



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Thaís Leal Silva

**Investigação do nível de conectividade populacional entre golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) ao longo da costa de Santa Catarina**

Florianópolis  
2024

Thaís Leal Silva

**Investigação do nível de conectividade populacional entre golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) ao longo da costa de Santa Catarina**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação  
em Ecologia da Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do título de Mestre em Ecologia  
Orientador: Prof. Dr. Paulo César Simões-Lopes  
Coorientadora: Prof. Dra. Ana Paula B. C. Costa

Florianópolis, 2024

Leal, Thais Leal

Investigação do nível de conectividade populacional entre golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) ao longo da costa de Santa Catarina / Thais Leal Leal ; orientador, Paulos César Simões-Lopes, coorientador, Ana Paula B. C. Costa, 2024.

65 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ecologia. 2. Estruturação Populacional . 3. Fluxo Gênico. 4. Diversidade Genética. 5. Conservação . I. Simões-Lopes, Paulos César . II. Costa, Ana Paula B. C. . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ecologia. IV. Título.

Dedico este trabalho às amizades,  
que foram conexões potentes e fizeram  
deste mergulho científico uma possibilidade sã

Thaís Leal Silva

**Investigação do nível de conectividade populacional entre golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) ao longo da costa de Santa Catarina**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 30 de setembro de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

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

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

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Orientador  
Prof. Dr. Paulo César Simões-Lopes

Florianópolis, 2024

## AGRADECIMENTOS

“Eu acordei em estado de agradecimento, e queria dizer, que principalmente nestes dois anos, minha gira não teria girado sem vocês. Vocês também são força, fé e movimento para mim. Vocês são forças que me regem em terra.” Essa frase, que encontrei escrita à mão em uma página de um livro qualquer, guardei para estar aqui, no topo dos meus agradecimentos.

O “vocês” são as amizades. As que caminham comigo há anos, as amizades oriundas do próprio mestrado, aos amigos feitos no barco e aos amigos feito na vida que acontece para além da pós-graduação. A todos vocês, agradeço pelo colorir dos dias, pela escuta, ajuda e momentos compartilhados. Foi a rede de apoio que construímos que fez desses dois anos não apenas possíveis, mas felizes.

Agradeço a minha família, que foram meus primeiros amigos da vida e seguem assim. Especialmente a minha mãe, que é minha dupla neste mundo e a maior incentivadora da minha carreira como pesquisadora e bióloga. A vocês, gratidão pela torcida, pelo querer bem e por incentivarem meus mergulhos profundos.

Agradeço aos meus orientadores, que me guiaram por este caminho, e, contrariando as estatísticas, foram presentes e muitas vezes me entenderam como amigos entendem uns aos outros. Juntos, construímos um mestrado que me trouxe felicidade e realização.

Minha gratidão se estende aos professores do PPGECO, que foram uma fonte de inspiração, contribuíram para meu filosofar ecológico e lapidaram minha criticidade. Agradeço também ao PPGECO e a UFSC pela assistência e suporte.

Sou grata ao Projeto de Monitoramento de Praias da Bacia de Santos (PMP-BS), que é uma atividade desenvolvida para o atendimento de condicionante do licenciamento ambiental federal das atividades da Petrobras de produção e escoamento de petróleo e gás natural na Bacia de Santos, conduzido pelo Ibama (ABIO nº640/2015), que juntamente ao PELD-SELA disponibilizaram os dados necessários para este trabalho. Agradeço ao LAMAQ (UFSC), ao Laboratório Rona-Pitaluga (UFSC), ao Laboratório de Biologia Molecular e Genética (UDESC) e ao LABCAI (UFSC), especialmente à Bárbara Righetti, que foram essenciais para a realização das análises. Agradeço à CAPES pela bolsa concedida durante o mestrado.

Uma gota só, não faz um oceano, obrigada a todos que somaram e seguem somando!

*“Na natureza, nada vive sozinho”*

Rachel Carson (1962)

## RESUMO

Divergências ecológicas desempenham um papel fundamental na estruturação das populações de cetáceos, representando obstáculos ao fluxo gênico. Na costa de Santa Catarina, sul do Brasil, os golfinhos costeiros, nariz-de-garrafa de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*), (1) exibem divergências ecológicas associadas a distintas estratégias de forrageio e filopatria; e (2) em estreita faixa de suas distribuições, vivem em simpatria com a subespécie oceânica, os golfinhos nariz-de-garrafa comum (*T. t. truncatus*). Nesse contexto, utilizaram-se 15 *loci* de microssatélites para investigar a presença de *clusters* genéticos dentro da subespécie costeira (*T. t. gephyreus*), a conectividade entre eles e sua diversidade genética, além do fluxo gênico contemporâneo entre as duas subespécies. Os resultados revelaram a presença de fluxo gênico entre as subespécies *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*, maior que previamente encontrado (2% de migrantes por geração), além de constatar a presença de três híbridos. Esses achados demonstram que há um nível (possivelmente baixo) de interações reprodutivas entre essas subespécies ao longo de uma zona de sobreposição na costa de Santa Catarina, sul do Brasil. Para os golfinhos de Lahille desta região, foram encontradas ao menos dois *clusters*, com os valores de diferenciação genética moderada ( $F_{ST} = 0,075$ ). Um dos *clusters* compreende os indivíduos residentes do estuário de Laguna (LGN), enquanto o outro engloba os que habitam as águas costeiras ao redor da ilha de Florianópolis (FLN). Sendo o *cluster* de LGN também composto por indivíduos que ocupam águas costeiras adjacentes e entre as duas localidades, chamada aqui de área de transição. Os dois *clusters* apresentaram baixa diversidade genética, possivelmente relacionada aos seus pequenos tamanhos efetivos populacionais. A conectividade genética entre os *clusters* parece ser mantida por indivíduos migrantes entre as áreas. Esses achados indicam a necessidade de estabelecer medidas de manejo e conservação que visam evitar a degradação do hábitat e o isolamento completo dos grupos.

**Palavras-chave:** Estrutura populacional, Fluxo gênico, Diversidade genética, Conservação, *Tursiops truncatus*



## ABSTRACT

Ecological divergences play a crucial role in the structuring of cetacean populations, representing obstacles to gene flow. On the Santa Catarina coast, southern Brazil, the coastal Lahille's bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus gephyreus*) (1) exhibit ecological divergences associated with distinct foraging strategies and philopatry; and (2) they live in sympatry with the offshore subspecies, the common bottlenose dolphins (*T. t. truncatus*). In this context, 15 microsatellite *loci* were used to investigate the presence of genetic clusters within the coastal subspecies (*T. t. gephyreus*), their connectivity, genetic diversity, and contemporary gene flow between the two subspecies. The results revealed a greater level of gene flow between *T. t. gephyreus* and *T. t. truncatus* than previously found (2% migrants per generation), and the presence of three hybrids. These findings demonstrate a (possibly low) level of reproductive interaction between the subspecies across an overlap zone on the Santa Catarina coast. For Lahille's dolphins in this region, at least two clusters were identified, with moderate genetic differentiation ( $F_{ST} = 0.075$ ). One cluster includes the resident individuals of Laguna (LGN), while the other cluster contains individuals that inhabit the coastal waters around the Florianópolis island (FLN). The LGN cluster also includes individuals occupying adjacent coastal waters and the waters between the two localities, here called transition area. Both clusters exhibited low genetic diversity, possibly related to their small effective population sizes. Genetic connectivity between the clusters appears to be maintained by migrant individuals between the areas. These findings indicate the need to implement management and conservation measures aimed at preventing habitat degradation and complete isolation of the groups.

**Keywords:** Population structure, Gene flow, Genetic diversity, Conservation, *Tursiops truncatus*

## LISTA DE FIGURAS

### Figuras capítulo único:

Figura 1: Área de estudo e localização das amostras (biópsias e encalhes) .....	27
Figura 2: Análise Bayesiana de <i>Tursiops truncatus</i> ssp. na costa de Santa Catarina.....	34
Figura 3: Análise Bayesiana de <i>Tursiops truncatus gephyreus</i> na costa de Santa Catarina.....	36
Figura S1. Estimativas do melhor K pelo método estatístico a) $\Delta K$ e b) L(K) obtidas para o modelo Admixture (sem LOCPRIOR) para as 65 amostras de <i>Tursiops truncatus</i> ssp. da costa de Santa Catarina, utilizando mais de 11 <i>loci</i> para análise.....	63
Figura S2. Estimativas do melhor K pelo método estatístico a) $\Delta K$ e b) L(K) obtido para modelo No Admixture com LOCPRIOR, utilizando mais de 13 <i>loci</i> , para 46 indivíduos de <i>T. t. gephyreus</i> da costa de Santa Catarina.....	64
Figura S3. Estimativas do melhor K pelo método estatístico a) $\Delta K$ e b) L(K) obtido para Modelo Admixture com LOCPRIOR, utilizando mais de 13 <i>loci</i> , para 46 indivíduos de <i>T. t. gephyreus</i> da costa de Santa Catarina.....	65

## LISTA DE TABELAS

### Tabelas capítulo único:

Tabela 1: Taxas de fluxo gênico contemporâneo entre as subespécies de <i>Tursiops truncatus</i> ssp. inferidas a partir de 15 microssatélites .....	35
Tabela 2: Taxas de fluxo gênico contemporâneo entre os <i>clusters</i> FLN e LGN inferido a partir de 15 <i>loci</i> de microssatélites .....	37
Tabela 3: Diversidade genética de cada <i>cluster</i> de <i>Tursiops truncatus gephyreus</i> na costa de Santa Catarina (FLN e LGN) para 15 <i>loci</i> de microssatélites .....	38
Tabela 4: Tamanho efetivo contemporâneo para <i>Tursiops truncatus gephyreus</i> do cluster LGN.....	39
Tabela S1: Lista de indivíduos utilizados nas análises.....	55
Tabela S2: Concentrações dos reagentes para a PCR de sexagem molecular feita para um volume final de 25 ul.....	58
Tabela S3: Concentrações dos primers mix para as PCRs dos 15 <i>loci</i> de microssatélites conforme Rosel et al. (2017) .....	59
Tabela S4: Condições das PCRs para 15 <i>loci</i> de microssatélites conforme Rosel et al. (2017) .....	60
Tabela S5. Porcentagem de atribuição dos indivíduos de <i>Tursiops truncatus</i> ssp. aos <i>clusters</i> propostos para cada subespécie.....	61

## SUMÁRIO

<b>Introdução Geral</b> .....	13
- Genética e ecologia de populações: .....	13
- Golfinhos nariz-de-garrafa ( <i>Tursiops truncatus</i> ssp.) da costa de Santa Catarina: .....	14
- Objetivos e Hipóteses: .....	17
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	19
<b>1. Introdução</b> .....	23
<b>2. Materiais e Métodos</b> .....	26
2.1 Área de estudo e coleta das amostras .....	26
2.2. Procedimentos laboratoriais .....	27
2.3 Validação dos dados de microssatélites .....	29
2.4 Atribuição das subespécies ( <i>T. t. truncatus</i> x <i>T. t. gephyreus</i> ).....	29
2.5 Estruturação populacional genética de <i>T. t. gephyreus</i> .....	30
2.6 Diversidade genética de <i>T. t. gephyreus</i> e outros parâmetros da genética de populações. 31	
2.7 Fluxo gênico.....	30
<b>3. Resultados</b> .....	32
3.1 Validação dos dados de microssatélites .....	32
3.2 Determinação das subespécies .....	33
3.3 Fluxo gênico entre as subespécies.....	34
3.4 Estruturação populacional e conectividade de <i>T. t. gephyreus</i> .....	35
3.5 Diversidade genética de <i>T. t. gephyreus</i> .....	37
<b>4. Discussão</b> .....	39
4.1 Fluxo gênico entre as subespécies ( <i>T. t. gephyreus</i> e <i>T. t. truncatus</i> ) na área restrita de simpatria.....	39
4.2 Estruturação populacional e conectividade de <i>T. t. gephyreus</i> na costa de Santa Catarina40	
4.3 Diversidade genética de <i>T. t. gephyreus</i> na costa de Santa Catarina.....	43
<b>5. Conclusão</b> .....	45
<b>Referências</b> .....	46
<b>Conclusão Geral</b> .....	54
<b>Material Suplementar</b> .....	55

## INTRODUÇÃO GERAL

### - Genética e ecologia de populações:

Há uma diversidade de definições biológicas encontradas na literatura para conceituar “populações”, mas existem duas principais. Uma que reflete um paradigma ecológico e outra que reflete um paradigma evolutivo. Cada paradigma tem nuances próprias para este conceito, porém, compartilham pontos comuns. No paradigma ecológico, as forças coesivas são predominantemente demográficas, com ênfase na coexistência no espaço e no tempo. Por outro lado, no paradigma evolutivo, as forças coesivas são principalmente genéticas, com foco nas interações reprodutivas entre os indivíduos (ver revisão WAPLES & GAGGIOTTI, 2006). Esses dois paradigmas refletem o conceito de estruturação populacional, que consiste em duas partes distintas e relacionadas: a estrutura demográfica e a estrutura genética. A estrutura demográfica está associada a todos os processos de nascimento, morte, dispersão/migração, incluindo o sistema de acasalamento e a história de vida. Já a estrutura genética é determinada a partir da estrutura demográfica, somada aos processos de seleção, recombinação e mutação (REAL, 1994).

Ambos os conceitos são utilizados para quantificar o número de populações no ambiente natural, mas a estrutura genética mostra-se uma abordagem interessante para avaliar populações que não estão organizadas de forma clara no espaço. Uma vez que, para tal cálculo, ela se utiliza do entendimento de como a variação genética está distribuída, e não necessariamente considera as barreiras físicas que possam limitar o local onde as populações ocorrem. O diálogo entre a teoria de estruturação populacional genética e os dados empíricos é feito por meio de marcadores moleculares, que são proteínas ou sequências de DNA polimórficas capazes de revelar variações no genoma, mostrando as diferenças genéticas entre os indivíduos estudados (BEEBEE & ROWE, 2004). Um exemplo destes marcadores são os microssatélites, sequências não-codificantes, pequenas e repetidas do DNA nuclear, de herança biparental, e altamente polimórficos (JARNE & LAGODA, 1996).

A estruturação populacional pode ocorrer em diferentes níveis hierárquicos: dentro das populações, entre populações da mesma espécie e entre populações de espécies diferentes (CONNER & HARTL., 2004). Estas são guiadas pela

dispersão/migração, acasalamento e posterior trocas gênicas. Limitantes para esses três guias de estruturação costumam ser as barreiras físicas e/ou a capacidade de dispersão dos indivíduos. Entretanto, existem *taxa* que não estão sujeitos a esses limitantes agindo sobre suas estruturações populacionais, pois apresentam alta capacidade para dispersão e poucas barreiras, como é o caso dos cetáceos (ANDREWS, 2013). O que costuma guiar a estruturação populacional dos cetáceos são divergências ecológicas que agem sobre seus padrões de dispersão/migração, acasalamento e trocas gênicas. As divergências ecológicas conhecidas por influenciar a estruturação populacional deste táxon são: filopatria, diferentes táticas de forrageio, agrupamentos sociais e especializações de nicho (e.g., ANDREWS et al. 2010; FOOTE & MORIN, 2016; MÖLLER & BEHEREGARAY, 2004).

#### **- Golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus* ssp.) da costa de Santa Catarina:**

Nas águas do Atlântico Sul, vivem em parapatria duas subespécies de golfinho-nariz-de-garrafa, *Tursiops truncatus truncatus* e *Tursiops truncatus gephyreus*. Evidências genéticas, ecológicas, e morfológicas suportam essa diferenciação. A subespécie nominal é o golfinho nariz-de-garrafa comum (*T. t. truncatus*), o qual tem preferência a águas oceânicas profundas ao longo de toda costa brasileira e de distribuição cosmopolita. Estes golfinhos caracterizam-se por terem a nadadeira dorsal falcada, rostró encurtado e coloração cinza escura (COSTA et al., 2016; SIMÕES-LOPES et al., 2019). Já o golfinho nariz-de-garrafa de Lahille (*T. t. gephyreus*) possui uma preferência por águas costeiras, de baixa profundidade, apresentando alta fidelidade de habitat a regiões estuarinas, bocas de rios e baías. Esta é uma subespécie endêmica das águas costeiras entre o sul do Brasil e o sul da Argentina, apresentando uma nadadeira dorsal triangular, rostró alongado e coloração cinza clara (COSTA et al., 2016; DAURA-JORGE et al., 2013; SIMÕES-LOPES et al., 1998; VERMEULEN & CAMMARERI, 2009). Apesar de habitarem áreas contíguas, um estudo realizado com isótopos estáveis demonstrou sobreposição de nicho isotópico entre as diferentes unidades taxonômicas, essa sobreposição representa 2,43% da distribuição da subespécie costeira e 1,84% da subespécie oceânica (PEREIRA et al., 2020). Esta área de distribuição compartilhada entre as subespécies acontece em uma estreita faixa (25°51'50"S a 28°29'39"S) ao longo da costa de Santa Catarina (SIMÕES-LOPES et al., 2019). A subespécie costeira, *T. t. gephyreus*, é reconhecida por ser uma linhagem

evolutiva incipiente, sendo o fluxo gênico contemporâneo com *T. t. truncatus* anteriormente calculado em aproximadamente 1% de migrantes por geração (COSTA et al., 2021). Este estudo também demonstrou evidências de indivíduos híbridos.

Com foco na subespécie costeira na costa de Santa Catarina, um pequeno grupo populacional de *T. t. gephyreus* pode ser observado durante todo o ano no Complexo Lagunar de Santo Antônio dos Anjos-Imaruí-Mirim, adjacente à cidade de Laguna (DAURA-JORGE et al., 2013; SIMÕES-LOPES, 1991; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Esse grupo é amplamente estudado e é reconhecido por duas importantes características: a cooperação entre golfinhos e pescadores (SIMÕES-LOPES, 1991) e o alto nível de filopatria (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999), tratado aqui com padrão de residência ao estuário, com alguns indivíduos saindo da área e retornando, todos apresentando fidelidade a região de Laguna. A cooperação interespecífica se manifesta na forma de pesca cooperativa, uma interação na qual os golfinhos cooperativos conduzem cardumes de peixes, especialmente tainhas, na direção dos pescadores artesanais em terra. Estes lançam suas redes após observar comportamentos estereotipados dos golfinhos (SIMÕES-LOPES et al., 1998; SIMÕES-LOPES et al., 2016). Essa interação tem mostrado benefícios tanto para pescadores quanto para golfinhos, resultando em maior sucesso de captura para ambos os grupos. No entanto, nem todos os indivíduos residentes adotam essa tática de forrageio, uma parte do grupo populacional prefere forragear sem a interação mutualística com os pescadores, agindo de forma independente, e são conhecidos como golfinhos “não-cooperativos”. Essa especialização de forrageio está levando à diferenciação social dentro do grupo de Laguna, onde os golfinhos procuram associar-se com indivíduos que praticam com similar frequência a mesma tática para procura de alimentos (MACHADO et al., 2019). Além disso, observa-se variação na distribuição espacial, com os golfinhos não-cooperativos percorrendo áreas maiores para forragear, enquanto os indivíduos cooperativos utilizam áreas mais restritas em torno dos locais onde ocorrem a pesca cooperativa (CANTOR et al., 2018).

Além disso, os indivíduos de *T. t. gephyreus* demonstram um padrão de filopatria marcante na região estuarina de Laguna. Essa população filopátrica é pequena, com cerca de 50 indivíduos, e parece ter mantido esse tamanho populacional estável por quase três décadas (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999; DAURA-JORGE et al., 2013). Apesar da alta fidelidade dos golfinhos à Laguna, eles apresentam diferentes níveis de residência na região, sendo que as fêmeas mostram um grau de residência maior do que

os machos; o maior índice de residência estimado para os machos foi de 22,2%, enquanto para as fêmeas foi de 81,4% (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Foi demonstrado que os golfinhos residentes exibem emigração temporária, mas de baixa probabilidade. Além disso, a probabilidade de os indivíduos permanecerem na área e a probabilidade de os emigrantes regressarem são elevadas (DAURA-JORGE et al. 2013). Um estudo mais recente aponta que a emigração não foi evidente numa escala anual e obteve altas taxas de recaptura de indivíduos marcados, coincidindo com alta fidelidade ao local e padrões de residência (BEZAMAT et al., 2018). Contudo, há registros de residentes deslocando-se para outras áreas (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Por exemplo, alguns indivíduos residentes de Laguna foram avistados na foz do rio Araranguá (65 km ao sul do estuário de Laguna); um macho residente de Laguna foi avistado em Itajaí (200 km ao norte do estuário de Laguna) (BEZAMAT et al., 2018); e indivíduos machos residentes de Laguna foram relatados em Tramandaí (cerca de 220 km ao sul do estuário) (SIMÕES-LOPES; FABIAN, 1999). Além disso, há registros de avistamentos de indivíduos não residentes na região de Laguna (SIMÕES-LOPES; FABIAN, 1999).

Além dos golfinhos residentes do estuário de Laguna, há também indivíduos encontrados ao longo de toda a costa do estado de Santa Catarina, considerados aqui como não-residentes de Laguna. Registros anteriores demonstraram a presença temporária de indivíduos não-residentes no estuário de Laguna (SIMÕES-LOPES; FABIAN, 1999). No entanto, há escassez de estudos sobre esses golfinhos não-residentes, e as pesquisas existentes não fazem distinção entre *T. t. geophyreus* e *T. t. truncatus*. Sabe-se que golfinhos nariz-de-garrafa (*T. truncatus* ssp.) são encontrados em toda costa do estado. Em particular, nas águas ao redor de Florianópolis, golfinhos nariz-de-garrafa são observados em praticamente todos os ambientes costeiros. Há avistamentos tanto em águas protegidas das Baías Norte e Sul, quanto em mar aberto ao longo de toda a porção leste da Ilha de Santa Catarina, como também em suas porções continentais ao norte e ao sul. Registros de encalhe demonstram que ambas subespécies são encontradas ao redor da Ilha (COSTA et al., 2016), mas devido a preferência de habitat da subespécie costeira, hipotetiza-se que a mesma apresente preferência pelas águas rasas da Ilha, sendo encontrada principalmente na região das Baías Norte e Sul. Porém pouco se sabe sobre o nível de filopatria e tamanho populacional destes indivíduos costeiros (FLORES & FONTOURA, 2006; WEDEKIN et al., 2008). Os grupos populacionais de Florianópolis e Laguna foram consideradas duas diferentes



Unidades de Manejo (UMs), ou seja, populações demograficamente distintas que deveriam ser manejadas separadamente para manter a viabilidade da metapopulação por apresentarem baixos níveis de fluxo gênico e diferenciação genética, estes grupos também foram considerados diferentes UMs em relação ao grupos populacionais de outras regiões do sul do Brasil (Norte da Lagoa dos Patos, Estuário da Lagoa dos Patos e Sul da Lagoa dos Patos) e Uruguai (FRUET et al., 2014).

Os níveis de filopatria dos grupos populacionais da subespécie costeira e a presença de diferentes táticas de forrageio (SIMÕES-LOPES et al., 1998) e de módulos sociais (DAURA-JORGE et al., 2012; MACHADO et al., 2019) dentro da subpopulação residente de Laguna podem ser possíveis guias de variação genética intrapopulacional. Assim, os golfinhos nariz-de-garrafa da costa catarinense mostram-se objetos interessantes de estudo para a investigação da estruturação populacional genética e a relação desta com questões ecológicas.

#### **- Objetivos e Hipóteses:**

Se considerarmos informações de distribuição geográfica e grau de fidelidade ao habitat, podemos definir distintos grupos populacionais da subespécie costeira (*Tursiops truncatus gephyreus*) ao longo da costa de Santa Catarina. Contudo, a relação genética entre esses distintos grupos não é ainda muito bem esclarecida já que os poucos estudos anteriores focaram num pequeno número amostral ou em apenas em um único grupo da costa de Santa Catarina (FRUET et al., 2014; COSTA et al., 2015). Dado que nosso estudo inclui amostras de indivíduos provenientes da área de transição entre as regiões anteriormente analisadas por Fruet et al. (2014), a nossa hipótese inicial é que a conectividade genética entre os *clusters* identificados será maior do que a observada anteriormente. Dessa forma, esta dissertação tem como principal objetivo avaliar o grau de conectividade entre os grupos populacionais de *Tursiops truncatus gephyreus* encontrados ao longo da costa de Santa Catarina a fim de explicar a estrutura populacional. Com base em dados já publicados, esperar-se-á encontrar uma estruturação populacional dentro da subespécie costeira, com conectividade genética maior entre os grupos do que foi demonstrado anteriormente, devido à eventuais movimentos entre os indivíduos ao longo da costa (SIMÕES-LOPES et al., 1999).

Os objetivos específicos deste estudo incluem: (A) identificar o número de *clusters* genéticos da subespécie costeira ao longo da costa catarinense utilizando 15

*loci* de microssatélites; (B) analisar a conectividade entre eles através de estimativas de fluxo gênico e diferenciação genética; (C) numa escala mais fina, investigar a presença de estrutura populacional dentro da população residente em Laguna devido à diferenças de forrageio e preferências sociais; e (D) analisar a diversidade genética dentro de cada *cluster* encontrado.

Além dos objetivos exclusivamente voltados a *T. t. gephyreus* há um quinto objetivo específico, o qual é relacionado às subespécies que usam uma zona mista ou híbrida em uma estreita faixa da costa em Santa Catarina, *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*. Nossa hipótese é que o fluxo gênico contemporâneo entre as subespécies é maior que o encontrado por Costa et. al. (2021), uma vez que utilizamos amostras oriundas da área de vida em que estas compartilham. Assim, este estudo visou reavaliar o fluxo gênico entre as subespécies e espera-se encontrar um fluxo gênico atual entre elas, potencialmente baixo já que estas aparentam estar em avançado estado de especiação (COSTA et al., 2021), mas maior do que o anteriormente encontrado.

## REFERÊNCIAS

ANDREWS, K. Population Genetics in the Conservation of Cetaceans and Primates.

**Primates And Cetaceans**, p. 289-308, 2013.

ANDREWS, K. R.; KARCZMARSKI, L.; AU, W.W. L.; RICKARDS, S. H.;

VANDERLIP, C. A.; BOWEN, B. W.; GRAU, E. G.; TOONEN, R. J. Rolling stones and stable homes: social structure, habitat diversity, and population genetics of the Hawaiian spinner dolphin (*Stenella longirostris*). **Molecular Ecology**, v. 19, p. 732–748, 2010.

BEEBEE, T.; ROWE, G. **An Introduction to Molecular Ecology**. Oxford University Press, 2004.

BEZAMAT, C.; SIMÕES-LOPES, P. C.; CASTILHO, P. V.; DAURA-JORGE, F. G.

The influence of cooperative foraging with fishermen on the dynamics of a bottlenose dolphin population. **Marine Mammal Science**, v. 35, n. 3, p. 825-842, 2018.

CANTOR, M.; SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G. Spatial consequences for dolphins specialized in foraging with fishermen. **Animal Behaviour**, v. 139, p. 19-27, 2018.

CONNER, J. K.; HARTL, D. L. What's is Ecological Genetics? In: CONNER, J. K.;

HARTL, D. L. **A Primer of Ecological Genetics**. Sunderland: Sinauer Associates, 2004.

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, p. 1433–1457, 2016.

- COSTA, A. P. B.; FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DAURA-JORGE, F. G.;
- SIMÕES-LOPES, P. C.; TULLIO, J. C. di; 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.; INGRAM, S. N.; SIMÕES-LOPES, P. C. Seasonal abundance and adult survival of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in a community that cooperatively forages with fishermen in southern Brazil. **Marine Mammal Science**, v. 29, p. 293–311, 2013.
- DAURA-JORGE, F. G.; CANTOR, M.; INGRAM, S. N.; LUSSEAU, D.; SIMÕES-LOPES, P. C. The structure of a bottlenose dolphin society is coupled to a unique foraging cooperation with artisanal fishermen. **Biology Letters**, v. 8, n. 5, p. 702-705, 2012.
- FLORES, P. A. C. & FOUNTOURA, N. F. Ecology of marine tucuxi, *Sotalia guianensis*, and bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in Baía Norte, Santa Catarina state, southern Brazil. **Latin American Journal Of Aquatic Mammals**, v. 5, n. 2, p. 105-115, 2006.
- FOOTE, A. D.; VIJAY, N.; ÁVILA-ARCOS, M. C.; BAIRD, R. W.; DURBAN, J. W.; FUMAGALLI, M.; GIBBS, R. A.; HANSON, M. B.; KORNELIUSSEN, T. S.; MARTIN, M. D. Genome-culture coevolution promotes rapid divergence of killer whale ecotypes. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2016.
- FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DAURA-JORGE, F.; VERMEULEN, E.; FLORES, P. A. C.; SIMÕES-LOPES, P. C.; GENOVES, R. C.; LAPORTA, P.; TULLIO, J. C. di; FREITAS, T. R. O. Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. **Conservation Genetics**, n. 15, p. 1-17, 2014.

- JARNE, P.; LAGODA, P. J. L. Microsatellites, from molecules to populations and back. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 11, n. 10, p. 424-429, 1996.
- MACHADO, A. M. S.; CANTOR, M.; COSTA, A. P. B.; RIGHETTI, B. P. H.; BEZAMAT, C.; VALLE-PEREIRA, J. V. S.; SIMÕES-LOPES, P. C.; CASTILHO, P. V.; DAURA-JORGE, F. G. Homophily around specialized foraging underlies dolphin social preferences. **Biology Letters**, v. 15, n. 4, p. 1-5, 2019.
- MÖLLER, L. M.; BEHEREGARAY, L. B. Genetic evidence for sex-biased dispersal in resident bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). **Molecular Ecology**, v. 13, 2004.
- 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.
- REAL, L. A. Gene Flow and Population Structure. In: REAL, Leslie A. **Ecological Genetics**. Princeton: Princeton University Press, 1994.
- SIMÕES-LOPES, P. C. Interaction of coastal population of *Tursiops truncatus* (Cetacea, delphinidae) with the mullet artisanal fisheries in southern Brazil. **Biotemas**, 1991.
- SIMÕES-LOPES, P. C.; FABIÁN, Ma. E.; MENEGHETI, J. O. Dolphin interactions with the mullet artisanal fishing on southern Brazil: a qualitative and quantitative approach. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, p. 709 – 726, 1998.
- SIMÕES-LOPES, P. C. & FABIAN, M. E. Residence patterns and site fidelity in bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* (Montagu) (Cetacea, Delphinidae) off Southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16(4), p. 1017–1024, 1999.
- SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G.; CANTOR, M. Clues of cultural transmission in cooperative foraging between artisanal fishermen and bottlenose

- dolphins, *Tursiops truncatus* (Cetacea: Delphinidae). *Zoologia* (Curitiba), v. 33, n. 6, p. 4–7, 2016.
- SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G.; LODI, L.; BEZAMAT, C.; COSTA, A. P. B.; WEDEKIN, 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.
- VERMEULEN, E. & CAMMARERI, A. Residency patterns, abundance, and social composition of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Bahía San Antonio, Patagonia, Argentina. ***Aquatic Mammals***, v. 35, p. 378–385, 2009.
- WAPLES, R. S & GAGGIOTTI, O. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. ***Molecular Ecology***, v. 15, n. 6, p. 1419-1439, 2006.
- WEDEKIN, L. L.; DAURA-JORGE, F. G.; ROSSI-SANTOS M. R.; SIMÕES-LOPES, P. C.; Notas sobre a distribuição, tamanho de grupo e comportamento do golfinho *Tursiops truncatus* (Cetacea: delphinidae) na ilha de Santa Catarina, sul do Brasil. ***Biota Neotropica***, v. 8, n. 4, p. 225-229, 2008.

## CAPÍTULO ÚNICO:

### **Conectividade populacional dos golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) no sul do Brasil**

#### **1. Introdução**

O conceito de população em ecologia geralmente trata de um grupo de indivíduos da mesma espécie que co-ocorrem no espaço e no tempo. Já a genética traz questões complementares como o acasalamento, as trocas gênicas ou a maneira como a diversidade genética está organizada nos grupos. Apesar de existir um entendimento amplo sobre o termo, a determinação das populações de forma quantitativa é um desafio, uma vez que isso requer a definição de suas fronteiras (WAPLES & GAGGIOTTI, 2006). Entender os limites populacionais reais é uma tarefa simples quando tais grupos ocorrem em aglomerações definidas, mas determinar esses limites nos grupos que não estão estruturados espacialmente é bem mais complexo. Os limites populacionais geralmente estão relacionados às barreiras físicas, que dificultam ou impedem os deslocamentos e as trocas gênicas entre indivíduos. Mas há grupos onde essas limitações são menores ou inexistentes, como é o caso dos cetáceos, que possuem alta mobilidade, e poucas barreiras físicas a dispersão no ambiente marinho (HOELZEL, 2009; PALUMBI, 1994). Assim, estruturas populacionais costumam ser guiadas por divergências ecológicas que podem agir como barreiras (ANDREWS, 2013), dentre elas, os gradientes térmicos, a filopatria, as diferenças nas táticas de forrageio, agrupamento sociais e especializações de nicho (e.g., ANDREWS et al. 2010; FONTAINE et al. 2007; FOOTE & MORIN, 2016; FULLARD et al., 2000; MÖLLER & BEHEREGARAY, 2004).

Divergências ecológicas entre golfinhos nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus* ssp.) do oeste do Atlântico Sul estão direcionando uma especiação incipiente, separando-os em duas subespécies recentemente reconhecidas pelo Comitê de Taxonomia da *Society for Marine Mammalogy*: *T. t. truncatus* (ecótipo oceânico) e *T. t. gephyreus* (ecótipo costeiro). O golfinho nariz-de-garrafa de Lahille (*T. t. gephyreus*) costuma apresentar alta fidelidade de hábitat a regiões estuarinas, foz de rios e baías. Esta é uma subespécie endêmica das águas costeiras entre o sul do Brasil e o sul da

Argentina, enquanto a subespécie golfinho nariz-de-garrafa comum (*T. t. truncatus*) tem uma distribuição cosmopolita (COSTA et al., 2016; DAURA-JORGE et al., 2013; SIMÕES-LOPES et al., 1998; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999; VERMEULEN & CAMMARERI, 2009). Evidências genéticas, ecológicas, e morfológicas suportam essa diferenciação (COSTA et al., 2016; SIMÕES-LOPES et al., 2019; COSTA et al., 2021), e apontam que apesar das diferenças morfológicas e ecológicas significativas, ainda existe um baixo nível de fluxo gênico entre as subespécies (OLIVEIRA et al., 2019; COSTA et al., 2021). Estas duas subespécies tem uma distribuição parapátrica na maior parte de suas áreas de vida; contudo, em uma estreita faixa (de 25°51'50"S a 28°29'39"S) de águas rasas e próximas da costa de Santa Catarina (Brasil), elas apresentam sobreposição de distribuição e nicho isotópico (PEREIRA et al., 2020; SIMÕES-LOPES et al., 2019). A área de co-ocorrência é uma região de potencial contato entre as subespécies, ou seja, uma zona híbrida, e isto pode levar a eventuais acasalamentos, formação de indivíduos híbridos e a manutenção do fluxo gênico entre elas. Qual o nível de isolamento e/ou fluxo gênico ainda persistente entre essas subespécies? Como os caminhos evolutivos e ecológicos podem estar guiando uma diferenciação progressiva entre elas nessa zona híbrida? As investigações sobre o fluxo gênico entre tais subespécies, especialmente na área de sobreposição, podem fornecer informações sobre qual direção está caminhando a conectividade destas.

Mesmo nos golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille também há divergências ecológicas, tanto na sua distribuição espacial como em suas táticas de forrageio. Em Santa Catarina, no sul do Brasil, parte dos golfinhos de Lahille parecem não demonstram filopatria ou preferência por águas de estuários e outros demonstram elevada filopatria a essas áreas. Um exemplo marcante deste último caso são os golfinhos que usam o estuário e o sistema lagunar do município de Laguna (BEZAMAT et al., 2018; DAURA-JORGE et al., 2013; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Contudo, apesar da alta filopatria, há alguns registros de movimentos de indivíduos residentes de Laguna entre áreas ao longo da região sul do Brasil, incluindo outros estuários e baías (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Já ao redor da Ilha de Santa Catarina (Florianópolis, cerca de 110 km ao norte de Laguna) também se constata a presença de golfinhos nariz-de-garrafa (ver FLORES & FONTOURA, 2006; WEDEKIN et al., 2008), porém há poucos estudos das subespécies oceânica e costeira nessa região. Campanhas de ciência cidadã registraram este táxon majoritariamente na



baía norte da Ilha (MACEDO et al., 2020). Contudo, o grau de filopatria dos grupos observados ainda é uma questão em aberto.

Estudos genéticos prévios apontaram a presença de estrutura populacional dentro da subespécie costeira, sugerindo a presença de duas unidades de manejo (UM) na costa de Santa Catarina, com limitado fluxo gênico entre elas, onde Laguna foi considerada uma unidade genética isolada (FRUET et al., 2014). Essas UM correspondem a duas subpopulações que integram uma metapopulação, a qual inclui outras três localidades distribuídas ao longo das costas brasileira e uruguaia. As subpopulações são formadas por grupos que habitam o norte da Lagoa dos Patos, o Estuário da Lagoa dos Patos e o sul da Lagoa dos Patos, sendo este último grupo residente tanto no Brasil quanto no Uruguai. As UM de Santa Catarina correspondem aos golfinhos residentes de Laguna e os encontrados nas águas da costa de Florianópolis, as quais foram definidas a partir de um pequeno número amostral (UM de Laguna:  $n = 10$ ; UM de Florianópolis:  $n = 8$ ) e sem considerar amostras de indivíduos encontrados entre as duas áreas, aqui chamada de área de transição (indivíduos não-residentes). Assim, avaliar geneticamente os indivíduos não-residentes que vivem entre as duas UM propostas pode fornecer informações relevantes sobre os limites populacionais reais. Por exemplo, os indivíduos que não são filopátricos (ou não-residentes) possivelmente transitam entre as duas UM e dessa forma, contribuem com a conexão entre as populações, a qual pode passar despercebida considerando apenas poucos indivíduos com certo grau de filopatria.

Quando se foca apenas nos golfinhos de Lahille residentes de Laguna, é necessário destacar uma diferenciação ecológica adicional com base nas táticas de forrageio empregadas. Alguns indivíduos dessa UM apresentam interação positiva com os pescadores artesanais de tainhas, onde eles frequentemente “pescam” com esses pescadores (conhecidos como golfinhos cooperativos). Porém, nessa mesma UM, há também indivíduos que forrageiam sozinhos, sem interagir com os pescadores locais (conhecidos como golfinhos não-cooperativos) (SIMÕES-LOPES et al., 1998). Essa especialização de forrageio está levando à diferenciação social dentro da população, onde os golfinhos procuram associar-se com indivíduos que praticam com similar frequência a mesma tática para procura de alimentos (MACHADO et al., 2019). Além disso, os golfinhos cooperativos e os não-cooperativos exploram áreas com extensão diferentes, isto é, temos de considerar nesta equação consequências espaciais (CANTOR et al., 2018). Estas características divergentes entre os golfinhos residentes podem estar guiando a estruturação populacional dentro da UM de Laguna.

Apesar de não haver barreiras físicas ao deslocamento desses golfinhos na sua área de distribuição, há divergências ecológicas (filopatria e diferentes táticas de forrageio) dentro da subespécie costeira (*T. t. gephyreus*) que podem atuar como barreira ao fluxo gênico. Assim levanta-se a questão se os golfinhos de Lahille formam uma única subpopulação (único grupo genético) de grande distribuição geográfica ou se há a presença de duas subpopulações, de baixo fluxo gênico ao longo da costa de Santa Catarina, como previamente apontado. Além disso, considerando-se a ocorrência de uma pequena área de sobreposição entre as duas subespécies na costa de Santa Catarina, há ainda a necessidade de reavaliar o fluxo gênico entre as duas subespécies, usando amostras obtidas próximo a área de sobreposição. A fim de responder essas questões, foram utilizados neste estudo marcadores nucleares (*loci* de microssatélites) para avaliar, na subespécie costeira (*T. t. gephyreus*), (1) a presença de estruturação populacional, (2) a conectividade entre os *clusters* identificados, e (3) a diversidade genética. Além disso, será também investigado o fluxo gênico entre as duas subespécies. Responder quais são os limites, subdivisões e conectividades populacionais pode gerar informações críticas para melhor definir medidas de manejo e conservação da subespécie costeira e suas subpopulações.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1 Área de estudo e coleta das amostras**

O estudo foi conduzido em aproximadamente 180 km de extensão da costa sul de Santa Catarina (Brasil), sendo o limite sul da amostragem a costa de Balneário Arroio do Silva e limite norte o litoral de Florianópolis (Figura 1). Neste estudo, foram utilizadas 101 amostras de *Tursiops truncatus* ssp., sendo 65 amostras oriundas de encalhes ao longo da costa, e 36 amostras coletadas através de biópsias realizadas na região estuarina de Laguna (Material Suplementar Tabela S1). As amostras de encalhe foram coletadas desde 2011 pela Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) e a Associação R3 Animal por meio de monitoramentos sistemáticos do Projeto de Monitoramento de Praias da Bacia de Santos (PMP-BS) da PETROBRAS. As biópsias, amostras frescas de tecido (pele e gordura), foram realizadas entre 2011 e 2022 pelo

Laboratório de Mamíferos Aquáticos da Universidade Federal de Santa Catarina (LAMAQ - UFSC), durante trabalhos de pesquisa embarcado, e coletadas por meio de balestras e dardos flutuantes com ponteiros adaptadas a pequenos cetáceos. Todas as amostras de tecido coletadas foram preservadas em álcool absoluto.

Durante a coleta das amostras de encalhes, as duas subespécies (*T. t. truncatus* ou *T. t. gephyreus*) foram inicialmente identificadas pela equipe do PMP-BS a partir da morfologia craniana, a qual também possui protocolos específicos para identificação do sexo. Os indivíduos biopsiados foram identificados como *T. t. gephyreus* devido a sua área de distribuição e características morfológicas externas, e a maioria dos indivíduos biopsiados (n = 18) também foram foto-identificados pela equipe do LAMAQ. A localização das biopsias e encalhes também foi fornecida pelas equipes de campo.

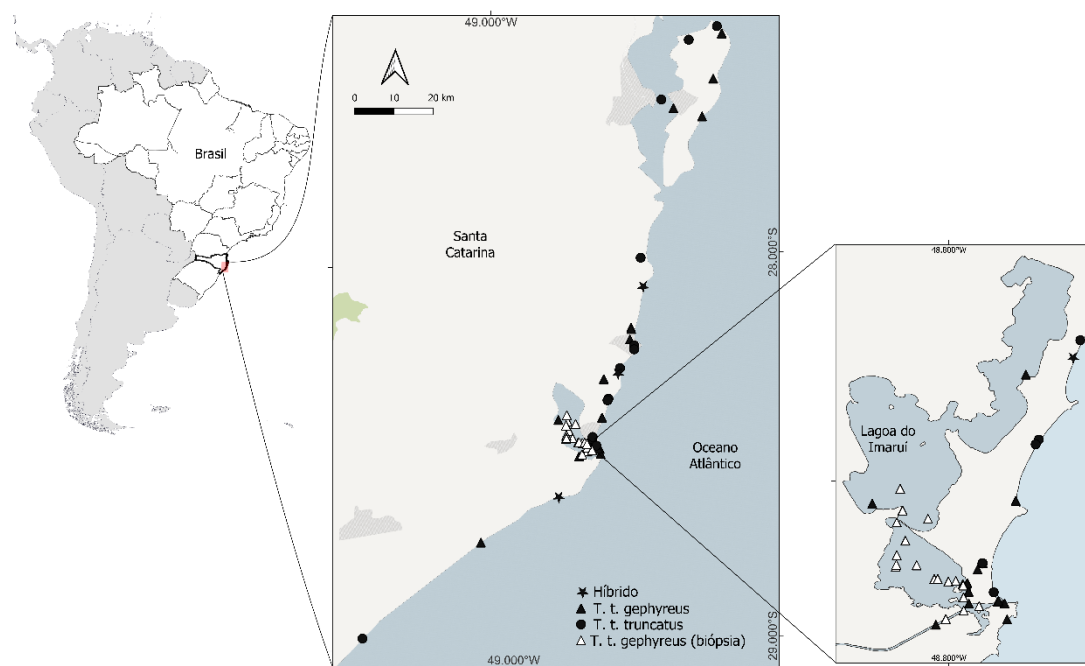


Figura 1: Área de estudo e localização das amostras (biópsias e encalhes). Apenas as amostras utilizadas nas análises estatísticas estão sendo exibidas e a diferenciação de subespécie seguiu os resultados do STRUCTURE (ver sessão 3.2). Símbolos pretos são amostras originadas dos encalhes, os símbolos brancos são biópsias e os diferentes formatos representam a subespécie amostrada.

## 2.2. Procedimentos laboratoriais

O DNA genômico da maioria das amostras de tecido (65 amostras de encalhes e uma biópsia; n = 66) foi extraído utilizando o DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen) e

seguindo o protocolo do fabricante. A extração de DNA dessas 66 amostras foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular e Genética da Universidade do Estado de Santa Catarina. A fim de determinar molecularmente o sexo dos indivíduos cuja identificação visual não foi possível durante a coleta de campo, foram utilizados os pares de iniciadores SRY senso (5'- ACATTCCCTACTGTGGACGGACAA-3'), SRY anti-senso (5'-GTGGCAGGAGTGAGCTGCTTATG-3'); ZFX senso (5'-TGCGACGAATGTGGGAAGCATTTC-3'), ZFX anti-senso (5'-AGTACTGGCATTGGTACGGCTTCT-3'), os quais permitiram a amplificação por meio de reações de PCR dos genes SRY e ZFX/ZFY, respectivamente (BERUBE; PALSBØLL, 1996) (método completo em Material Suplementar e Tabela S2). Foi conduzido um teste qui-quadrado de Pearson no Programa RStudio v. 4.4.0 (POSIT TEAM, 2022) para determinar se essa proporção difere significativamente da razão sexual esperada de 1:1.

A genotipagem do DNA nuclear foi realizada através do uso de 15 *loci* de microssatélites, previamente testados para as duas subespécies encontradas ao longo da costa de Santa Catarina: Ttr36, Ttr54, Ttr55, Ttr61, Ttr90, Ttr98 (ROSEL et al., 2017); Ttr04, Ttr11, Ttr19, Ttr58, Ttr63, TtrFF6 (ROSEL et al., 2005); TexVet5 (ROONEY et al., 1999); EV37 (Valsecchi & Amos, 1996); e PPHO130 (ROSEL et al., 1999). A reação de PCR foi conduzida para um volume final de 10 µl, com as concentrações sendo as mesmas para todos os reagentes, mas as condições de PCR variando dependendo dos conjuntos de primers utilizados, conforme metodologia descrita em Rosel et al. (2017) (Material Suplementar e Tabelas S3-S4). Foram utilizados controles positivos e negativos em todas as PCRs. Os produtos de PCR foram enviados para a BPI Biotecnologia (Botucatu, São Paulo) para genotipagem em um sequenciador ABI 3730XL (Applied Biosystems) usando o marcador de peso molecular GS-500LIZ. A sexagem molecular e a amplificação dos marcadores nucleares foram realizadas no Laboratório Rona-Pitaluga da Universidade Federal de Santa Catarina.

A maioria das amostras de biópsias (n = 35) tiveram o DNA genômico extraído e foram molecularmente sexadas e genotipadas para os mesmos 15 *loci* de microssatélite em um estudo anterior (MACHADO et al., 2019).

### 2.3 Validação dos dados de microssatélites

Para as análises subseqüentes foram considerados os indivíduos que tiveram entre 11 e 15 *loci* amplificados com sucesso. Para avaliar se existiam amostras duplicadas, os genótipos de cada indivíduo foram comparados utilizando o programa MSTools (PARK, 2001). A avaliação do sexo das duplicatas foi realizada para aumentar o grau de confiabilidade. Um dos pares de duplicatas confirmadas pelo genótipo e sexo foi removido das análises subseqüentes. As análises a seguir foram realizadas separadamente para ambas subespécies. A presença de alelos nulos foi testada através do programa Microchecker v2.2.0.3 (VAN OOSTERHOUT et al., 2004). Para testar o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) e o desequilíbrio de ligação foi utilizado o teste exato de Fisher no programa GENEPOP v4.6 (ROUSSET, 2008), versão web. Sendo que, para o HWE foi utilizado o teste de probabilidade para cada *locus* da população, e para desequilíbrio de ligação foi aplicado o teste para cada par de *loci* da população usando teste de probabilidade. Ambos os testes foram feitos utilizando 10.000 desmemorizações, 1.000 lotes e 10.000 interações por lotes como parâmetro para a Cadeia de Markov, e aplicado o teste estatístico de correção sequencial de Bonferroni para calcular a significância dos resultados.

### 2.4 Atribuição das subespécies (*T. t. truncatus* x *T. t. gephyreus*)

Apesar da definição das subespécies (*T. t. gephyreus* ou *T. t. truncatus*) a partir de caracteres morfológicos para a maioria das amostras, há ainda a necessidade de confirmar tal atribuição através de dados genéticos para todas as amostras previamente identificadas ou não. Dessa forma, foram utilizados os indivíduos que tiveram entre 11 e 15 *loci* amplificados com sucesso. Assim, para tentar identificar geneticamente a subespécie em que cada amostra se enquadra, foi conduzida uma análise bayesiana através do software STRUCTURE v2.3.4 (PRITCHARD et al., 2010), utilizando o modelo *Admixture*, com K variando de um a dez, dez interações independentes com 1.500.000 de repetições da Cadeira de Markov Monte Carlos (MCMC) e 200.000 burn-in. Para estimar o melhor valor de K, comparou-se o  $\Delta K$  método (EVANNO et al., 2005) e o mean loglikelihood dos dados [ $\ln P(D)$ ] (PRITCHARD et al., 2010) através do programa CLUMPAK versão web (KOPELMAN et al., 2015), assim como as proporções individuais de agrupamento. Os resultados genéticos foram comparados

com a identificação das subespécies através da morfologia craniana, seguindo os caracteres definidos por Costa et al. (2016), para as amostras com crânio disponível.

## 2.5 Fluxo gênico

O nível de fluxo gênico entre as duas subespécies foi reavaliado neste estudo já que ambas as subespécies se encontram em simpatria em uma estreita faixa na costa de Santa Catarina, área esta que corresponde à uma parcela de nossa amostragem. A análise foi conduzida no programa BayesAss (WILSON et al., 2003), onde foram modificados os parâmetros de mistura para taxas de migração (0.20), coeficiente de endogamia (0.55) e frequências alélicas (0.35) a fim de todos obterem taxas de aceitação entre 20% e 60%, como indica Rannala (2015). Para averiguar se os dados são informativos para o fluxo gênico, foi comparado o valor posterior (média de dez corridas com diferentes valores de *seed*) com o valor *a priori* (este último obtido pela função de mesmo nome). Quando há diferença entre os valores *a priori* e *posteriori*, a mesma indica que os dados são informativos e podem ser utilizados para análise de fluxo gênico. Diferentes cenários de fluxo gênico foram avaliados: excluindo os híbridos encontrados (ver Resultados, seção 3.5), considerando os híbridos como *T. t. gephyreus* e por fim considerando os híbridos como *T. t. truncatus*.

## 2.6 Estruturação populacional genética de *T. t. gephyreus*

A presença de estruturação populacional entre os golfinhos de Lahille da costa de Santa Catarina foi analisada para os indivíduos que tiveram de 13 a 15 *loci* amplificados e foi conduzida através dos programas de análises Bayesianas STRUCTURE v2.3.4 (PRITCHARD et al., 2010). Foram usados os modelos *Admixture* e *No Admixture*, como também modelos com e sem LOCPRIOR. Iniciou-se pelo modelo *Admixture*, visto que é o modelo indicado para início das análises por considerar a possibilidade de ancestralidade mista para cada indivíduo, já que a mistura de ancestralidade é uma característica comum em populações reais (PRITCHARD et al., 2010). Em sequência, o modelo *No Admixture* foi utilizado, já que este é mais poderoso para detectar estruturações sutis (PRITCHARD et al., 2010). E por fim, a opção LOCPRIOR em ambos modelos foi utilizada, já que essa melhora o agrupamento quando o sinal é fraco (HUBISZ et al., 2009), o que pode ser causado por baixa

diversidade genética como previamente encontrada na subespécie costeira (FRUET et al., 2017; COSTA et al., 2021). Para o uso desta opção, os indivíduos foram categorizados em três grupos populacionais distintos: o grupo de Laguna (LGN), composto por todos os indivíduos foto-identificados residentes de Laguna e filhotes reconhecidos como de golfinhos residentes pela equipe de monitoramento (n = 33); o grupo de Florianópolis (FLN), constituído por aqueles cujas amostras foram coletadas na costa de Florianópolis (n = 4); e, por último, os indivíduos da área de transição, que incluem amostras coletadas fora de FLN e LGN e que foram considerados não-residentes pela equipe do PMP-BS (n = 5), assim como encalhes encontrados nas praias de Laguna, mas que não tinham foto-ID para identificação de residência no estuário (n = 4). Vale ressaltar que o uso de LOCPRIOR não leva a falsa inferência da estrutura populacional (HUBISZ et al., 2009). Todas as análises foram realizadas conforme os parâmetros descritos para este programa na seção 2.4. O melhor valor de K foi também inferido conforme descrito na seção 2.4.

Também foi avaliada a estrutura populacional entre os residentes de Laguna (n = 33; conforme dados de foto-ID e monitoramento), que empregam distintas estratégias de forrageio. Foram conduzidas análises para ambos os modelos (*Admixture* e *No Admixture*), tanto com quanto sem LOCPRIOR. Nas situações em que essa opção foi escolhida, as informações sobre a cooperação dos indivíduos foram utilizadas como indicador para a separação dos grupos (F. Daura-Jorge e A. Machado, comunicações pessoais, 23 de junho de 2023). Assim, todos os indivíduos amostrados que apresentam alguma frequência de interação com a pesca cooperativa foram classificados como cooperativos, enquanto os demais foram classificados como não-cooperativos.

A diferenciação genética entre os *clusters* encontrados foi analisada através do índice de fixação ( $F_{ST}$ ) no programa ARLEQUIN v3.5.2.2 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010). O nível de fluxo gênico entre eles foi estimado pelo programa BayesAss (WILSON et al., 2003), seguindo os parâmetros descritos na seção 2.7 (abaixo).

## **2.7 Diversidade genética de *T. t. gephyreus* e outros parâmetros da genética de populações**

A diversidade genética foi estimada utilizando dois parâmetros (1) a riqueza alélica, ou seja, o número total e médio de alelos por *locus* e (2) heterozigosidade esperada e observada, utilizando os programas Fstat v.2.9.3.2 (GOUDET, 2001) e

ARLEQUIN, respectivamente. Ambos os parâmetros foram avaliados considerando *T. t. gephyreus* como uma única subpopulação na costa de Santa Catarina (todas as amostras), como também para os *clusters* encontrados (FLN e LGN). Devido à associação de diversidade genética e acasalamento consanguíneo, foi calculado o coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) utilizando ARLEQUIN. A análise de parentesco entre pares de indivíduos amostrados foi conduzida exclusivamente para a subespécie costeira, por meio do pacote *Related* (PEW et al., 2015) no R v4.2.1 (R CORE TEAM, 2022). Foram usadas as frequências alélicas observadas em simulações de 500 pares para quatro tipos de relacionamento (pais-filhos, irmãos, meios-irmãos e não-relacionados), onde foi testado o desempenho de diferentes estimadores de parentesco para definir propriamente o grau de parentesco das amostras costeiras. O estimador Lynchrd (LYNCH & RITLAND, 1999) foi o escolhido para estimar o grau de parentesco entre as amostras, pois este apresentou maior valor de correlação de Pearson entre os resultados observados e esperados.

O tamanho efetivo contemporâneo da população ( $N_e$ ) foi calculado usando o método de desequilíbrio de ligação com cruzamento aleatório e exclusão dos alelos únicos, método que exclui alelos abaixo de certa frequência ( $P_{crit}$ : 0,05, 0,02 e 0,01), pois estes podem distorcer a estimativa de  $N_e$  (WAPLES & DO, 2008). O intervalo de confiança foi estimado usando a estimativa paramétrica (qui-quadrado) e a não-paramétrica (jackKnife), mas para interpretação dos resultados, apenas a análise paramétrica foi considerada, devido ao fato de o número de *loci* ( $n = 15$ ) utilizados ser menor que 100, conforme orientação do manual do NeEstimator v2.0 (DO et al., 2014), programa onde as análises foram conduzidas.

### **3. Resultados**

#### **3.1 Validação dos dados de microssatélites**

Ao todo, 101 amostras de *T. truncatus* ssp. foram genotipadas para 15 *loci* de microssatélites, e destas, 80 amplificaram para 11 ou mais *loci*. Destas 80 amostras, 15 foram retiradas deste estudo devido às duplicatas (19 pares), totalizando um  $n$  amostral final de 65 amostras. Quando as 65 amostras foram avaliadas como pertencendo a uma única população, encontrou-se desvio de HWE para os 15 *loci* e desequilíbrio de ligação para todos pares de *loci*. Contudo, quando as amostras foram separadas nos *clusters*



genéticos de acordo com os resultados do STRUCTURE (ver resultados na seção 3.2), observou-se o seguinte: para o *cluster* composto de amostras identificadas como *T. t. gephyreus*, nenhum *loci* apresentou alelos nulos; o locus Ttr04 apresentou desvio de HWE; e o pares de *loci* FF6-Ttr55 e EV37-Ttr61 indicaram desequilíbrio de ligação, após a correção de Bonferroni. Para o *cluster* composto por amostras identificadas como *T. t. truncatus*, observou-se dois *loci* com alelos nulos (Ttr54 e Ttr58), sugerido pelo excesso de homozigotos, três *loci* com desvio de HWE (TexVet5, Ttr58 e EV37), e nenhum apresentou desequilíbrio de ligação. Nenhum destes *loci* foram removidos das análises com *T. t. gephyreus*, visto que desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg era esperado para uma metapopulação, sendo utilizado como indicativo de presença de subpopulações, uma vez que o STRUCTURE busca o equilíbrio dentro de cada *cluster* (PRITCHARD et al., 2000). Além disso, dentro dos *clusters* encontrados ao analisar a estruturação da população apenas da subespécie costeira (Ver seção 3.3), nenhum *loci* apresentou desvio destes parâmetros. Por último, os *loci* citados acima para a subespécie oceânica também não foram removidos, pois esses *loci* foram utilizados exclusivamente para análise de fluxo gênico. Além disso, esses resultados podem estar relacionados ao baixo número amostral de *T. t. truncatus* (ver seção 3.2).

### 3.2 Determinação das subespécies

Ao analisar os resultados do STRUCTURE para o modelo *Admixture*, foi observado que  $K = 2$  emerge como o número ideal de *clusters* ao considerar todas as 65 amostras deste estudo (Material Suplementar Figura S1). Estes dois *clusters* genéticos correspondem às subespécies *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus* (seguindo informações cranianas  $n = 32$ , de foto-ID, ou localização geográfica das biópsias para a maioria das amostras classificadas em cada *cluster*) (Figura 2). Ao comparar os resultados do STRUCTURE com os dados morfológicos, de foto-ID e/ou localização das biópsias, observou-se que três indivíduos (ID180535, ID47602 e ID44758) são possivelmente híbridos. Geneticamente, os indivíduos ID180535, ID47602 (com base em 11 *loci*) e ID44758 (com base em 15 *loci*) foram classificados como *T. t. gephyreus*, no entanto, suas características cranianas são de *T. t. truncatus*, então foram considerados híbridos. Desta forma, com o intuito de focar apenas na subespécie costeira, estes três indivíduos foram excluídos das análises de estruturação e diversidade genética subsequentes já que sua presença pode influenciar os resultados. Assim, a separação com base na

genotipagem e dados morfológicos resultou em 48 indivíduos no *cluster T. t. gephyreus*, 14 indivíduos no *cluster T. t. truncatus* e três híbridos. O *cluster* de *T. t. gephyreus* consistiu em 30 machos e 17 fêmeas, indicando uma proporção significativamente maior de machos amostrados (Qui-quadrado = 2,5946; df = 1; P = 0,1072). Já o *cluster* de *T. t. truncatus* foi composto de 5 machos e 7 fêmeas, indicando uma proporção significativa maior de fêmeas (Qui-quadrado = 0; df = 1; P = 1). Todos os híbridos são machos. O sexo de um indivíduo de *T. t. gephyreus* e dois indivíduos de *T. t. truncatus* não pôde ser determinado devido à degradação do DNA. A análise da distribuição da estrutura genética mostrou que dois indivíduos apresentaram introgressão, sendo um destes um híbrido (ID93132) e um *T. t. gephyreus* (ID44758). Vale ressaltar que a identificação craniana não foi realizada para 11 dos indivíduos estudados. Portanto, é possível que existam mais híbridos do que os encontrados neste estudo. No entanto, sem dados morfológicos para comparação, não é possível identificá-los.

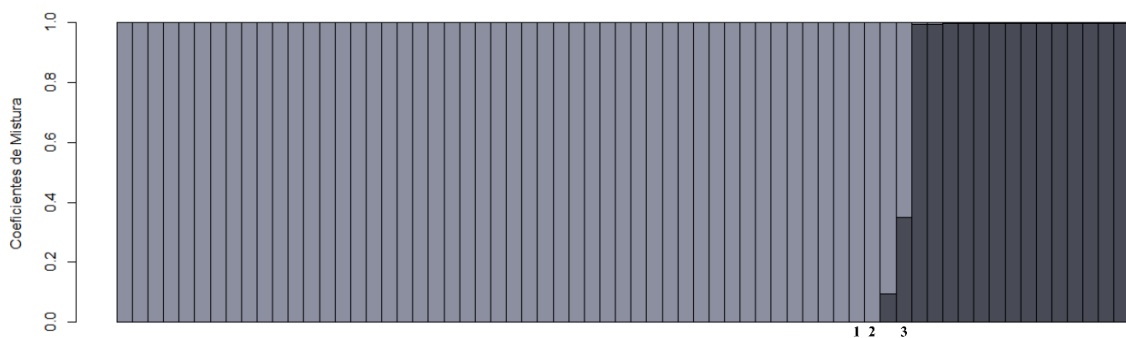


Figura 2: Análise Bayesiana de *Tursiops truncatus* ssp. na costa de Santa Catarina. Distribuição da estrutura genética dos indivíduos para K = 2 pelo modelo *Admixture*. Cada linha representa um indivíduo. Linhas cinza claro representam o *cluster* composto por *T. t. gephyreus*, enquanto linhas cinza escuro representam o *cluster* composto por *T. t. truncatus*. Números indicam os indivíduos considerados híbridos, 1- ID180535, 2-ID47602 e 3-ID44758.

### 3.3 Fluxo gênico entre as subespécies

Devido à presença dos híbridos (ID44758, ID180535 e ID47602), três cenários de fluxo gênico foram estimados. Quando considerando o fluxo gênico contemporâneo entre *T. t. truncatus* e *T. t. gephyreus* sem a inclusão dos três híbridos, encontrou-se uma taxa de 2% de migrantes por geração de *T. t. truncatus* para *T. t. gephyreus*, enquanto na direção oposta o valor foi menor ( $\leq 1\%$ ) (Tabela 1).

Quando considerando todos os três híbridos como *T. t. gephyreus* devido ao perfil genético, as taxas de fluxo gênico foram semelhantes aos valores encontrados na ausência de híbridos. No entanto, no cenário considerando os híbridos como *T. t. truncatus* devido a morfologia craniana, a taxa de fluxo gênico de *T. t. truncatus* para *T. t. gephyreus* aumentou para 7% de migrantes por geração.

Tabela 1: Taxas de fluxo gênico contemporâneo entre as subespécies de *Tursiops truncatus* ssp. inferidas a partir de 15 microssatélites. Intervalos de confiança de 95% indicado entre parênteses.

Sem híbridos (n = 62)		
De \ Para	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. truncatus</i>
<i>T. t. gephyreus</i>	0,9933 (0,9805 – 1,0061)	0,0067(-0,006– 0,0195)
<i>T. t. truncatus</i>	0,0209 (-0,01761– 0,5533)	0,9791 (0,940 – 1,0176)
Híbridos considerados como <i>T. t. gephyreus</i> (n = 65)		
De \ Para	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. truncatus</i>
<i>T. t. gephyreus</i>	0,9937 (0,9816 – 1,005)	0,0063(-0,0058– 0,0183)
<i>T. t. truncatus</i>	0,0208 (-0,0174– 0,058)	0,9792 (0,9410 – 1,0174)
Híbridos considerados como <i>T. t. truncatus</i> (n = 65)		
De \ Para	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. truncatus</i>
<i>T. t. gephyreus</i>	0,9933 (0,9805 – 1,006)	0,0067(-0,0061– 0,0194)
<i>T. t. truncatus</i>	0,0701 (0,0106– 0,1296)	0,9299 (0,8703 – 0,9893)

### 3.4 Estruturação populacional e conectividade de *T. t. gephyreus*

Após analisar exclusivamente o *cluster* de *T. t. gephyreus* (com mais de 13 loci amplificados, n = 46), detectou-se a presença de uma subestruturação dentro deste grupo. Ambos os estimadores de melhor K (i.e., L(K) e Delta(K)), apontaram K = 2 como o número mais provável de *clusters* genéticos de *T. t. gephyreus* na costa de Santa Catarina (Material Suplementar Figura S2) utilizando o modelo *No Admixture* com LOCPRIOR (Figura 3). O número de *clusters* identificados pelo modelo *Admixture* com LOCPRIOR também foi de K = 2 conforme o estimador Delta (K) e K = 1 para L(K) (Material Suplementar Figura S3). A configuração dos *clusters* para K = 2 foi consistente em ambos os modelos. No entanto, dado que o modelo *No Admixture* com LOCPRIOR é mais adequado para avaliar estrutura sutil e obteve o mesmo resultado

entre os diferentes estimadores para determinar o melhor K, esse modelo foi selecionado para explicar a estruturação populacional de *T. t. gephyreus*.

Os mesmos modelos, contudo, sem a inclusão da opção LOCPRIOR, não foram capazes de identificar agrupamentos válidos dentro de *T. t. gephyreus*. O modelo *Admixture* obteve melhor K variando de um a dois; já o *No Admixture* o K variou entre um e três *clusters*, variações destacadas pelos diferentes métodos de estimação de melhor K (L(K) e Delta(K)). Não houve convergência na composição dos *clusters* ao comparar os resultados dos dois modelos sem a opção LOCPRIOR, ou seja, os indivíduos agrupavam-se em diferentes *clusters* entre as rodadas. Além disso, os agrupamentos identificados não correspondem às características conhecidas da população, por exemplo, os indivíduos foto-identificados em LGN foram distribuídos em três ou mais agrupamentos distintos, o que não corresponde às divisões comportamentais e sociais previamente conhecidas da população. Além disso, a distribuição dos indivíduos em cada *cluster* era simétrica, ou seja, apresentavam similares porcentagens de atribuição em cada *cluster*. A assimetria nas proporções é o que sugere uma estruturação real da população (PRITCHARD et al., 2010). Isto provavelmente relaciona-se ao fato de as amostras não apresentarem estruturação populacional marcante para os *loci* do estudo em questão, assim o programa não conseguiu convergir nos resultados de estruturação e isto só foi possível com o uso de um modelo mais robusto para análise de estruturação sutil.



Figura 3: Análise Bayesiana de *Tursiops truncatus gephyreus* na costa de Santa Catarina. Distribuição da estrutura genética dos indivíduos para K = 2 no modelo *No Admixture*. Cada linha representa um indivíduo. Linhas cinza-escuras representam o *cluster* composto em sua maioria por amostras de indivíduos residentes de Laguna (LGN), enquanto linhas cinza-claros representam o *cluster* composto pelos indivíduos encontrados nas águas costeiras da ilha de Florianópolis (FLN). Indivíduos

não-residentes e que ocupam a área de transição entre as duas localidades foram classificados como pertencentes ao *cluster* LGN.

Um dos *clusters* foi composto por todas as quatro amostras obtidas ao redor da ilha de Florianópolis (*cluster* FLN;  $n = 4$ ), enquanto o segundo *cluster* contém todos os indivíduos do estuário de Laguna ( $n = 33$ ) e nove indivíduos de áreas adjacentes e de transição (*cluster* LGN;  $n = 42$ ). Ao estimar a diferenciação genética entre estes dois *clusters*, observou-se um valor significativo e moderado de diferenciação ( $F_{ST} = 0,075$ ;  $P = 0,013$ ). A moderada diferenciação relaciona-se com a presença de fluxo gênico contemporâneo entre os *clusters*, sendo de 24% de migrantes por geração de FLN para LGN e 1% na direção oposta (Tabela 2).

Tabela 2: Taxas de fluxo gênico contemporâneo entre os *clusters* FLN e LGN inferido a partir de 15 *loci* de microssatélites. Intervalos de confiança de 95% indicado entre parênteses.

De \ Para	LGN	FLN
LGN	0,9867 (0,9605 – 1,0129)	0,0133(-0,0130 – 0,0395)
FLN	0,2399 (0,0967 – 0,3830)	0,7601 (0,6169 – 0,9032)

Apesar da coexistência de duas estratégias distintas de forrageio entre os indivíduos residentes das águas estuarinas de Laguna e distintas preferências sociais, nenhuma subestruturação ( $K = 1$ ) foi identificada dentro do *cluster* LGN, independente do modelo utilizado (resultados não mostrados).

### 3.5 Diversidade genética de *T. t. gephyreus*

A diversidade genética de *T. t. gephyreus* foi calculada para cada *cluster* a partir dos 15 *loci* de microssatélites. Tanto FLN como LGN mostraram uma média de riqueza alélica baixa de 1,366 (D.P. = 0,231) e 1,269 (D.P. = 0,260), respectivamente. Os *loci* Ttr58, Ttr19 e Ttr54 foram monomórficos para a subespécie e a diversidade genética para os demais *loci* pode ser vista na Tabela 3. Para ambos os *clusters*, a heterozigosidade média observada foi similar a esperada (Tabela 3), e consideradas de valores médio e baixo. O coeficiente de endocruzamento ( $F_{IS}$ ) médio de FLN foi -0,107 ( $P = 0,831$ ) e de LGN foi -0,064 ( $P = 0,940$ ), esses resultados são indicativos de *clusters*

populacionais não endogâmicos, potencialmente guiado pela migração dos indivíduos entre os grupos. Além disso, altos valores de parentesco ( $>0.5$ ) foram observados para 74 pares de *T. t. gephyreus*, os quais não foram removidos das análises por representar grande parcela do n amostral. Dos parentescos encontrados, um se destacou por ser um par com alto nível parental ( $p>0.60$ , irmãos completos ou pais-filhos) entre um *T. t. gephyreus* (ID172022) e um possível híbrido (ID180525).

Tabela 3: Diversidade genética de cada *cluster* de *Tursiops truncatus gephyreus* na costa de Santa Catarina (FLN e LGN) para 15 *loci* de microssatélites. (Na: número de alelos; Ra: riqueza alélica; He: heterozigosidade esperada e Ho: heterozigosidade observada; NA: Não Aplicável).

<i>Locus</i>	<i>Cluster</i> FLN				<i>Cluster</i> LGN			
	Na	Ra	He	Ho	Na	Ra	He	Ho
Ttr63	2	1.250	0.25	0.25	1	1.000	NA	NA
EV37	2	1.536	0.53571	0.75	2	1.402	0.39644	0.30233
TexVet5	1	1.000	NA	NA	2	1.096	0.09395	0.09756
Ttr58	1	1.000	NA	NA	1	1.000	NA	NA
Ttr04	2	1.571	0.57143	0.5	3	1.519	0.53997	0.61364
Ttr19	1	1.000	NA	NA	1	1.000	NA	NA
Ttr11	2	1.429	0.42857	0.5	2	1.341	0.33488	0.37209
FF6	2	1.536	0.53571	0.75	2	1.155	0.14812	0.15909
Ppho13	2	1.536	0.53571	0.75	2	1.327	0.31531	0.38636
Ttr90	2	1.429	0.42857	0.5	3	1.093	0.08856	0.09091
Ttr61	3	1.607	0.60714	0.5	2	1.450	0.4498	0.38095
Ttr55	3	1.679	0.67857	1	3	1.669	0.6685	0.77273
Ttr54	1	1.000	NA	NA	1	1.000	NA	NA
Ttr36	2	1.250	0.25	0.25	2	1.465	0.4616	0.52273
Ttr98	3	1.679	0.67857	0.25	3	1.532	0.53396	0.59091
Média	1.933333	1.366	0.499998	0.545455	2	1.269	0.366463	0.389936

A estimativa do tamanho efetivo contemporâneo foi realizada separadamente para cada *cluster* identificado. Para o cluster LGN, constatou-se que cerca de 11 indivíduos (95% CIs= 3 – 23) contribuíram geneticamente (Tabela 4). Este foi o tamanho considerado referente ao valor crítico de 0,02, que é indicado para fornecer melhor precisão quando o número de indivíduos amostrados para análises genéticas for  $n > 25$  (ver Waples, 2008). Visto que mais da metade da população residente de LGN foi amostrada, esta estimativa deve aproximar-se do real. Por outro lado, o *cluster* FLN revelou um tamanho efetivo infinito (95% CIs= 1 -  $\infty$ ). Esses valores infinitos indicam ausência de evidência de variação genética decorrente de um número finito de genitores,

e isto é atribuído ao erro amostral (D0, 2013). Este valor provavelmente é resultado do baixo número de amostras no cluster FLN ( $n = 4$ ).

Tabela 4: Tamanho efetivo contemporâneo para *Tursiops truncatus gephyreus* do cluster LGN. Negrito representa a frequência alélica considerada para determinar o  $N_e$ . 0+: resultados de todos os métodos disponíveis no programa utilizando todos os alelos.

Frequência Alélica	0,05	<b>0,02</b>	0,01	0+
$N_e$	8,8	<b>11,3</b>	11,9	11,9
95% IC (paramétrico)	3,1 - 21,5	<b>4,0 - 23,8</b>	4,4 - 25,4	4,4 - 25,4
95% IC (jackKnife)	2,9 - 23,2	<b>3,7 - 27,0</b>	3,9 - 28,8	3,9 - 28,8

## 4. Discussão

### 4.1 Fluxo gênico entre as subespécies (*T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*) na área restrita de simpatria

A porção norte da costa de Santa Catarina é a única área onde ocorre a sobreposição de nicho isotópico e de hábitat de *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus* (PEREIRA et al., 2020; SIMÕES-LOPES et al., 2019). Embora não haja registros na literatura de interações diretas entre as subespécies neste local, é plausível que tal interação esteja ocorrendo, e contribuindo, assim, para a manutenção do fluxo gênico entre elas. Neste estudo, observou-se níveis baixos atuais de fluxo gênico (cerca de 2% de migrantes por geração) quando os híbridos não foram considerados nas análises, os quais foram o dobro do que foi previamente registrado ( $\leq 1\%$  em COSTA et al., 2021). Uma grande diferença entre este estudo e o de Costa et al. (2021) é que neste trabalho utilizamos amostras das duas subespécies obtidas na área de sobreposição, enquanto o estudo anterior analisou o fluxo gênico entre animais costeiros e os golfinhos oceânicos biopsiados na área de talude ( $>100$  km da costa). Assim, os valores obtidos aqui para o fluxo gênico devem refletir valores mais próximos da realidade considerando o nível de divergência entre as duas subespécies. Além disso, encontrou-se neste estudo três possíveis híbridos entre as duas subespécies, e um indivíduo que não foi caracterizado

como híbrido, mas apresentou introgressão. Por meio da comparação de DNA mitocondrial e morfologia craniana, um híbrido também foi registrado na região de Florianópolis (Costa et al., 2021). Hibridização entre subespécies de cetáceos é bem documentada (ver BÉRUBÉ & PALSBØLL, 2018), e esses achados fornecem mais uma evidência da interação reprodutiva ocasional entre as subespécies de *Tursiops truncatus* na área de sobreposição. No entanto, análises futuras utilizando maior número de marcadores microssatélites ou análise genômica podem auxiliar na confirmação destes híbridos e revelar ainda mais o grau de divergência entre as subespécies.

#### **4.2 Estruturação populacional e conectividade de *T. t. gephyreus* na costa de Santa Catarina**

Os golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille (*T. t. gephyreus*) exibem uma estruturação populacional sutil na costa de Santa Catarina, sul do Brasil. A análise de 15 *loci* de microssatélites revelou dois *cluster* (LGN e FLN) com conectividade genética moderada ( $F_{ST} = 0,075$ ;  $P = 0,010$ ). Embora as divergências ecológicas, como diferentes táticas de forrageio e filopatria (SIMÕES-LOPES et al., 1998; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999), sejam reconhecidas para os golfinhos costeiros e esta última parece desempenhar um papel fundamental na estruturação populacional encontrada, estas não se apresentam como barreiras populacionais impermeáveis que resultem em uma alta divergência genética entre os grupos ou na formação de *clusters* exclusivos de indivíduos residentes versus não-residentes.

A preferência por hábitat aparece como a principal responsável pela estrutura genética observada. Os *clusters* identificados foram majoritariamente compostos por: (1) todos os indivíduos de Laguna (LGN), cujo alto nível de residência já é bem documentado (BEZAMAT et al., 2018; DAURA-JORGE et al. 2013; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999), e (2) pelos indivíduos encontrados nas águas ao redor da ilha de Florianópolis (FLN), para os quais há poucos estudos sobre o nível de filopatria, mas golfinhos nariz-de-garrafa são comumente observados nessas águas (Wedekin et al. 2008). Embora a maioria dos indivíduos de cada *cluster* represente uma região filopátrica (LGN) e uma região de possível preferência de hábitat (FLN) (MACEDO et al., 2020), a composição dos grupos diferiu do esperado inicialmente. Esperava-se que a preferência por hábitat possivelmente conduziria a uma separação entre golfinhos (1) residentes (Laguna), (2) amostrados em Florianópolis, e (3) não-residentes da área de



transição. No entanto, o *cluster* que engloba todos os golfinhos residentes da região estuarina de Laguna também inclui nove indivíduos não-residentes da área de transição. Dois pontos merecem destaque: (1) os indivíduos da área de transição que foram agrupados no *cluster* LGN, quatro tiveram suas amostras de encalhe coletadas na própria região de Laguna, podendo então ser indivíduos residentes que foram considerados da transição apenas por não terem sido foto-identificados, no entanto os outros cinco indivíduos da transição eram sabidamente não-residentes. Entretanto, (2) destes indivíduos não-residentes, classificados como pertencentes à transição, podem ter origem em outras subpopulações de *T. t. geophyreus* localizadas mais ao sul do estuário, uma vez que, ao considerar o recorte da costa brasileira e os padrões de circulação do vento, a deriva das carcaças tende ser de sul para norte. A conectividade moderada encontrada aqui é inferior ao valor encontrado para 16 marcadores de microsatélite em estudo anterior na região ( $F_{ST} = 0,131$  em FRUET et al., 2014). O nível moderado de divergência genética encontrado neste estudo pode ser causado pela presença de indivíduos residentes que já foram avistados migrando entre áreas distantes (SIMÕES-LOPES et al., 1999), sendo estes indivíduos talvez os maiores responsáveis pela manutenção da conectividade genética entre as áreas. Taxas elevadas de fluxo gênico (24% de migrantes por geração) foram encontradas na direção de FLN para LGN, evidenciando que a população de LGN não é fechada para imigração como foi sugerido anteriormente (FRUET et al., 2014). Além dos residentes migrantes, os indivíduos da área de transição também parecem ser um link entre os *clusters* de FLN e LGN, uma vez que a reprodução pode estar acontecendo entre os indivíduos, como indicado pelo alto grau de parentesco ( $>0.5$ ) entre dois indivíduos de FLN (ID44509 e ID20966) com um indivíduo da transição (ID38625).

Apesar dos indivíduos que habitam o estuário de Laguna serem conhecidos pelo seu alto grau de residência (BEZAMAT et al., 2018; DAURA-JORGE et al., 2013; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999), a classificação dos indivíduos residentes com os indivíduos não-residentes no cluster LGN é um novo achado, mas não é totalmente surpreendente. Os indivíduos residentes demonstram diferentes padrões de residência (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999), podendo em certos momentos da vida habitar outras regiões. Além disso, dentro do próprio estuário, já foram observados indivíduos transientes, com cerca de 5,7% dos indivíduos de Laguna intercambiando-se com Tramandaí (SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Somado a isso, a distribuição espacial dos indivíduos residentes corresponde também à região da boca da barra de

Laguna (CANTOR et al., 2018), área que conecta o mar aberto ao estuário, sendo, portanto, um ponto de potencial encontro entre residentes e não-residentes. Esses fatores possibilitam o cruzamento entre indivíduos residentes estuarinos e não-residentes, resultando no padrão de agrupamento observado.

Embora não se conheça os índices de filopatria dos indivíduos de Florianópolis, estes não se agruparam com indivíduos da área de transição, indicando uma distinção notável entre eles. Estes resultados destacam uma possível preferência de hábitat dos golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille pela região costeira de Florianópolis. Embora populações filopátricas em curtas distâncias geográficas existam em diversos grupos de cetáceos (ver revisão MÖLLER, 2011), utilizar o termo filopatria para os indivíduos de Florianópolis é ainda precoce, pois apesar da existência de golfinhos nariz-de-garrafa nas águas ao redor da ilha de Santa Catarina, poucos são os estudos que focam neste grupo (FLORES & FONTOURA, 2006; WEDEKIN et al., 2008). Além disso, indivíduos dessa região já demonstraram fluxo gênico com populações mais distantes do que a de Laguna, como é o caso da população da Lagoa dos Patos (FRUET et al., 2014). Assim, há a necessidade de maior esforço de pesquisa na região para melhor entender a ecologia, os parâmetros demográficos, de distribuição e filopatria, e a viabilidade dessa subpopulação.

Não há evidências de uma estruturação genética entre os golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille que utilizam diferentes táticas de forrageio no estuário de Laguna. Para que se desenvolvesse uma separação genética, as táticas de forrageio precisariam influenciar as preferências reprodutivas, levando os indivíduos que praticam a pesca cooperativa a preferirem parceiros que utilizam da mesma tática, o mesmo é válido para os indivíduos que forrageiam sozinhos. A manutenção dessas preferências dentro dos grupos poderia resultar na formação de uma estrutura genética distinta, com mutações específicas a cada grupo sendo preservadas ao longo do tempo. A existência de módulos sociais, indicando que os golfinhos tendem a se associar com aqueles que compartilham áreas de distribuição e frequências de forrageamento semelhantes (MACHADO et al., 2019), sugere que eles teriam maior probabilidade de escolher parceiros destes módulos. No entanto, estudos recentes mostram que esses módulos sociais podem variar ao longo do tempo (CANTOR et al., 2023). Para que ocorra o isolamento reprodutivo, a estruturação social precisaria se estabilizar ao longo das gerações, permitindo o desenvolvimento de uma estrutura genética e produzindo mecanismos de isolamento reprodutivo pós-zigóticos primários, como é o caso da produção de híbridos. Como

pouco se sabe sobre as preferências sexuais destes indivíduos corresponder aos possíveis grupos que vivem, é difícil apontar se a falta de estruturação observada está relacionada a este fator ou a uma limitação analítica relacionada à baixa diversidade genética da subespécie em geral e o fato de utilizarmos apenas 15 marcadores nucleares, uma vez que este estudo estava limitado em sua habilidade de detectar a estrutura populacional em uma escala mais fina.

### **4.3 Diversidade genética de *T. t. gephyreus* na costa de Santa Catarina**

Observou-se neste estudo uma baixa diversidade genética em ambos os *clusters* de golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille, resultado semelhante ao encontrado em estudos anteriores (COSTA et al., 2021; FRUET et al., 2014; 2017). Para FLN e LGN foram observados níveis ainda mais reduzidos de diversidade genética do que para a subespécie em geral (FRUET et al., 2014), corroborando nossos achados que indicam cenários extremos de baixa diversidade genética, incluindo quatro *loci* monomórficos. Além de espécies costeiras tenderem a menor diversidade genética, o tamanho populacional está intimamente associado à diversidade de marcadores nucleares (e.g., microssatélites) (VACHON et al., 2017). Portanto, seria esperado que populações menores apresentem menor diversidade genética. Ambas as características se aplicam ao cluster LGN, i.e., costeiro, e com tamanho populacional reduzido (aproximadamente 50 indivíduos) e estável ao longo dos últimos 30 anos (DAURA-JORGE et al. 2013; SIMÕES-LOPES & FABIAN, 1999). Nossos achados também revelaram o baixo tamanho populacional efetivo ( $N_e$ ) deste grupo, estimado em 11 indivíduos (com intervalo de confiança variando de 3-23 indivíduos). Esses fatores certamente contribuem para o declínio da diversidade genética observado. As informações que obtivemos sobre o  $N_e$  para o *cluster* de FLN não foram suficientes para estabelecer uma relação clara entre a baixa diversidade genética e o tamanho populacional potencialmente reduzido.

A troca gênica entre residentes e não-residentes pode ser vantajosa para o grupo estuarino, já que a introdução de alelos "externos" pode promover, ou ao menos manter, a diversidade genética. Por outro lado, é importante destacar que os dados foram obtidos a partir de encalhes. Portanto, os indivíduos para os quais temos certeza sobre sua origem populacional são apenas os da LGN, pois estes foram foto-identificados.

Assim, tanto os indivíduos da região de transição quanto os de Florianópolis podem não ter necessariamente se originado das áreas às quais foram atribuídos.

A baixa diversidade genética de uma população pode torná-la menos preparada para enfrentar mudanças ambientais em curso, uma vez que a mesma é essencial para enfrentar ameaças antropogênicas em larga escala e mudanças ambientais. A diversidade genética é importante para a resistência da população frente a doenças e poluição química, como também, quando uma população tem seu tamanho reduzido devido a ameaças como captura acidental ou mudanças rápidas no habitat, nestes casos a diversidade genética pode fornecer uma base mais robusta para a recuperação, ajudando a população a se restabelecer e adaptar. (MCNEELY et al., 1990; PALUMBI, 2003) Ambos os indivíduos dos *clusters* LGN e FLN sofrem com ameaças antropogênicas. Um estudo recente observou que os indivíduos residentes de Laguna modificaram sua distribuição na área após as perturbações de hábitat causadas pela construção de uma ponte sobre as águas do estuário (AGRELO et al., 2019). Já nas águas da baía norte da Ilha de Florianópolis, recentemente, foi aprovada a construção de uma marina (Prefeitura Municipal de Florianópolis, 2023). Esta nova infraestrutura pode representar uma ameaça adicional para os golfinhos de Lahille de FLN, devido a possíveis mudanças em seu comportamento e distribuição espacial, semelhantes às observadas no *cluster* de LGN (AGRELO et al., 2019) e em outras populações de cetáceos (CREMER et al., 2004; HARTEL et al., 2014). Além disso, empreendimentos como este causam perturbações no hábitat ampliando as ameaças já enfrentadas pelos cetáceos, como o choque com embarcações, a poluição sonora e química, e mudança na disponibilidade de presas (NICOL, et al., 2020). Levando-se em conta de que o abandono ou a redução do uso de áreas perturbadas já foram registrados para outras populações de *Tursiops* spp. (PIROTTA et al., 2013) e considerando a baixa diversidade genética encontrada nas subpopulações dos golfinhos de Lahille na costa de Santa Catarina, é importante ressaltar que nossos resultados destacam a relevância da conexão entre as subpopulações.

## 5. Conclusão

Com o uso de amostras de áreas antes não exploradas geneticamente, este estudo encontrou resultados de conectividade relevantes tanto entre as subespécies de *Tursiops truncatus* ssp., quanto entre grupos populacionais de *T. t. gephyreus* na costa de Santa Catarina. Primeiramente, observou-se a presença de híbridos e um fluxo gênico persistente, ainda que baixo, entre as subespécies *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*, sugerindo interações entre as subespécies na estreita faixa do litoral catarinense, onde coexistem em simpatria. Segundo, ao focar apenas na subespécie costeira, observou-se que os golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille da costa de Santa Catarina, sul do Brasil, formam duas subpopulações (LGN e FLN), com conectividade genética entre os grupos e altos níveis de fluxo gênico na direção de FLN para LGN. A conexão entre essas localidades é parte do processo de conservação, uma vez que a migração pode introduzir alelos de fontes externas e contribuir para preservar e/ou restaurar a diversidade genética. Como ambas as subpopulações sofrem ameaças antrópicas em curso, evitar isolamento genético favorece a resiliência das mesmas. Nossos resultados não alteram a definição prévia das Unidades de Manejo da conste de Santa Catarina (LGN e FLN), mas destacam que há uma conectividade maior entre elas do que o anteriormente encontrado.

## Referências

- AGRELO, M.; DAURA-JORGE, F. G.; BEZAMAT, C.; SILVEIRA, T. C. L.; CASTILHO, P. V.; PIRES, J. S. R.; SIMÕES-LOPES, P. C. Spatial behavioural response of coastal bottlenose dolphins to habitat disturbance in southern Brazil. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v. 29, n. 11, p. 1949-1958, 2019
- ANDREWS, K. R.; KARCZMARSKI, L.; AU, W. W. L.; RICKARDS, S. H.; VANDERLIP, C. A.; BOWEN, B. W.; GRAU, E. G.; TOONEN, R. J. Rolling stones and stable homes: social structure, habitat diversity, and population genetics of the Hawaiian spinner dolphin (*Stenella longirostris*). *Molecular Ecology*, v. 19, p. 732–748, 2010.
- ANDREWS, K. Population Genetics in the Conservation of Cetaceans and Primates. *Primates And Cetaceans*, p. 289-308, 2013.
- BERUBE, M. & PALSBOÖLL, P. Identification of sex in cetaceans by multiplexing with three ZFX and ZFY specific primers. *Molecular Ecology*, v. 5, n. 2, p. 283-287, 1996.
- BÉRUBÉ, M. & PALSBOÖLL, P. J. Hybridism. In: WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M.; KOVACS, K. M. (Eds.). *Encyclopedia of Marine Mammals*. Amsterdam: Elsevier, 2018. p. 496-501.
- BEZAMAT, C.; SIMÕES-LOPES, P. C.; CASTILHO, P. V.; DAURA-JORGE, F. G. The influence of cooperative foraging with fishermen on the dynamics of a bottlenose dolphin population. *Marine Mammal Science*, v. 35, n. 3, p. 825-842, 2018.

- CANTOR, M.; SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G. Spatial consequences for dolphins specialized in foraging with fishermen. **Animal Behaviour**, v. 139, p. 19-27, 2018.
- CANTOR, M.; FARINE, D. R.; DAURA-JORGE, F. G. et al. Foraging synchrony drives resilience in human–dolphin mutualism. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 120, n. 6, 2023.
- COSTA, A. P. B.; 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, p. 1433–1457, 2016.
- COSTA, A. P. B.; FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C.; TULLIO, J. C. di; 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.
- CREMER, M. J.; HARDT F. A. S.; JÚNIOR A. J. T.; SIMÕES-LOPES, P. C.; PIRES J. S. R. Core areas changes in *Sotalia guianensis* (Cetacea, Delphinidae) population in Babitonga Bay, Santa Catarina. **Revista Univille**, v. 9, p. 12–16, 2004.
- DO, C.; WAPLES, R. S.; PEEL, D.; MACBETH, G. M.; TILLET, B. J.; OVENDEN, J. R. NeEstimator v2: Reimplementação de software para a estimativa do tamanho efetivo populacional contemporâneo ( $N_e$ ) a partir de dados genéticos. **Molecular Ecology Resources**, v.14, p 209-214, 2014
- DAURA-JORGE, F. G.; INGRAM, S. N.; SIMÕES-LOPES, P. C. Seasonal abundance and adult survival of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in a community that cooperatively forages with fishermen in southern Brazil. **Marine Mammal Science**, v. 29, p. 293–311, 2013.

- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of *clusters* of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p. 2611-2620, 2005.
- 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.
- FLORES, P. A. C. & FOUNTOURA, N. F. Ecology of marine tucuxi, *Sotalia guianensis*, and bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in Baía Norte, Santa Catarina state, southern Brazil. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 5, n. 2, p. 105-115, 2006.
- FOOTE, A. D.; VIJAY, N.; ÁVILA-ARCOS, M. C.; BAIRD, R. W.; DURBAN, J. W.; FUMAGALLI, M.; GIBBS, R. A.; HANSON, M. B.; KORNELIUSSEN, T. S.; MARTIN, M. D.; Genome-culture coevolution promotes rapid divergence of killer whale ecotypes. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2016.
- FONTAINE, M. C.; BAIRD, S. J.; PIRY, S.; RAY, N.; A TOLLEY, K.; DUKE, S.; BIRKUN, A.; FERREIRA, M.; JAUNIAUX, T.; LLAVONA, Á. Rise of oceanographic barriers in continuous populations of a cetacean: the genetic structure of harbour porpoises in Old World waters. **BMC Biology**, v. 5, p. 30, 2007
- FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; DAURA-JORGE, F.; VERMEULEN, E.; FLORES, P. A. C.; SIMÕES-LOPES, P. C.; GENOVES, R. C.; LAPORTA, P.; TULLIO, J. C. di; FREITAS, T. R. O. Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. **Conservation Genetics**, n. 15, p. 1-17, 2014.
- FRUET, P. F.; SECCHI, E. R.; TULLIO, J. C. di; SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F.; COSTA, A. P. B.; VERMEULEN, E.; FLORES, P. A. C.;



- GENOVES, R. C.; LAPORTA, P. Genetic divergence between two phenotypically distinct bottlenose dolphin ecotypes suggests separate evolutionary trajectories. **Ecology And Evolution**, v. 7, n. 21, p. 9131-9143, 2017
- FULLARD, K. J.; EARLY, G.; HEIDE-JØRGENSEN, M. P.; BLOCH, D.; ROSING-ASVID, A.; AMOS, W. Population structure of long-finned pilot whales in the North Atlantic: a correlation with sea surface temperature? **Molecular Ecology**, v. 9, p. 949–958, 2000.
- GOUDET, J. FSTAT 2.9.3: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices, 2001. Disponível em: <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. Acesso em: maio 2021.
- HARTEL, E. F.; CONSTANTINE, R. & TORRES, L. G. Changes in habitat use patterns by bottlenose dolphins over a 10-year period render static management boundaries ineffective. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 25, p. 562–572, 2014.
- HUBISZ, M.; FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, n. 5, p. 1322-1332, 12 ago. 2009.
- KOPELMAN, N. M.; MAYZEL, J.; JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N. A.; MAYROSE, I. Clumpak: A program for identifying *clustering* modes and packaging population structure inferences across k. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 5, p. 1179-1191, 2015.
- LYNCH, M. & RITLAND, K. Estimation of Pairwise Relatedness With Molecular Markers. **Genetics**, v. 152, n. 4, p. 1753-1766, 1999. Oxford University Press
- MACEDO, H. S. FLORES, P. A. C.; STEENBOCK, W.; MEDEIROS, R. P. Have you seen the dolphins? Dolphin watching participatory monitoring in a Brazilian

- multiple-use Marine Protected Area. In: MARINE PROTECTED AREAS, p. 361–378, 2020.
- MACHADO, A. M. S.; CANTOR, M.; COSTA, A. P. B.; RIGHETTI, B. P. H.; BEZAMAT, C.; VALLE-PEREIRA, J. V. S.; SIMÕES-LOPES, P. C.; CASTILHO, P. V.; DAURA-JORGE, F. G. Homophily around specialized foraging underlies dolphin social preferences. **Biology Letters**, v. 15, n. 4, p. 1-5, 2019.
- MCNEELY, J. A.; MILLER, K.; MITTERMEIER, R. A.; REID, W. V.; WERNER, T. B. *Conserving the world's biological diversity*. Gland, Switzerland : IUCN ; Washington, DC : WRI, Conservation International, WWF-US, World Bank. 1990.
- MÖLLER, L. M. & BEHEREGARAY, L. B. Genetic evidence for sex-biased dispersal in resident bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). **Molecular Ecology**, v. 13, 2004.
- MÖLLER, L.M. Sociogenetic structure, kin associations and bonding in delphinids. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 3, p. 745-764, 29 dez. 2011.
- NICOL, C.; BEJDER, L.; GREEN, L.; JOHNSON, C.; KEELING, L.; NOREN, D.; HOOP, J. D; SIMMONDS, M. Anthropogenic Threats to Wild Cetacean Welfare and a Tool to Inform Policy in This Area. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 57, 2020.
- OLIVEIRA, L. R. D.; FRAGA, L. D.; OTT, P. H.; SICILIANO, S.; LOPES, F.; ALMEIDA, R.; WICKERT, J. C.; MILMANN, L.; DANILEWICZ, D.; EMIN-LIMA, N. R. Population structure, phylogeography, and genetic diversity of the common bottlenose dolphin in the tropical and subtropical southwestern Atlantic Ocean. **Journal of Mammalogy**, v. 100, p. 564–577, 2019.
- PALUMBI S.R. Population Genetics, Demographic Connectivity, And The Design Of Marine Reserves. *Ecological Applications*, v.13, n. 1,146–158. 2003.

- PARK, S. D. E. Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection. Tese (Doutorado) – Curso de Genética, 2001.
- 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.
- PEW, J.; MUIR, P. H.; WANG, J.; FRASIER, T. R related: an R package for analyzing pairwise relatedness from codominant molecular markers. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, p. 557–561, 2015.
- PIROTTA, E.; LAESSER, B. E.; HARDAKER, A.; RIDDOCH, N.; MARCOUX, M.; LUSSEAU, D. Dredging displaces bottlenose dolphins from an urbanised foraging patch. **Marine Pollution Bulletin**, v. 74, n. 1, p. 396– 402, 2013.
- POSIT TEAM. RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. URL <http://www.posit.co/>. 2022.
- Prefeitura Municipal de Florianópolis. Consulta Pública. Parque Marina - Relatório do Estudo de Impacto Ambiental (EIA) e Relatório de Impacto Ambiental (RIMA). Disponível em:  
[https://www.pmf.sc.gov.br/sistemas/consulta/parqueMarina/consulta\\_eiarima.php](https://www.pmf.sc.gov.br/sistemas/consulta/parqueMarina/consulta_eiarima.php).  
Acesso em: 11 de maio de 2024.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population using *multilocus* genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945-959, 2000.
- ROONEY, A. P.; MERRITT D. B.; DERR J. Microsatellite diversity in captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). **Journal of Heredity**, v. 90, p. 228–231, 1999.

- ROSEL, P.; FRANCE, S. C.; WANG, J. Y.; KOCHER, T. D. Genetic structure of harbour porpoise *Phocoena phocoena* populations in the northwest Atlantic based on mitochondrial and nuclear markers. **Molecular Ecology**, v. 8, p. 41-54, 1999.
- ROSEL, P.; FORGETTA, V.; DEWAR, K. Isolation and characterization of twelve polymorphic microsatellite markers in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). **Molecular Ecology Notes**, v. 5, p. 830–833, 2005.
- ROSEL, P.; LAWILCOX; SINCLAIR, C; SPEAKMAN, T; TUMLIN, M; LITZ, J; ZOLMAN, E. Genetic assignment to stock of stranded common bottlenose dolphins in southeastern Louisiana after the Deepwater Horizon oil spill. **Species Research**, v. 33, p. 221–234, 2017.
- ROUSSET, F. GENEPOP'007: A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 1, p. 103–106, 2008.
- SIMÕES-LOPES, P. C.; FABIÁN, Ma. E.; MENEGHETI, J. O. Dolphin interactions with the mullet artisanal fishing on southern Brazil: a qualitative and quantitative approach. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, p. 709 – 726, 1998.
- SIMÕES-LOPES, P. C. &FABIAN, M. E. Residence patterns and site fidelity in bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* (Montagu) (Cetacea, Delphinidae) off Southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 4, p. 1017-1024, 1999.
- SIMÕES-LOPES, P. C.; DAURA-JORGE, F. G.; LODI, L.; BEZAMAT, C.; COSTA, A. P. B.; WEDEKIN, 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.

- VACHON, F.; WHITEHEAD, H.; FRASIER, T. R. What factors shape genetic diversity in cetaceans? **Ecology And Evolution**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 1554-1572, 2018.
- VALSECCHI, E. & AMOS, W. Microsatellite markers for the study of cetacean populations. **Molecular Ecology**, v. 5, p. 151–156, 1996.
- VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P. M.; SHIPLEY, P. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 535–538, 2004.
- VERMEULEN, E. & CAMMARERI, A. Residency patterns, abundance, and social composition of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Bahía San Antonio, Patagonia, Argentina. **Aquatic Mammals**, v. 35, p. 378–385, 2009.
- WAPLES, R. S & GAGGIOTTI, O. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. **Molecular Ecology**, v. 15, n. 6, p. 1419-1439, 2006.
- WAPLES, R. S. & DO, C. Ldne: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 4, p. 753-756, 2008.
- WEDEKIN, L. L.; DAURA-JORGE, F. G.; ROSSI-SANTOS M. R.; SIMÕES-LOPES, P. C. Notas sobre a distribuição, tamanho de grupo e comportamento do golfinho *Tursiops truncatus* (Cetacea: delphinidae) na ilha de Santa Catarina, sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 4, p. 225-229, 2008.
- WILSON, G. A. & RANNALA B.. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics**, v. 163, p. 1177–1191, 2003.

## Conclusão Geral

A estruturação das populações de golfinhos nariz-de-garrafa de Lahille na costa de Santa Catarina é sutil. Tal estruturação foi observada apenas quando foi utilizado a opção LOCPRIOR nos diferentes modelos de ancestralidade do programa STRUCTURE (*No Admixture* e *Admixture*), opção indicada para quando o sinal de estruturação populacional é fraco (HUBISZ et al., 2009). Observou-se uma conectividade moderada entre os dois *clusters* encontradas aqui, sendo uma delas composta de indivíduos residentes e não-residentes. A conectividade entre os *clusters* e a presença de indivíduos que vivem nos "corredores" entre as áreas de residência podem desempenhar um papel crucial na sustentabilidade das subpopulações locais. Entender a estruturação genética e demográfica dessas subpopulações é fundamental para criar estratégias de manejo e conservação que condizem com a realidade individual de cada grupo. Além disso, a despeito de não terem sido observadas juntas, as diferentes subespécies estudadas, *T. t. gephyreus* e *T. t. truncatus*, aparentam interagir, conforme indicado tanto pelas trocas genéticas ainda presentes entre elas quanto pelos possíveis híbridos identificados.

## Material Suplementar

Tabela S1. Lista de indivíduos utilizados nas análises. F: Fêmea; I: Indeterminado; M: Macho; NA: Ausência de Informação. Negrito representa os possíveis híbridos.

Identificador	Ficha de Campo	Área de Vida	Latitude	Longitude	Loci Amplificados	Sexagem	Tipo de amostra	Subespécie (Genotipagem)	Subespécie (Morfologia craniana)	Foto-ID
192584	UDE005607	Laguna	-28,49725	-48,78414	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	NA**	NA
150265	UDE004676	Laguna	-28,31538	-48,73878	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
133086	UDE004284	Laguna	-28,49703	-48,75571	15	I	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	NA**	NA
131843	UDE004225	Transição	-28,18327	-48,66308	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
130224	UDE004176	Transição	-28,50957	-48,7538	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
29771	UDE007845	Laguna	-28,48778	-48,78438	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	NA**	NA
249482	UDE006643	Transição	-28,49574	-48,76124	15	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	NA*	NA
192492	UDE005605	Transição	-28,41785	-48,86095	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	NA*	NA
183456	UDE005456	Transição	-28,73034	-49,07466	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
169039	UDE005352	Transição	-28,21399	-48,66706	15	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
38625	UDE001887	Transição	-28,18727	-48,66287	11	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
42125	UDE008478	Laguna	-28,46513	-48,77306	14	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
78056	UDE002541	Transição	-28,49529	-48,76052	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
93670	UDE002720	Transição	-28,48084	-48,78543	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
88418	UDE002669	Laguna	-28,51398	-48,81031	12	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
61639	UDE002192	Transição	-28,46997	-48,77712	14	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
172022	NA	Florianópolis	-27,61569	-48,5325	15	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
44509	NA	Florianópolis	-27,5422	-48,42591	15	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
20966	NA	Florianópolis	-27,63939	-48,45867	14	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
93132	NA	Florianópolis	-27,42482	-48,3996	15	F	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA

128387	UDE004307	Transição	-28,4156	-48,74691	15	M	Encalhe	<i>T. t. gephyreus</i>	NA*	NA
<b>180535</b>	<b>UDE005317</b>	<b>Transição</b>	<b>-28,619</b>	<b>-48,86707</b>	<b>11</b>	<b>M</b>	<b>Encalhe</b>	<b><i>T. t. gephyreus</i></b>	<b><i>T. t. truncatus</i></b>	<b>NA</b>
<b>47602</b>	<b>PBF002221</b>	<b>Transição</b>	<b>-28,07756</b>	<b>-48,62777</b>	<b>11</b>	<b>M</b>	<b>Encalhe</b>	<b><i>T. t. gephyreus</i></b>	<b><i>T. t. truncatus</i></b>	<b>NA</b>
<b>44758</b>	<b>UDE008520</b>	<b>Transição</b>	<b>-28,30203</b>	<b>-48,70136</b>	<b>15</b>	<b>M</b>	<b>Encalhe</b>	<b><i>T. t. gephyreus</i></b>	<b><i>T. t. truncatus</i></b>	<b>NA</b>
L01	NA	Laguna	-28,4299	-48,81661	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L02	NA	Laguna	-28,44728	-48,8346	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L03	NA	Laguna	-28,42329	-48,83681	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L04	NA	Laguna	-28,46782	-48,84229	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L05	NA	Laguna	-28,46678	-48,82567	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L08	NA	Laguna	-28,4327	-48,84146	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L09	NA	Laguna	-28,50261	-48,78823	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L17	NA	Laguna	-28,48166	-48,78891	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L18	NA	Laguna	-28,50941	-48,80248	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L19	NA	Laguna	-28,4923	-48,78837	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L20	NA	Laguna	-28,45886	-48,84149	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L21	NA	Laguna	NA	NA	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L23	NA	Laguna	-28,4662	-48,8418	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L24	NA	Laguna	NA	NA	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L25	NA	Laguna	NA	NA	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L28	NA	Laguna	-28,49919	-48,77597	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L29	NA	Laguna	-28,47776	-48,81163	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L30	NA	Laguna	-28,47977	-48,80047	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L31	NA	Laguna	-28,47769	-48,8089	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L32	NA	Laguna	-28,47923	-48,79456	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L33	NA	Laguna	NA	NA	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L35	NA	Laguna	NA	NA	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L36	NA	Laguna	NA	NA	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L39	NA	Laguna	NA	NA	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
L40	NA	Laguna	NA	NA	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA



L43	NA	Laguna	-28,48278	-48,78861	15	F	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	Sim
L45	NA	Laguna	-28,40612	-48,83874	15	M	Biópsia	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. gephyreus</i>	NA
132461	UDE004258	Oceânico	-28,48818	-48,76439	15	I	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
17489	PBF009254	Oceânico	-28,0022	-48,63165	15	M	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	NA*	NA
245330	UDE006553	Oceânico	-28,46506	-48,77314	14	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
214763	UDE005948	Oceânico	-28,46536	-48,77339	15	M	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	NA	NA
171500	UDE005317	Oceânico	-28,36704	-48,72862	15	M	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	NA	NA
77818	UDE002529	Oceânico	-28,22954	-48,65695	14	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
228494	UDE006085	Oceânico	-28,2404	-48,6569	15	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	NA	NA
168575	UDE004951	Oceânico	-28,96985	-49,3923	15	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
132334	UDE004348	Oceânico	-28,28808	-48,69556	13	I	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
226326	R3A008712	Oceânico	-27,5918	-48,56324	15	M	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	NA*	NA
132359	UDE004422	Oceânico	-28,37073	-48,73104	12	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
131784	UDE005317	Oceânico	-27,40558	-48,41150	15	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
147921	PBF004399	Oceânico	-27,43811	-48,48625	15	M	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA
781697	UDE006757	Oceânico	-28,46512	-48,77337	15	F	Encalhe	<i>T. t. truncatus</i>	<i>T. t. truncatus</i>	NA

NA\* Filhotes sem informação sobre a subespécie da mãe; NA\*\* Filhotes onde as mães são *T. t. gephyreus*.

### *Sexagem Molecular:*

As PCRs de sexagem molecular foram realizadas para um volume final de 25 ul. O perfil da PCR foi feito a partir da desnaturação inicial de 2 minutos a 95°C, com 35 ciclos de desnaturação a 95°C, anelamento a 60°C e extensão a 72°C, e extensão final a 72°C por 5 minutos. Amostras amplificadas foram visualizadas em 3% gel de agarose. A presença de dois fragmentos, um de aproximadamente 247 pb (ZFX) e outro de 432 pb (SRY) foi considerado diagnóstico de macho, enquanto a presença de apenas um fragmento em torno de 247 pb foi diagnóstico de fêmea. A PCR foi conduzida com um controle negativo (ausência de DNA) e um controle positivo (amostra com sexo conhecido).

Tabela S2. Concentrações dos reagentes para a PCR de sexagem molecular feita para um volume final de 25 ul.

<b>Reagentes</b>	<b>Concentração</b>
MgCl <sub>2</sub>	1,5 mM
dNTP	150 uM
Primer SRY F	0,3 uM
Primer SRY R	0,3 uM
Primer ZFX F	0,3 uM
Primer ZFX R	0,3 uM
DNA polymerase	1,5 U
Buffer	10x
DNA	25 ng/ul

*PCR dos 15 Loci de Microssatélites:*

As PCRs foram conduzidas para um volume final de 10 ul, os reagentes tiveram as mesmas concentrações para os diferentes conjuntos de pares de primers (10 ng/ul DNA, MQH<sub>2</sub>O e 2x Type-it Multiplex PCR Master Mix). Os primers tiveram concentrações diferentes conforme mostra a Tabela S3, e as reações das PCRs seguiram as condições conforme a Tabela S4. Essas condições seguiram metodologia descrita em Rosel et al. (2017).

Tabela S3. Concentrações dos primers mix para as PCRs dos 15 *loci* de microssatélites conforme Rosel et al. (2017). PCR 1: Ttr58, Ttr63, TexVet5, EV37; PCR 2: Ppho130, FF6, Ttr04, Ttr11, Ttr19; e PCR 3: Ttr36, Ttr54, Ttr55, Ttr61, Ttr90, Ttr98.

<b>PCR 1: Locus</b>	<b>Dye</b>	<b>Working Stock</b>	<b>uL</b>	<b>[Primer]</b>	<b>[Final]</b>
Ttr58	NED	10 uM	3.75	0.75 uM	0.0375 uM
Ttr63	6-FAM	50 uM	4.0	4.0 uM	0.2 uM
TexVet5	VIC	50 uM	1.0	1.0 uM	0.05 uM
EV37	6-FAM	50 uM	6.0	6.0 uM	0.3 uM

<b>PCR 2: Locus</b>	<b>Dye</b>	<b>Working Stock</b>	<b>uL</b>	<b>[Primer]</b>	<b>[Final]</b>
Ppho130	PET	50 uM	6.0	6.0 uM	0.30 uM
FF6	NED	50 uM	3.0	3.0 uM	0.15 uM
Ttr04	6-FAM	50 uM	1.5	1.5 uM	0.075 uM
Ttr11	VIC	50 uM	1.0	1.0 uM	0.05 uM
Ttr19	6-FAM	50 uM	2.0	2.0 uM	0.1 uM

<b>PCR 3: Locus</b>	<b>Dye</b>	<b>Working Stock</b>	<b>uL</b>	<b>[Primer]</b>	<b>[Final]</b>
Ttr36	NED	50 uM	1.5	1.5 uM	0.075 uM
Ttr54	VIC	50 uM	6.0	6.0 uM	0.2 uM
Ttr55	VIC	50 uM	4.0	4.0 uM	0.2 uM
Ttr61	6-FAM	50 uM	2.0	2.0 uM	0.1 uM
Ttr90	6-FAM	50 uM	2.0	2.0 uM	0.1 uM
Ttr98	PET	50 uM	1.0	1.0 uM	0.1 uM

Tabela S4. Condições das PCRs para 15 *loci* de microssatélites conforme Rosel et al. (2017). Template 1: Ttr58, Ttr63, TexVet5, EV37; Template 2: Ppho130, FF6, Ttr04, Ttr11, Ttr19; e Template 3: Ttr36, Ttr54, Ttr55, Ttr61, Ttr90, Ttr98.

Passos	Template 1			Template 2			Template 3		
	Ciclos	Temperatura	Tempo	Ciclos	Temperatura	Tempo	Ciclos	Temperatura	Tempo
Desnaturação inicial	1x	95°C	5 min	1x	95°C	5 min	1x	95°C	2 min
Desnaturação	27X	95°C	30 sec	29X	95°C	30 sec	10X	95°C	30 sec
Anelamento	27X	52°C	90 sec	29X	50°C	90 sec	10X	54°C	1 min
Extensão	27X	72°C	30 sec	29X	72°C	30 sec	10X	72°C	1 min
Extensão Final	1x	60°C	30 min	1x	60°C	30 min	1x	60° C	30 min

Tabela S5. Porcentagem de atribuição dos indivíduos de *Tursiops truncatus* ssp. aos *clusters* propostos para cada subespécie. Negrito representa os indivíduos híbridos conforme dados genéticos versus morfológicos.

ID	<i>Admixture</i>	
	<i>T. t. gephyreus</i>	<i>T. t. truncatus</i>
192584	0.999	0.001
150265	0.999	0.001
133086	0.999	0.001
131843	0.999	0.001
130224	0.999	0.001
29771	0.999	0.001
249482	0.999	0.001
192492	0.999	0.001
183456	0.999	0.001
169039	0.999	0.001
42125	0.999	0.001
LG19	0.999	0.001
78056	0.999	0.001
93670	0.999	0.001
61639	0.999	0.001
LG45	0.999	0.001
44509	0.999	0.001
128387	0.999	0.001
L01	0.999	0.001
L02	0.999	0.001
L03	0.999	0.001
L04	0.999	0.001
L05	0.999	0.001
L08	0.999	0.001
L09	0.999	0.001
L18	0.999	0.001
L20	0.999	0.001
L21	0.999	0.001
L24	0.999	0.001
L25	0.999	0.001
L28	0.999	0.001
L29	0.999	0.001
L30	0.999	0.001
L31	0.999	0.001
L32	0.999	0.001
L33	0.999	0.001
L36	0.999	0.001
L39	0.999	0.001
L40	0.999	0.001
L43	0.999	0.001

38625	0.998	0.002
LG17	0.998	0.002
88418	0.998	0.002
172022	0.998	0.002
20966	0.998	0.002
<b>180535</b>	<b>0.998</b>	<b>0.002</b>
<b>47602</b>	<b>0.998</b>	<b>0.002</b>
L23	0.998	0.002
L35	0.998	0.002
93132	0.906	0.094
<b>44758</b>	<b>0.65</b>	<b>0.35</b>
245330	0.004	0.996
131784	0.004	0.996
168575	0.003	0.997
132334	0.003	0.997
781697	0.003	0.997
132461	0.002	0.998
17489	0.002	0.998
214763	0.002	0.998
171500	0.002	0.998
77818	0.002	0.998
228494	0.002	0.998
132359	0.002	0.998
147921	0.002	0.998

Figura S1. Estimativas do melhor K pelo método estatístico a)  $\Delta K$  e b)  $L(K)$  obtidas para o modelo *Admixture* (sem LOCPRIOR) para as 65 amostras de *Tursiops truncatus* ssp. da costa de Santa Catarina, utilizando mais de 11 loci para análise.

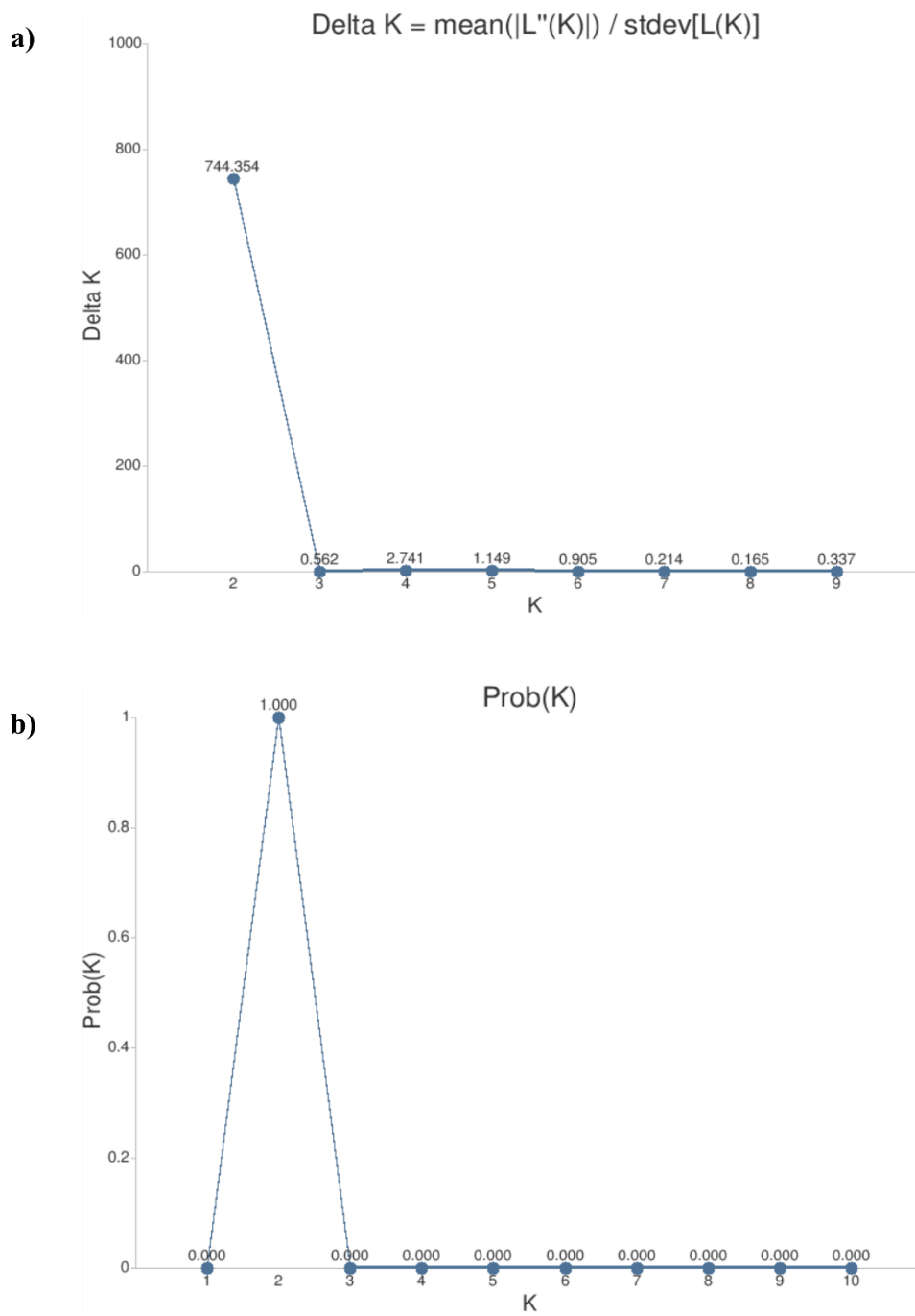


Figura S2. Estimativas do melhor K pelo método estatístico a)  $\Delta K$  e b)  $L(K)$  obtido para modelo *No Admixture* com LOCprior, utilizando mais de 13 loci, para 46 indivíduos de *T. t. geophyreus* da costa de Santa Catarina.

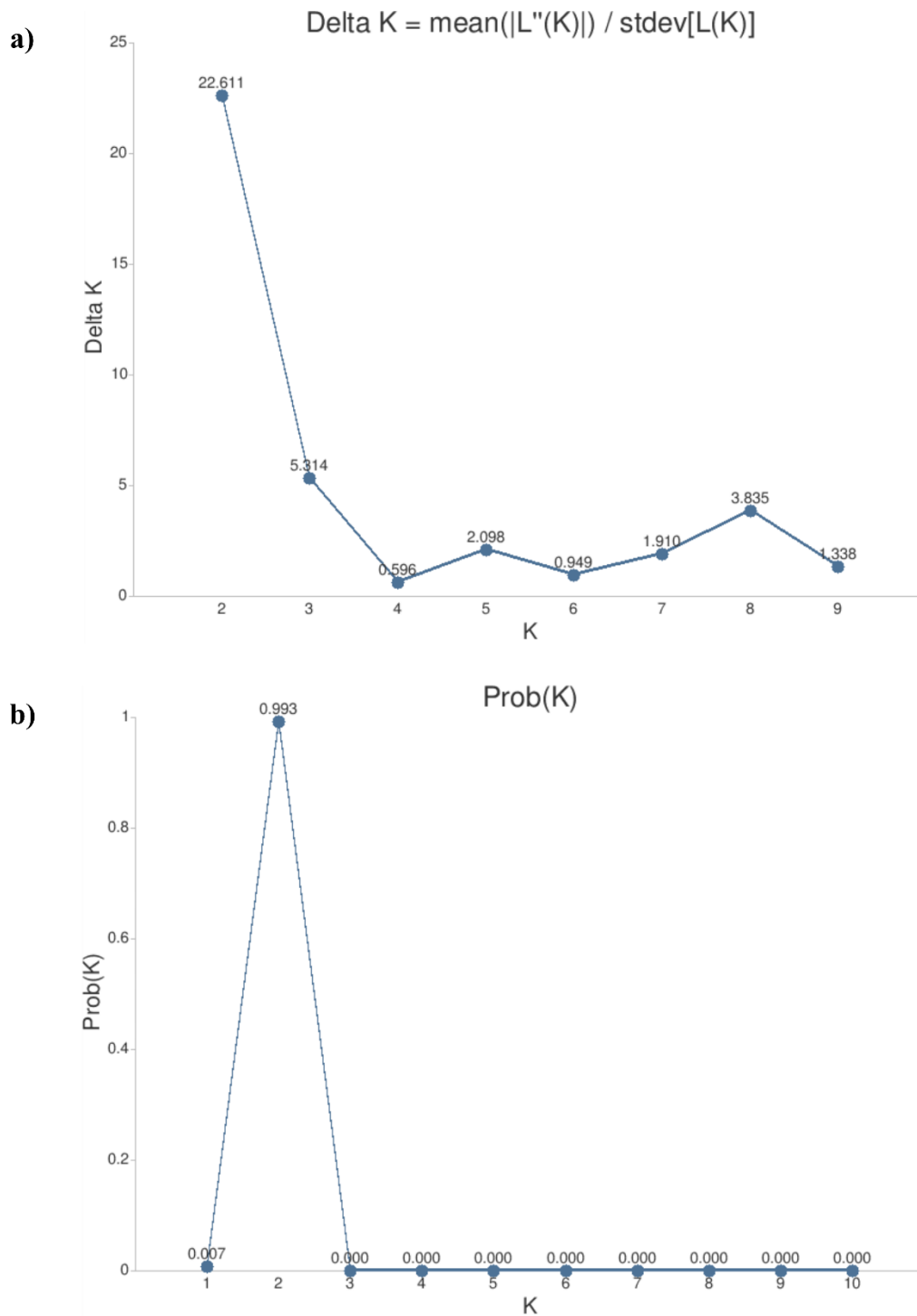




Figura S3. Estimativas do melhor K pelo método estatístico a)  $\Delta K$  e b)  $L(K)$  obtido para Modelo *Admixture* com LOCPRIOR, utilizando mais de 13 loci, para 46 indivíduos de *T. t. gephyreus* da costa de Santa Catarina.

