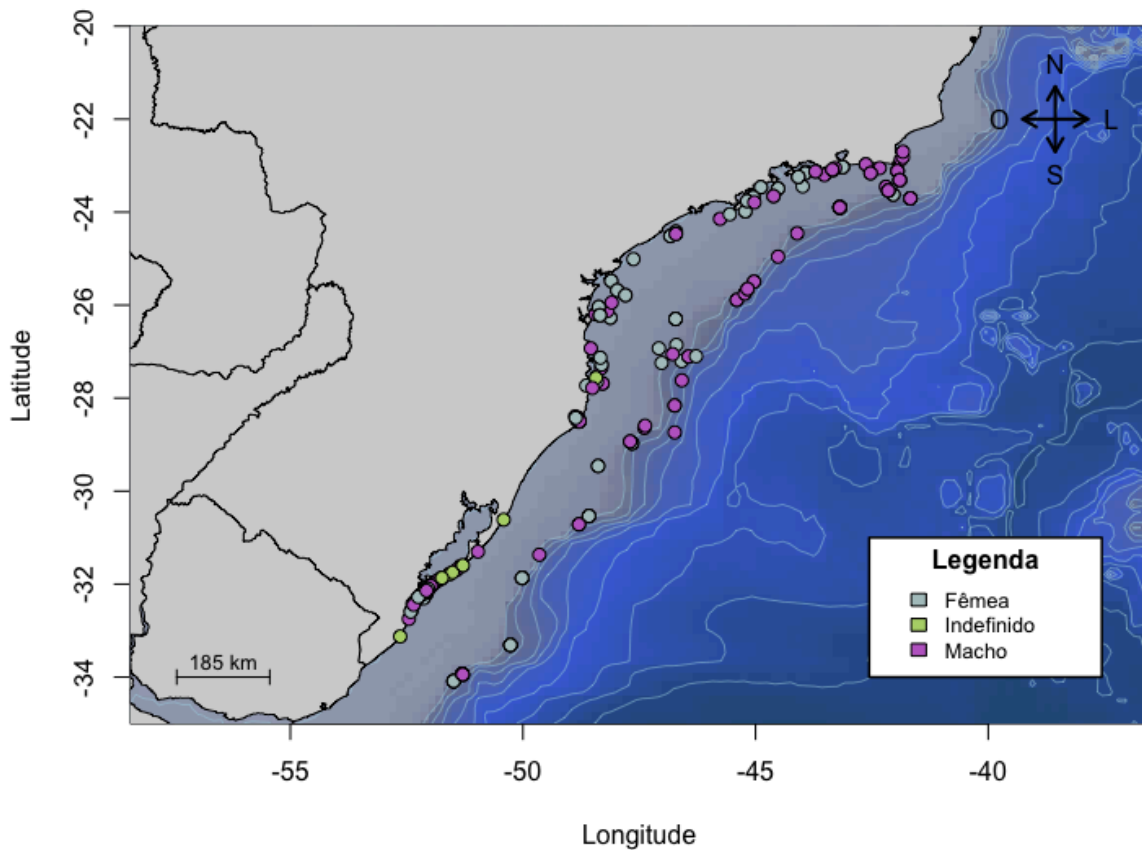
**Figura 6:** Rede haplotípica dos 38 haplótipos encontrados nas 307 amostras usadas neste trabalho.



Fonte: Rede haplotípica obtida pela autora através do programa Network.

Legenda: A frequência dos haplótipos é proporcional ao tamanho dos círculos. Os círculos de cor azul, verde e laranja representam haplótipos, círculos pretos representam possíveis haplótipos intermediários não amostrados ou extintos, e os traços pretos entre as linhas que conectam os haplótipos representam mutações.

**Figura 7:** Mapa com a distribuição das amostras por sexo.



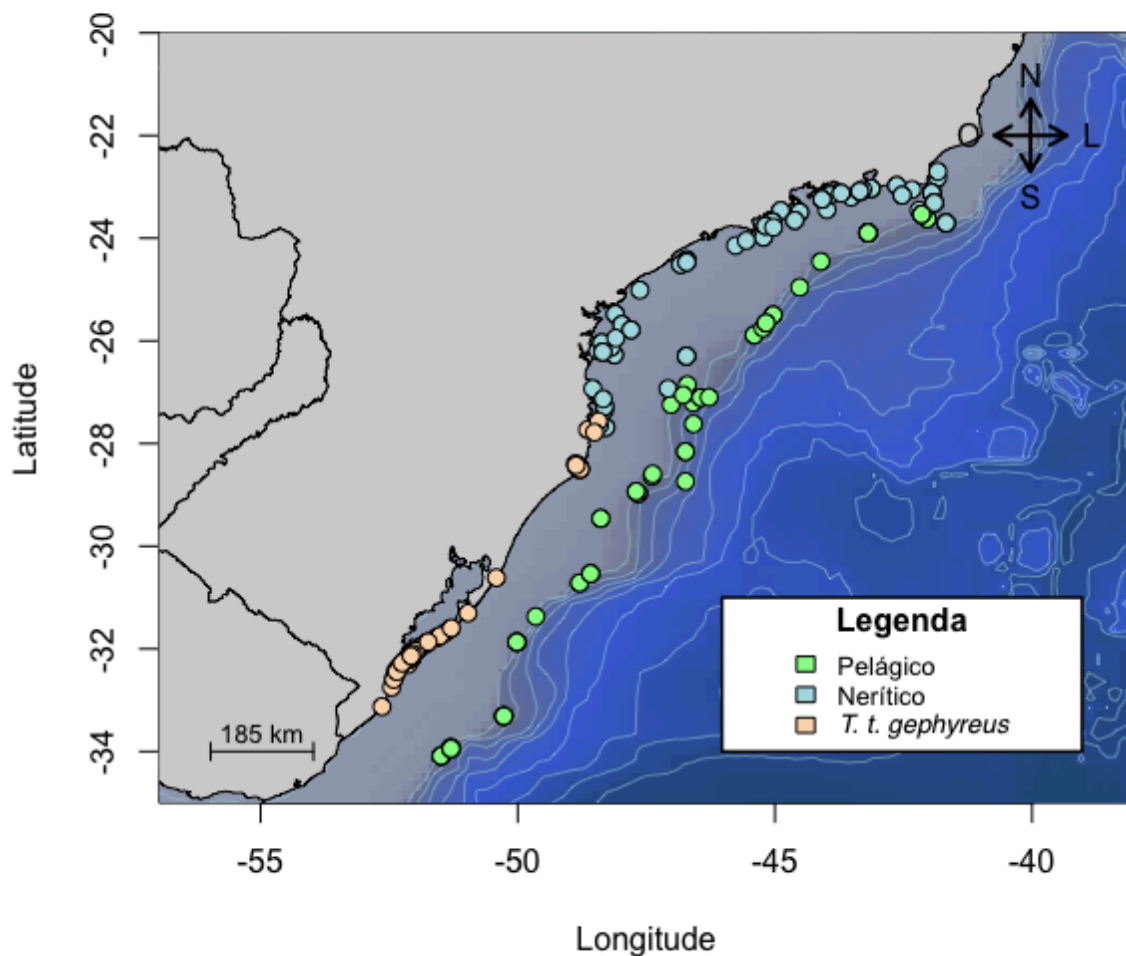
Fonte: Mapa obtido pela autora através do programa RStudio utilizando os pacotes marmap, mapdata, rgdal e randomcoloR.

Legenda: Distribuição geográfica das amostras usadas neste estudo de acordo com o sexo.

Não foram encontrados padrões evidentes de diferenciação por sexo ou por haplótipos nos mapas de distribuição. No entanto, foi observado um padrão na distribuição espacial desses indivíduos de acordo com a classificação taxonômica e profundidade das águas onde as amostras foram coletadas. Observou-se que todas as amostras classificadas como *T. t. gephyreus* (de acordo com Costa *et al.*, 2021) foram coletadas em águas rasas (< 30 metros de profundidade) estuarinas e costeiras, já as amostras classificadas como *T. t. truncatus* (de acordo com Costa *et al.*, 2021 ou classificação em campo conforme a morfologia externa) estavam distribuídas espacialmente em duas áreas. Um grupo de indivíduos *T. t. truncatus* (N = 90) estava distribuído ao longo da plataforma continental (< 200 metros de profundidade), enquanto outro grupo oceânico (N = 72) estava distribuído na área pelágica (na faixa de 200 metros ou mais de profundidade). Esses dois grupos oceânicos foram aqui chamados de nerítico e pelágico, respectivamente. Ao separar as amostras nestes

três grupos (nerítico, pelágico e *T. t. gephyreus*; Figura 8), as seguintes distribuições por sexo foram observadas: para *T. t. gephyreus* (N = 145), 63 indivíduos foram identificados como fêmeas e 67 como machos; no grupo nerítico (N = 90), 53 eram fêmeas e 38 machos; e no grupo pelágico (N = 72), 35 fêmeas e 37 machos. Diferenças na razão sexual entre os três grupos também foram verificadas com o teste de Qui-quadrado, mas não se observou resultados significativos ( $X^2 = 2,3770$ ,  $p = 0,3047$ ).

**Figura 8:** Mapa com a distribuição das amostras por grupos classificados de acordo com a classificação taxonômica e profundidade.



Fonte: Mapa obtido pela autora através do programa RStudio utilizando os pacotes marmap, mapdata, rgdal e randomcoloR.

Legenda: Distribuição geográfica das amostras usadas neste estudo de acordo com o grupo.

Dentro de cada grupo, foi observado que *T. t. gephyreus* (N = 145) apresentou oito haplótipos, 12 sítios polimórficos, uma diversidade haplotípica (h) de 0,6178 (D.P = 0,0353) e

diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) de 0,0086 (D.P = 0,0050). O grupo pelágico (N = 72) apresentou 24 haplótipos, 33 sítios polimórficos, com diversidades haplotípicas e nucleotídicas altas ( $h = 0,9327$ , D.P = 0,0133;  $\pi = 0,0179$ , D.P = 0,0095). Já o grupo nerítico (N = 90) apresentou 13 haplótipos, 18 sítios polimórficos, com  $h$  de 0,7998 (D.P = 0,0305), e  $\pi$  de 0,0134 (D.P = 0,0073). O teste AMOVA indicou que 22.82% da variação genética ocorre entre os grupos, enquanto 77.18% ocorrem dentro dos grupos. Os índices de diferenciação genética ( $Fst$  e  $\Phi st$ ) mostraram um grau moderado de diferenciação entre os grupos oceânicos, e reforçam as diferenças genéticas significativamente elevadas entre os grupos oceânicos e *T. t. gephyreus* (Tabela 1).

**Tabela 1:** Valores de diferenciação genética ( $Fst$  e  $\Phi st$ ) entre *T. t. gephyreus* e os grupos nerítico e pelágico ( $p < 0,05$ ).

$Fst/\Phi st$	<i>T. t. gephyreus</i>	Pelágico	Nerítico
<i>T. t. gephyreus</i>	-	0,4104	0,4339
Pelágico	0,2380	-	0,0693
Nerítico	0,2960	0,0783	-

Legenda: valores de  $Fst$  na diagonal inferior e de  $\Phi st$  na diagonal superior.

A rede haplotípica (Figura 6) mostra as relações de frequência e proximidade genética entre os 38 haplótipos identificados neste estudo. Nela, foi possível observar que o grupo *gephyreus* forma um clado, enquanto os haplótipos do grupo nerítico estão distribuídos em dois extremos opostos e do grupo pelágico ocupam uma posição mais central. Seis haplótipos são compartilhados entre os grupos, sendo cinco entre *pelágico-nerítico* e um (OTtr34) entre *pelágico-nerítico-gephyreus*. O haplótipo OTtr19, retirado do GenBank de amostras de golfinhos nariz-de-garrafa oceânicos do Atlântico Norte Ocidental e também encontrado no grupo nerítico e pelágico deste estudo, sugere uma conectividade entre os golfinhos nariz-de-garrafa do Atlântico Norte e do Atlântico Sul. Também é possível observar a alta diversidade genética da subespécie *T. t. truncatus* contrastando com a menor diversidade em *T. t. gephyreus*.

## 6 DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, foram identificados 38 haplótipos de *Tursiops truncatus* utilizando um fragmento de 346 pb da região controle do mtDNA, sendo sete associados a *T. t. gephyreus* e 31 a *T. t. truncatus*. Além disso, na análise de diversidade genética, *T. t. gephyreus* apresentou os menores índices de diversidade haplotípica e nucleotídica ( $h = 0,6178$ ,  $\pi = 0,0086$ ), corroborando estudos prévios que apontam maior variabilidade em *T. t. truncatus*, possivelmente em função da sua ampla área de distribuição, menor fidelidade ao habitat e formação de grandes grupos. Por outro lado, o comportamento costeiro e a preferência a ambientes estuarinos de *T. t. gephyreus*, aliada a altos níveis de filopatria, limitam a troca genética entre populações, apresentando menor variabilidade genética (Simões-Lopes *et al.*, 2019; Costa *et al.*, 2021; Tardin *et al.*, 2019). Entre os haplótipos identificados, o OTtr34 foi o único compartilhado entre *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*, sugerindo que há alguma conectividade entre essas subespécies. Isso pode ser resultado da sobreposição de áreas de distribuição ou indicar que esse haplótipo seja derivado de um ancestral comum, refletindo uma relação filogenética histórica. Estudos prévios, como Costa *et al.* (2021) e Oliveira *et al.* (2019), apontam evidências de introgressão genética entre as subespécies, utilizando marcadores nucleares. Contudo, as diferenças genéticas significativas observadas ( $F_{st} = 0,2282$ ;  $\Phi_{st} = 0,2232$ ; Tabela 1) indicam que há isolamento reprodutivo significativo entre essas subespécies e a existência de barreiras ecológicas ou comportamentais que limitam o cruzamento atual (Costa *et al.*, 2021). A análise da rede haplotípica reforça a separação entre as subespécies, mostrando que *T. t. gephyreus* forma um clado distinto (Figura 7). Esses resultados destacam a complexidade da estrutura populacional entre *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*, com o comportamento filopátrico observado em *T. t. gephyreus* contribuindo para a baixa conectividade genética, como evidenciado pelos índices de fixação.

Na Bacia de Santos, as condições ambientais, como a profundidade e a disponibilidade de alimentos, variam significativamente dependendo da longitude (Rossi-Wongtschowski & Madureira, 2006), influenciando o comportamento alimentar e o uso de habitat dos golfinhos-nariz-de-garrafa. Em regiões pelágicas, onde a profundidade é maior ( $> 200$  metros), os golfinhos se alimentam de presas típicas de ambientes pelágicos, como espécies de peixes e cefalópodes, cujas abundâncias são influenciadas principalmente pelas correntes oceânicas, como a Corrente do Brasil e a Corrente das Malvinas, e ressurgências que influenciam a distribuição. Já em ambientes neríticos ( $< 200$  metros), os



golfinhos podem se alimentar de espécies associadas ao fundo, como pequenos peixes pelágicos e crustáceos, com maior abundância em regiões de plataforma continental e ressurgências costeiras (Wells *et al.*, 1999; Rossi-Wongtschowski & Madureira, 2006). Essa mudança de alimentação entre os diferentes ambientes marinhos é importante para a compreensão dos diferentes nichos ecológicos ocupados por *T. t. truncatus* e de como esses golfinhos podem adaptar sua dieta dependendo das características locais. Essa adaptação alimentar, por sua vez, pode influenciar a estrutura genética das populações, já que grupos populacionais que frequentam ambientes com diferentes pressões alimentares podem evoluir isoladamente ao longo do tempo (Hoelzel *et al.*, 1998; Costa *et al.* 2021).

No oceano Atlântico Sul Ocidental, grande parte do conhecimento sobre *Tursiops truncatus* está ligado a *T. t. gephyreus*, enquanto para *T. t. truncatus* apresenta lacunas na diversidade genética e nos padrões de distribuição. No entanto, sabe-se que *T. t. truncatus* tem ampla área de distribuição, habita preferencialmente ambientes pelágicos mais profundos (de 3–758 m de profundidade) e se deslocam por longas distâncias, conectando diferentes regiões do Atlântico (Simões-Lopes *et al.*, 2019; Costa *et al.*, 2021; Vollmer & Rosel, 2013; Vollmer & Rosel, 2017). No que diz respeito à diversidade genética, Costa *et al.* (2021) apontam que populações oceânicas de *T. truncatus* apresentam maior variabilidade genética e uma estruturação populacional significativa. Isso indica que, apesar da conectividade histórica indicada por haplótipos compartilhados, como o OTtr19 (encontrado tanto no Atlântico Norte quanto no Atlântico Sul), existem evidências de diferenciação genética entre as populações oceânicas devido a adaptações locais. Portanto, o haplótipo compartilhado pode sugerir, não apenas uma conectividade histórica entre populações oceânicas, mas também a possibilidade de fluxo gênico atualmente, podendo ser mediado por indivíduos em deslocamento ou por eventos ocasionais de mistura genética. Esses fatores, ajudam também a explicar os níveis moderados de diversidade genética observados.

Essas dinâmicas genéticas e ecológicas são complementadas por alguns estudos sobre o uso do habitat e a distribuição de *T. t. truncatus* na costa brasileira. Trabalhos anteriores sugerem que há uma segregação espacial entre os indivíduos que frequentam o norte e o sul da costa sudeste do Brasil e há diferenças de nichos isotópicos entre os sexos (Paschoalini *et al.*, 2020). Oliveira *et al.* (2019) observaram uma estruturação populacional significativa entre golfinho-nariz-de-garrafa nas porções tropical e subtropical do Oceano Atlântico Sul Ocidental. Sobre o uso do habitat de *T. t. truncatus*, Tardin *et al.* (2019) afirmam que essa subespécie tem maior probabilidade de ocorrer em águas frias e com maior concentração de clorofila, indicando a influência do fenômeno de ressurgência na ocorrência

da subespécie na BS. Embora o presente estudo não tenha identificado um padrão latitudinal ou sexual claro, foi observada uma diferenciação genética moderada entre grupos de golfinhos nariz-de-garrafas oceânicos (nerítico e pelágico), em função da profundidade. Esses achados sugerem processos iniciais de divergência populacional, potencialmente relacionados a diferentes preferências por profundidades e condições ambientais.

Além disso, observou-se que o grupo nerítico de *T. t. truncatus*, o qual se encontra também associados a águas mais costeiras tem uma distribuição latitudinal mais limitada que o grupo pelágico. Esse padrão pode estar associado à presença de *T. t. gephyreus*, restrito ao sul do Brasil, Uruguai e Argentina, que pode competir diretamente por recursos nos ambientes costeiros (Simões-Lopes et al., 2019; Costa et al., 2021; Figura 8). Em contrapartida, o grupo pelágico de *T. t. truncatus* se concentra em áreas mais profundas, diminuindo a interação entre as duas subespécies e evitando essa exclusão competitiva.

Por fim, é importante ressaltar que este estudo se baseou apenas em dados de mtDNA, o que limita a interpretação ao histórico materno dessas populações. Estudos futuros com marcadores nucleares, como microssatélites, são necessários para obter uma visão mais abrangente da dinâmica populacional dos golfinhos-nariz-de-garrafa na costa sul do Brasil. Apesar dessa limitação, o mtDNA fornece informações valiosas, especialmente considerando o comportamento filopátrico de fêmeas e a influência disso na estruturação genética (Connor et al., 2000). Além disso, o comportamento altamente móvel de *T. t. truncatus* pode ter levado à coleta de indivíduos neríticos em zonas pelágicas e vice-versa, influenciando na análise da estrutura genética. Os resultados aqui apresentados contribuem para o entendimento das interações ecológicas e genéticas entre subespécies e grupos de *T. truncatus* na Bacia de Santos e ao longo da costa sul do Brasil. Além disso, a diferenciação genética entre os grupos nerítico e pelágico de *T. t. truncatus* aponta para a importância de considerar suas especificidades ecológicas e comportamentais em planos de conservação e manejo.

## 7 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu um melhor entendimento da diversidade e diferenciação genética de *Tursiops truncatus* na Bacia de Santos, assim como a conectividade genética entre essa subespécie oceânica (*T. t. truncatus*) e a subespécie costeira (*T. t. gephyreus*) no sul do Brasil, destacando as complexas interações entre fatores ecológicos, comportamentais e genéticos que moldam essas populações. A identificação de 38 haplótipos e os padrões de diversidade genética observados confirmam diferenças marcantes entre as subespécies *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*. Observou-se uma alta diferenciação genética significativa entre as subespécies, corroborando estudos prévios que descrevem barreiras ecológicas e comportamentais que limitam o fluxo gênico atual. Além disso, os resultados dos índices de fixação obtidos com o uso do marcador mitocondrial revelaram uma diferenciação populacional moderada entre os grupos pelágico e nerítico de *T. t. truncatus* na Bacia de Santos. Essa segregação observada sugere processos iniciais de divergência populacional que podem influenciar estratégias de conservação específicas para cada grupo. No entanto, as limitações do uso exclusivo de dados de mtDNA ressaltam a necessidade de estudos futuros com marcadores nucleares, como microssatélites, para uma visão mais abrangente da dinâmica populacional. Entender a estruturação e diversidade desses grupos é fundamental, principalmente em áreas de intensa atividade antrópica, para orientar estratégias de conservação efetivas, conduzindo melhores abordagens de manejo específicas para cada ambiente e populações.

## REFERÊNCIAS

- BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; RÖHL, A.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, v. 16, n. 1, p. 37–48, 1999.
- COMMITTEE ON TAXONOMY.** List of Marine Mammal Species and Subspecies. Disponível em: <https://marinemammalscience.org/science-and-publications/list-marine-mammal-species-subspecies/>. Acesso em: 5 nov. 2024.
- CONNOR, R. C.; SLOCOMBE, K. E.; HUSSEY, A.** Social relationships in a fission-fusion society. Em: MANN, H. et al. (Eds.). *Cetacean societies: Field studies of dolphins and whales*. [s.l.]: University of Chicago Press, 2000. p. 91–126.
- COSTA, A. P. B.; FRUET, P.; DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C., OTT, P. H., VALIATI, V. H., OLIVEIRA, L. R.** Bottlenose dolphin communities from the southern Brazilian coast: do they exchange genes or are they just neighbours? *Marine & Freshwater Research*, v. 66, n. 12, p. 1201, 2015.
- COSTA, A. P. B.; ROSEL, P. E.; DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C.** Offshore and coastal common bottlenose dolphins of the western South Atlantic face-to-face: What the skull and the spine can tell us. *Marine Mammal Science*, v. 32, n. 4, p. 1433–1457, out. 2016.
- COSTA, A. P. B.; FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C.; DI TULLIO, J. C.; ROSEL, P. E.** Ecological divergence and speciation in common bottlenose dolphins in the western South Atlantic. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 34, n. 1, p. 16–32, 2021.
- DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C.** Mark-recapture vs. line-transect abundance estimates of a coastal dolphin population: a case study of *Tursiops truncatus* from Laguna, southern Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, v. 11, n. 1-2, p. 133-143, 2016.
- 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.
- FRANKHAM, R.** Genetics and extinction. *Biological conservation*, v. 126, n. 2, p. 131–140, 2005.
- FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DAURA-JORGE, F.; VERMEULEN, E.; FLORES, P. A. C.; SIMÕES-LOPES, P. C.; GENOVES, R. C.; LAPORTA, P.; DI TULLIO, J. C.; FREITAS, T. R. O.; DALLA ROSA, L.; VALIATI, V. H.; BEHEREGARAY, L. B.; MÖLLER, L. M.** Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics*, v. 15, n. 4, p. 879–895, 2014.
- FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DI TULLIO, J. C.; SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F.; COSTA, A. P. B.; VERMEULEN, E.; FLORES, P. A. C.; GENOVES, R. C.; LAPORTA, P.; BEHEREGARAY, L. B.; MÖLLER, L. M.** Genetic

divergence between two phenotypically distinct bottlenose dolphin ecotypes suggests separate evolutionary trajectories. *Ecology and Evolution*, v. 7, n. 16, p. 6107–6119, 2017.

**GOMES, A. S.; PALMA, J. J. C.; SILVA, C. G.** Causas e consequências do impacto ambiental da exploração dos recursos minerais marinhos. *Revista Brasileira de Geofísica*, v. 18, n. 3, p. 447–454, 2000.

**HARTL, D. L.** *Primer of Population Genetics*. 2. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, 1988.

**HOELZEL, A. R.; POTTER, C. W.; BEST, P. B.** Genetic differentiation between parapatric “nearshore” and “offshore” populations of the bottlenose dolphin. *Proceedings. Biological sciences*, v. 265, n. 1402, p. 1177–1183, 1998.

**HOELZEL, A. R.** Evolution of population genetic structure in marine mammal species. Em: BERTORELLE, G. et al. (Eds.). *Population Genetics for Animal Conservation*. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 294–318.

**KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K.** MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 1 jun. 2018.

**LAMBERTSEN, R. H.** A biopsy system for large whales and its use for cytogenetics. *Journal of mammalogy*, v. 68, n. 2, p. 443–445, 1987.

**MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T.** Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop*, p. 1–8, 2010.

**NCBI – National Center for Biotechnology Information.** BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. Disponível em: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Acesso em: 15 jun. 2024.

**OLIVEIRA, L. R.; FRAGA, L. D.; OTT, P. H.; SICILIANO, S.; LOPES, F.; ALMEIDA, R.; WICKERT, J. C.; MILMANN, L.; DANILEWICZ, D.; EMIN-LIMA, N. R.; MEIRELLES, A. C.; LUZ, V.; NASCIMENTO, L. F.; DE THOISY, B.; TAVARES, M.; ZERBINI, A. N.; BAUMGARTEN, M.; VALIATI, V. H.; BONATTO, S. L.** Population structure, phylogeography, and genetic diversity of the common bottlenose dolphin in the tropical and subtropical southwestern Atlantic Ocean. *Journal of Mammalogy*, p. 1–14, 2019.

**PASCHOALINI, V. U.; SANTOS, M. C. DE O.** Movements and habitat use of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. Marine Biological Association of the United Kingdom, v. 100, n. 4, p. 651–662, 2020.

**PEREIRA, L. B.; BOTTA, S.; TEIXEIRA, C. R.; FRUET, P.; SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G.** Feeding ecology of two subspecies of bottlenose dolphin: a tooth tale. *Aquatic Ecology*, v. 54, n. 4, p. 941–955, 2020.

**PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M.** *Encyclopedia of Marine Mammals*. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2009. 1352 p.

**PETROBRAS.** Projeto de Monitoramento de Cetáceos (PMC) 8º Relatório Anual. Disponível em: <https://comunicabaciadesantos.petrobras.com.br/projeto-de-monitoramento-de-cetaceos-pmc>. Acesso em: 20 ago. 2024.

**PETROBRAS.** Sistema de Monitoramento de Cetáceos (SISPMC). Disponível em: <https://sispmcprd.petrobras.com.br/sispmc>. Acesso em: 28 outubro. 2024.

**POSADA, D.** jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, v. 25, p. 1253 -1256, 2008.

**ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B.; MADUREIRA, L. S. P. (EDS.).** O Ambiente Oceanográfico Da Plataforma Continental E Do Talude Na Região Sudeste-Sul Do Brasil. [s.l.] Edusp, 2006.

**ROSEL, P. E.; TAYLOR, B. L.; HANCOCK-HANSER, B. L.; MORIN, P. A.; ARCHER, F. I.; LANG, A. R.; MESNICK, S. L.; PEASE, V. L.; PERRIN, W. F.; ROBERTSON, K. M.; LESLIE, M. S.; BERTA, A.; CIPRIANO, F.; PARSONS, K. M.; VIRICEL, A.; VOLLMER, N. L.; MARTIEN, K. K.** A review of molecular genetic markers and analytical approaches that have been used for delimiting marine mammal subspecies and species. *Marine Mammal Science*, v. 33, n. S1, p. 56–75, 2017.

**ROZAS, J.** DnaSP v6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. *Molecular Biology and Evolution*, v. 34, p. 3299–3302, 2017.

**RSTUDIO TEAM.** RStudio: Integrated Development Environment for R. Disponível em: <<http://www.rstudio.com/>>. Acesso em: 24 nov. 2022.

**SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G.; LODI, L.; BEZAMAT, C.; COSTA, A. P. B.; WEDEKIN, L. L.** Bottlenose dolphin ecotypes of the western South Atlantic: the puzzle of habitats, coloration patterns and dorsal fin shapes. *Aquatic Biology*, v. 28, p. 101–111, 2019.

**TAMURA, K.; NEI, M.** Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, v. 10, p. 512-526, 1993.

**TARDIN, R. H.; CHUN, Y.; SIMÃO, S. M.; ALVES, M. A. S.** Habitat use models of spatially auto-correlated data: a case study of the common bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus truncatus*, in southeastern Brazil. *Marine Biology Research*, v. 15, n. 8, p. 632–644, 2019.

**VOLLMER, N. L.; ROSEL, P. E.** A review of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus truncatus*) in the northern Gulf of Mexico: population biology, potential threats, and management. *Southeastern Naturalist*, v. 13, n. m6, p. 1-43, 2013.

**VOLLMER, N. L.; ROSEL, P. E.** Fine-scale population structure of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in offshore and coastal waters of the US Gulf of Mexico. *Marine Biology*, v. 164, p. 160, 2017.

**WELLS, R. S.; SCOTT, M. D.** Handbook of marine mammals. Em: The second book of dolphins and the porpoises. San Diego, CA, USA: Academic Press, 1999.

**ZHANG, Y.; LAN, H.; SHI, L.** Animal mitochondrial DNA polymorphism: a valuable tool for evolutionary studies. *Cell research*, v. 3, n. 2, p. 113–119, 1993.

**ZINK, R. M.; BARROWCLOUGH, G. F.** Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography: NuDNA VS. mtDNA in phylogeography. *Molecular ecology*, v. 17, n. 9, p. 2107–2121, 2008.

**APÊNDICE A - RELAÇÃO DE HAPLÓTIPOS E AS SEQUÊNCIAS ANALISADAS.**

<b>Nome do Haplótipo</b>	<b>Amostras coletadas pela equipe do PMC-BS</b>	<b>Código de acesso das sequências de Costa <i>et. al.</i> (2021)</b>	<b>Número de indivíduos total</b>
SWATtr1	-	MK105857	33
SWATtr2	-	MK105858	82
SWATtr3	-	MK105859	5
SWATtr4	-	MK105860	16
SWATtr5	-	MK105861	5
SWATtr6	G358	MK105862	8
SWATtr7	-	MK105863	2
SWATtr8	G5; G8; G15; G17; G33; G99; G125; G238; G386; G387; G397; G411; G446; G507; G508; G510; G539; G540; G559	MK105864	25
SWATtr9	G18	MK105865	3
SWATtr10	G321	MK105866	2
SWATtr11	-	MK105867	2
SWATtr12	-	MK105868	1
SWATtr13	-	MK105869	1



SWATtr14	-	MK105870	3
SWATtr15	G1; G6; G270; G343; G363; G426; G485	MK105871	14
SWATtr16	-	MK105872	1
SWATtr17	-	MK105873	1
SWATtr18	-	MK105874	2
SWATtr19	-	MK105875	1
SWATtr20	-	MK105876	1
SWATtr21	-	MK105877	2
SWATtr22	-	MK105878	1
OTtr1	G123; G126; G143; G236; G239; G326; G395; G431; G449	DQ845448	13
OTtr19	G2; G14; G84; G122; G168; G342; G344; G555	GQ504083	16
OTtr21	-	GQ504085	1
OTtr27	-	GQ504091	2
OTtr29	-	GQ504094	2
OTtr34	G12; G13; G31; G34; G47; G48; G108; G109; G113; G114; G127; G237; G308; G324; G325; G384; G385; G394; G402; G403; G408; G410; G430; G445; G448; G487; G506; G509; G517; G527; G538; G545; G553; G561	GQ504066	39

OTr35	-	GQ504081	1
Hap_30	G7; G208; G525; G562	-	4
Hap_31	G32; G228	-	2
Hap_32	G37; G276; G327; G409; G443; G526; G544; G563	-	8
Hap_33	G58	-	1
Hap_34	G100	-	1
Hap_35	G128; G444	-	2
Hap_36	G173; G322	-	2
Hap_37	G396	-	1
Hap_38	G486	-	1

