

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO  
GOLFINHO-NARIZ-DE-GARRAFA *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)  
NA COSTA BRASILEIRA**

**Lúcia Darsie Fraga**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
Av. Ipiranga 6681 - Caixa Postal 1429  
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564  
CEP 90619-900 Porto Alegre - RS  
Brasil**

**2016**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO  
GOLFINHO-NARIZ-DE-GARRAFA *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)  
NA COSTA BRASILEIRA**

**Lúcia Darsie Fraga**

**Orientador: Sandro Luis Bonatto**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PORTO ALEGRE - RS – BRASIL**

**2016**

## SUMÁRIO

**AGRADECIMENTOS** .....IV

**RESUMO**..... V

**ABSTRACT** .....VI

**APRESENTAÇÃO GERAL**.....VII

**ARTIGO:** Estrutura populacional e diversidade genética do golfinho-nariz-de-garrafa

*Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) na costa brasileira ..... 1

    Resumo..... 2

    Introdução ..... 3

    Material e Métodos ..... 6

    Resultados ..... 10

    Discussão ..... 13

    Agradecimentos..... 19

    Literatura Citada..... 20

    Figuras..... 29

    Tabelas ..... 33

    Informações de Suporte..... 36

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu Deus que me sustentou, deu forças, sabedoria e um motivo para fazer todas as coisas. Muito obrigada por me inspirar, dar inteligência e guiar até aqui. Não seria nada sem Você, sem Sua amizade e presença comigo não teria concluído esse trabalho, agradeço pelo amor incondicional. Palavras não conseguem expressar minha gratidão ao Deus que eu amo e que é simplesmente tudo em minha vida e meu ser.

À minha família, o apoio de vocês me motivou, tranquilizou e ajudou-me a ter um porto seguro: ao meu pai por ser um modelo de esmero no trabalho, a minha mãe por sempre orar por mim e me ouvir, a minha irmã Isabel por me ajudar a relaxar, a minha irmã Laura por me levar a sair da rotina, ao meu cunhado (irmão) Héber pelas risadas e amizade, aos meus sobrinhos Elias e Josias por colocarem vários sorrisos no meu rosto, à minha tia Berenice e à minha vó Antonieta pelo orgulho que demonstram por mim.

Ao meu orientador Sandro L. Bonatto pela oportunidade, paciência e por compartilhar seus conhecimentos comigo.

A minha co-orientadora Larissa R. de Oliveira por toda a ajuda desde o início (e muito antes) do mestrado até o seu término, por sua paciência e parceria comigo até o final. Muito obrigada mesmo!

A todos os meus colegas de laboratório por toda a ajuda prestada e pelos momentos de descontração, vocês tornaram meus dias na PUCRS mais agradáveis. Ao meu colega de longa data Fernando Lopes, se fosse agradecer por cada ajuda sua precisaria escrever várias páginas, mas muito obrigada por sempre me motivar, torcer por mim e nunca negar ajuda mesmo nos momentos em que tu estavas mais ocupado, tua ajuda foi fundamental nesse trabalho desde o início. À laboratorista Fernanda Valdez por todo o auxílio no trabalho de bancada.

Ao professor Victor Hugo Valiati por me ajudar a resolver os meus problemas (que não eram seus de forma alguma).

Ao Lucas Milmann pelo auxílio na compreensão dos locais de coleta das amostras.

À Simone Amaral por sua disposição em revisar o inglês do Abstract. Muito obrigada!

A todos os que estiveram orando por mim para que Deus me ajudasse a ter tranquilidade e me concedesse sabedoria nesses dois anos. Vocês também fazem parte do meu êxito, por isso, muito obrigada!

## RESUMO

O golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) tem distribuição mundial em diferentes habitats, alta plasticidade comportamental e grande variação genética e morfológica. No Brasil, *T. truncatus* ocorre de norte a sul, contudo os estudos de estruturação populacional da espécie no país ainda são restritos a algumas localidades. Existe também a proposta baseada na morfologia da existência de outra espécie, *T. gephyreus*, ao sul da distribuição, em simpatria parcial com *T. truncatus*. O objetivo deste estudo é avaliar os níveis de variabilidade genética e estrutura populacional da espécie ao longo da costa brasileira além da comparação parcial com a identificação morfológica. Para isso foram analisadas 110 amostras em seis áreas de ocorrência na costa do Brasil, além de espécimes da Guiana Francesa e do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP). Após a análise da região controladora do DNAm<sub>t</sub> e de sete *loci* de microssatélites, nós encontramos estruturação populacional significativa da espécie nos dois marcadores. Esses resultados apontaram a existência de três grupos genéticos geograficamente distintos: ASPSP (ASPSP mais Guiana Francesa), Nordeste (estados do Pará, Ceará, Rio Grande do Norte e Bahia) e Bacias de Campos e de Santos (BC/BS, estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina). A diversidade haplotípica e a riqueza alélica destes grupos foram altas assim como o grau de estruturação genética entre eles. Já no RS existem alguns indivíduos com alta probabilidade de pertencerem ao grupo BC/BS, e outros ao grupo Nordeste, além de vários indivíduos que compreendem um grupo genético muito diferenciado nos microssatélites e com haplótipos do DNAm<sub>t</sub> em um clado exclusivo, a maior parte deles identificados como *T. gephyreus*. Combinando estes resultados com outros estudos parciais, concluímos que o golfinho-nariz-de-garrafa do sudoeste do Oceano Atlântico é composto por, pelo menos, quatro unidades de manejo distintas geograficamente: i) ASPSP; ii) Nordeste; iii) BC/BS (que parece se estender até pelo menos o RS); e iv) Bahía San Antonio, Argentina. Por fim, possivelmente a partir de SC até o Uruguai, parece existir também uma entidade genética distinta, que não é o *T. truncatus* canônico, mas aparentemente simpátrica com este, e que está claramente associada à morfologia descrita como *T. gephyreus*, embora alguns aspectos desse quadro ainda não estejam claros o suficiente para que se tome uma decisão taxonômica formal.

## ABSTRACT

The bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) has worldwide distribution in different habitats, high behavioral plasticity, and large genetic and morphological variation. In Brazil, *T. truncatus* occurs from north to south, yet studies of population structure of the species in the country are still restricted to certain locations. There is also a proposal based on the morphology of the existence of another species, *T. gephyreus*, in the southern part of the distribution, in partial sympatry with *T. truncatus*. The goal of this study is to assess the levels of genetic variability and population structure of the species along the Brazilian coast and also compare the results with previous morphological identification. A total of 110 samples were analyzed in six areas of occurrence on the coast of Brazil, as well as specimens from French Guiana and Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP). After analyzing the mtDNA control region and seven microsatellite *loci*, we found significant population structure of the species in the two markers. The results indicate the existence of three geographically distinct genetic groups: ASPSP (comprising samples from ASPSP and the French Guiana), Northeast (from states of Pará, Ceará, Rio Grande do Norte and Bahia) and Campos and Santos Basins (from BC/BS, the states of Rio de Janeiro, São Paulo and Santa Catarina). Haplotype diversity and allelic richness of these groups were high as well as their genetic structure. Samples from the RS state comprise some individuals with high likelihood to be part of the BC/BS group and others to the Northeast group. However, several individuals comprise a much differentiated genetic group in microsatellites and with mtDNA haplotypes from a unique clade, most of them identified as *T. gephyreus*. Combining these results with previous studies, we conclude that the bottlenose dolphin from the southwest Atlantic Ocean consists of at least four management units: i) ASPSP; ii) Northeast; iii) BC/BS (that seems to extend at least to RS); and iv) Bahía San Antonio, Argentina. Finally, from SC state to Uruguay it seems to exist a distinct genetic entity that is not the canonical *T. truncatus*, but sympatric to it, and that is associated with the *T. gephyreus* morphology, but the picture is not clear enough to propose a formal taxonomic decision.

## **APRESENTAÇÃO GERAL**

Esta dissertação está apresentada em formato de artigo científico, segundo as normas do periódico *Marine Mammal Science*. Dessa maneira, todo o texto bem como suas referências, informações de suporte, tabelas e figuras (com suas respectivas legendas) estão configurados segundo as normas da revista científica já citada.

## **Artigo Científico**

Estrutura populacional e diversidade genética do golfinho-nariz-de-garrafa *Tursiops truncatus*  
(Montagu, 1821) na costa brasileira

Fraga, Lúcia D.<sup>1,2</sup>; Oliveira, Larissa R.<sup>2,3</sup>; Bonatto, Sandro L.<sup>1</sup>

*Artigo no formato de submissão ao periódico*

***Marine Mammal Science***



1 **Estrutura populacional e diversidade genética do golfinho-nariz-de-garrafa**

2 ***Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) na costa brasileira**

3  
4 Fraga, Lúcia D.<sup>1,2</sup>; Oliveira, Larissa R.<sup>2,3</sup>, Bonatto, Sandro L.<sup>1</sup>

5  
6 (1) Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Av. Ipiranga, 6681, Porto Alegre,  
7 RS, 90619-900, Brasil

8 (2) Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), Av. Unisinos 950, São Leopoldo, RS, 93022-  
9 000, Brasil

10 (3) Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS), Rua Machado de  
11 Assis, 1456, Osório, RS, 95520-000, Brasil

12  
13  
14  
15  
16  
17 Autor correspondente: lari.minuano@gmail.com. Telefone: +55 (51) 3591-1100 extensão: 1229.

18  
19 Palavras-chave: *Tursiops truncatus*; estruturação populacional; diversidade genética; microssatélites

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31 **Resumo**

32 O resumo já foi apresentado anteriormente (ver acima), dessa forma, não há  
33 necessidade de repeti-lo nesta seção.

34

## 35 **Introdução**

36 Estudos de diferenciação genética interpopulacional têm sido realizados nos últimos anos em  
37 diversas espécies de cetáceos (*e.g.* Patenaude *et al.* 2007, Natoli *et al.* 2008, Ansmann *et al.* 2012, Cunha  
38 *et al.* 2014, Quintela *et al.* 2014). Apesar do alto potencial de dispersão, a estruturação entre essas  
39 populações é comumente encontrada. Essa estruturação pode estar relacionada tanto a fatores ambientais,  
40 como a influência de correntes marinhas e temperatura oceânica (*e.g.* Natoli *et al.* 2005), como a  
41 características comportamentais associadas ao habitat (Louis *et al.* 2014). O golfinho-nariz-de-garrafa,  
42 *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821), também tem sido apontado como uma espécie que apresenta níveis  
43 baixos a altos de estruturação mesmo entre populações geograficamente próximas (Hoelzel *et al.* 1998,  
44 Parsons *et al.* 2002, Torres *et al.* 2003, Natoli *et al.* 2004, Sellas *et al.* 2005, Parsons *et al.* 2006,  
45 Bilgmann *et al.* 2007, Viaud-Martínez *et al.* 2008, Tezanos-Pinto *et al.* 2009, Martien *et al.* 2011,  
46 Mirimin *et al.* 2011, Caballero *et al.* 2012, Louis *et al.* 2014).

47 O golfinho-nariz-de-garrafa tem distribuição cosmopolita, ocorrendo tanto em águas temperadas  
48 como tropicais, costeiras e oceânicas (Wells and Scott 1999, Reynolds *et al.* 2000). No Brasil, *T.*  
49 *truncatus* está distribuído de norte a sul do país, ocupando diferentes habitats como regiões costeiras,  
50 lagoas, estuários e mares internos, além de águas pelágicas e ilhas oceânicas, o que evidencia a sua alta  
51 plasticidade comportamental (Pinedo *et al.* 1992, Ott *et al.* 2009, Gondim *et al.* 2013). Esta característica  
52 aliada a grande variação morfológica e a ocupação de vários habitats levaram a descrição de mais de 20  
53 espécies diferentes no passado (Walker 1981, Hersh and Duffield 1990, Ross and Cockcroft 1990, Wells  
54 and Scott 1999). Atualmente, apenas as espécies *T. truncatus* e *T. aduncus* (Ehrenberg, 1833), conhecidas  
55 popularmente como golfinho-nariz-de-garrafa do Indo-Pacífico, são reconhecidas pelo Comitê de  
56 Taxonomia da Society for Marine Mammalogy (Committee on Taxonomy 2015). Contudo, novos estudos  
57 moleculares sugerem a existência de pelo menos mais duas espécies – *T. australis* no sul da Austrália  
58 (Bilgmann *et al.* 2007, Möller *et al.* 2008) e uma variação de *T. aduncus* no litoral da África do Sul  
59 (Natoli *et al.* 2004).

60 No Brasil, acredita-se que as ameaças à conservação de *T. truncatus* estão relacionadas à  
61 intensificação das atividades humanas próximo à costa. Como resultado dessa ameaça em especial, já foi  
62 registrado uma redução na taxa reprodutiva e aumento da mortalidade de determinadas populações

63 costeiras do golfinho-nariz-de-garrafa (Simões-Lopes and Daura-Jorge 2008, Viaud-Martínez *et al.* 2008,  
64 Fruet *et al.* 2012).

65 Apesar de sua ampla distribuição e presença em áreas com intensa atividade antrópica, os  
66 estudos sobre a estruturação do golfinho-nariz-de-garrafa na costa do Brasil ainda são pouco abrangentes.  
67 Um dos primeiros estudos realizados foi o de Ott *et al.* (2009) com 59 indivíduos do golfinho-nariz-de-  
68 garrafa, provenientes de três regiões geográficas: Arquipélago São Pedro e São Paulo (ASPSP,  $n=19$ );  
69 Bacia de Campos e Bacia de Santos, incluindo os estados do Rio de Janeiro e São Paulo (BC/BS,  $n=20$ ) e  
70 Rio Grande do Sul (RS,  $n=20$ ). Nesse estudo os autores encontraram uma alta estruturação entre essas  
71 populações indicadas pelos índices de fixação entre os pares de populações (ASPSP e BC/BS:  
72  $F_{ST}=0,5180$ ; ASPSP e RS:  $F_{ST}=0,5259$ ; BC/BS e RS:  $F_{ST}=0,1163$ ;  $P<0,001$ ). Além disso, os resultados  
73 evidenciaram que não havia compartilhamento de nenhum haplótipo entre o ASPSP e as demais  
74 populações. Como apontado pelos autores, seus resultados indicaram que a população do ASPSP está  
75 isolada geograficamente e que *T. truncatus* apresenta uma forte estruturação genética no Brasil.

76 O trabalho de Fruet *et al.* (2014) incluiu espécimes coletados desde o sul do Brasil  
77 (Florianópolis, Santa Catarina) até a costa central da Argentina (Bahía San Antonio). Nesse estudo, os  
78 autores analisaram a região controladora do DNA mitocondrial e 16 *loci* de microssatélites de 138  
79 indivíduos, e encontraram estruturação genética entre duas grandes populações: uma no sul do Brasil  
80 (incluindo Uruguai) e outra somente na Bahía San Antonio (Argentina). Esse resultado indicou que as  
81 condições ambientais as quais as populações estão expostas podem levar a um aumento na especialização  
82 para aquele habitat e a diferenciação entre as populações.

83 Em outro estudo, publicado por Costa *et al.* (2015), os autores analisaram a estruturação entre  
84 três populações do sul do Brasil, utilizando a região controladora do DNA mitocondrial, cinco *loci* de  
85 microssatélites e foto-identificação. Como resultado eles obtiveram diferenciação entre as três  
86 populações: Laguna/Santa Catarina, Torres/Rio Grande do Sul e ao longo da costa de Santa Catarina.  
87 Contudo, embora tanto o trabalho de Fruet *et al.* (2014) quanto de Costa *et al.* (2015) tenham encontrado  
88 estruturação populacional em golfinhos-nariz-de-garrafa no litoral sul do Brasil, nenhum deles realizou  
89 análises da estruturação populacional abrangendo toda a costa brasileira.

90 A ausência de estudos genéticos para as demais áreas brasileiras dificulta a compreensão sobre a  
91 existência e a relação das populações de *T. truncatus*. O golfinho-nariz-de-garrafa tem sofrido com o

92 impacto da atividade pesqueira (ICMBio 2011) e há ainda diversas notificações recentes de casos de  
93 patologias de origens e etiologias diversas, diagnosticadas como Lobomycose ou assemelhadas  
94 ('Lobomycose-like disease'), ou mesmo distintas dessas (Daura-Jorge and Simões-Lopes 2011, Van  
95 Bresse *et al.* 2015). Devido a esses fatores faz-se necessário compreender qual o nível de influência  
96 dessas ameaças sobre *T. truncatus* e sua diversidade genética como um todo. Para isso, é preciso  
97 esclarecer qual o nível de fluxo gênico entre suas populações e se as mesmas são significativamente  
98 diferentes entre si, a fim de que as estratégias de conservação atendam às necessidades de cada população  
99 considerada.

100 A diferenciação entre populações próximas de *T. truncatus* em diferentes regiões do mundo pode  
101 estar relacionada ao sistema social da espécie e a fidelidade ao sítio de nascimento, já evidenciados por  
102 estudos de foto-identificação (*e.g.* Parsons *et al.* 2006, Baird *et al.* 2009). A estruturação ainda pode ser  
103 explicada pela existência de duas formas geográficas distintas sugeridas para a espécie: costeira (*inshore*)  
104 e oceânica (*offshore*). A identificação dessas duas formas tem sido realizada por meio de análises  
105 morfológicas, ecológicas e genéticas na costa da Escócia, da América do Norte, do Mar Negro e do Mar  
106 Mediterrâneo (*e.g.* Duffield *et al.* 1983, Mead and Potter 1995, Hoelzel *et al.* 1998, Natoli *et al.* 2005). Já  
107 os resultados de Segura *et al.* (2006), em um estudo da região controladora do DNA mitocondrial de  
108 sequências de *T. truncatus* no Golfo do México, corroboraram fracamente os resultados propostos pelas  
109 análises de morfologia, comportamental e ecologia existentes para a região. Porém, deve-se levar em  
110 consideração que o trabalho não incluiu marcadores nucleares, o que pode ter "mascarado" um possível  
111 isolamento recente, segundo colocado pelos próprios autores.

112 Estudos craniométricos de espécimes coletados ao longo da costa brasileira, uruguaia e argentina  
113 sugerem a existência de uma forma distinta de *T. truncatus* no sul do Brasil. Em um estudo não  
114 publicado, Barreto (2000) propôs duas formas geográficas distintas ocorrendo no Brasil: uma ao norte  
115 (identificada como *T. truncatus*) e outra ao sul (sugerida como a subespécie *T. t. gephyreus*).  
116 Posteriormente, em outro estudo não publicado, Wickert (2013) propôs a ocorrência de duas espécies na  
117 região, *T. truncatus* e *T. gephyreus* revalidando a espécie proposta por Lahille (1908). Com base na  
118 análise da distribuição geográfica dos encalhes dos diferentes exemplares analisados, a autora encontrou  
119 simpatria entre *T. truncatus* e *T. gephyreus* do litoral norte do Paraná em direção sul até o município de  
120 Tavares (metade norte) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Já a partir da metade do sul do Rio

121 Grande do Sul até o norte da Argentina, haveria ocorrência exclusivamente de indivíduos *T. gephyreus*,  
122 enquanto ao norte da zona de simpatria ocorre apenas *T. truncatus*.

123 O presente estudo visa avaliar os níveis de variabilidade genética e estrutura populacional do  
124 golfinho-nariz-de-garrafa ao longo da costa brasileira, incluindo espécimes da Guiana Francesa e do  
125 Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Para tanto, sete *loci* de microssatélites e sequências da região  
126 controladora do DNA mitocondrial foram usados para investigar o nível de fluxo gênico entre essas  
127 populações e a provável diferenciação genética entre elas, bem como possíveis flutuações históricas  
128 populacionais. Além da amplitude da área amostrada, o trabalho destaca-se por incluir não apenas  
129 animais encontrados encalhados, de origem muitas vezes desconhecida, mas também indivíduos  
130 biopsiados e identificados como *inshore* e *offshore*, possibilitando testar a hipótese de que diferenças  
131 ecológicas poderiam direcionar a diferenciação genética entre populações de *T. truncatus*. Outro ponto  
132 importante é que este é o primeiro estudo genético em que parte dos indivíduos foi identificada  
133 morfológicamente como *T. truncatus* ou *T. gephyreus*. Por fim, buscou-se preencher a lacuna causada  
134 pela ausência de estudos moleculares da espécie no restante do Brasil com o objetivo final de contribuir  
135 para o maior conhecimento e manejo adequado da espécie.

136

## 137 **Material e Métodos**

### 138 **Coleta de amostras e extração de DNA**

139 Foram utilizadas 110 amostras de tecido de golfinhos-nariz-de-garrafa previamente coletadas a  
140 partir de animais encalhados ou biopsiados por instituições e grupos de pesquisa colaboradores (ver  
141 Tabela 1 – Informações de Suporte) na Guiana Francesa (GF,  $n=1$ ) e em sete áreas de ocorrência da  
142 espécie no Brasil, nas regiões Norte/Nordeste: Pará ( $n=1$ ), Ceará ( $n=4$ ), Rio Grande do Norte ( $n=4$ ),  
143 Bahia ( $n=6$ ); Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP,  $n=19$ ) (distante aproximadamente 1010km  
144 da costa brasileira); Bacia de Campos e Bacia de Santos (BC/BS inclui os estados do Rio de Janeiro, São  
145 Paulo e uma amostra de biópsia de Santa Catarina, essa amostra foi considerada como pertencente à Bacia  
146 de Santos pelo fato dessa estender-se desde Florianópolis – SC até o limite Sul do Cabo Frio – RJ) ( $n=45$ )  
147 e do litoral norte do Rio Grande do Sul (RS,  $n=30$ ) (Figura 1). É importante ressaltar que 22 amostras do  
148 RS são de indivíduos cuja morfologia craniana foi estudada por Wickert (2013) e que foram identificados  
149 como *T. gephyreus* ou *T. truncatus*. As amostras de tecido obtidas foram preservadas inicialmente em

150 álcool 96% ou em solução de dimetil sulfoxido (DMSO) saturada com cloreto de sódio (Amos and  
151 Hoelzel 1991), e posteriormente congeladas a -20°C para armazenamento em longo prazo.

152 A extração do DNA genômico foi realizada utilizando-se a metodologia padrão de extração com  
153 fenol/clorofórmio descrita por Sambrook *et al.* (1989), com ligeiras modificações (Shaw *et al.* 2003).  
154 Aproximadamente 200mg de tecido de cada amostra foram maceradas individualmente com nitrogênio  
155 líquido em um recipiente estéril. As amostras foram então transferidas para tubos de 15mL e incubadas, a  
156 37°C em 4,5mL de tampão de lise (4M uréia, 0,2M cloreto de sódio, 0,5% N-lauroil sarcosinato de sódio,  
157 10mM CDTA [ácido 1,2 ciclohexano-diaminotetracético], 100mM Tris-HCl pH 8,0) por pelo menos 72  
158 horas. Posteriormente, cerca de 20unidades/mL de proteinase K foram adicionadas as amostras e estas  
159 incubadas a 65°C por 1 hora. Ao final deste período, uma nova dose de proteinase K foi adicionada e as  
160 amostras transferidas novamente para uma temperatura de incubação de 37°C. Após 24 horas, uma  
161 terceira e última dose de proteinase K foi adicionada às amostras e estas incubadas a 37°C por mais 24  
162 horas. As etapas seguintes da extração seguiram os procedimentos padrões de extração com  
163 fenol/clorofórmio descrita por Sambrook *et al.* (1989). Ao final da extração, o DNA foi ressuspensionado em  
164 um volume proporcional ao tamanho do precipitado (entre 50µl e 500µl) com tampão TNE2 (10mM Tris-  
165 HCl pH 8,0, 10mM NaCl, 2mM EDTA).

166

#### 167 **Amplificação da região controladora do DNA mitocondrial**

168 Parte da região controladora do DNA mitocondrial (316 pb) foi amplificada através da técnica de  
169 reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando-se os iniciadores (*primers*) L15926 (5'  
170 TCAAAGCTTACACCAGTCTTGTAACC) (Kocher *et al.* 1989) e H16498 (3'  
171 CCTGAAGTAGGAACCAGATG) (Rosel *et al.* 1994). As reações para amplificação da região alvo  
172 foram realizadas em um volume final de 20µl (modificada de Ott 2002) sob as seguintes condições: cerca  
173 de 20ng de DNA genômico; 1x Tampão de PCR (10mM Tris-HCl pH 8,3, 50mM KCl); 0,2mM de  
174 dNTPs; 0,1mg/mL BSA; 3,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,2µM de cada *primer*; 1 unidade de Taq DNA Polimerase  
175 (Gibco BRL®).

176 As reações de PCR foram realizadas em termocicladores, consistindo de uma etapa inicial de  
177 desnaturação à 93°C por 5 minutos; 30 ciclos de 1 minuto de desnaturação a 93°C, 1 minuto de  
178 anelamento a 51,5°C e 1 minuto de extensão a 72°C, seguidos de um período de 10 minutos de extensão

179 final a 72° C e uma hora a 4° C. Uma pequena alíquota do produto de PCR (2µl) foi utilizada para a  
180 verificação do resultado das amplificações, por meio de comparação com um marcador de tamanho  
181 molecular utilizado como referência quando submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 1%  
182 com tampão Tris-Borato-EDTA 0,5x, os quais foram corados com Brometo de Etídio (0,10µg/mL) e  
183 visualizados sob radiação ultravioleta. No caso de amplificações de boa qualidade (*i.e.* somente um  
184 fragmento e rendimento adequado de aproximadamente 10ng/µl), o restante do volume da reação de PCR  
185 foi purificado através da incubação com enzimas de fosfatase alcalina e exonuclease I (*Amersham*  
186 *Biosciences*) a fim de remover iniciadores remanescentes e nucleotídeos não incorporados. Por fim, foi  
187 feito o sequenciamento automático seguindo os critérios do sistema *DYEnamic ET DYE Terminator cycle*  
188 *sequence kit for MegaBACE™ 1000* no Laboratório de Biologia Genômica e Molecular da Pontifícia  
189 Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

190

#### 191 **Análises das sequências do DNA mitocondrial**

192 Os sequenciamentos foram realizados em ambos os sentidos da fita de DNA e as sequências de  
193 boa qualidade, avaliadas através da visualização dos cromatogramas, foram alinhadas usando o algoritmo  
194 ClustalW no programa MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013), o mesmo avaliado visualmente e se necessário  
195 corrigido no mesmo programa. A diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) e a diversidade haplotípica ( $h$ ) foram  
196 calculadas para a espécie como um todo e para cada área de amostragem com o programa DNAsp v.5  
197 (Librado and Rozas 2009). O grau de subdivisão (estruturação) existente entre as populações foi avaliado  
198 pelo programa Arlequin v.3.5 (Excoffier and Lischer 2010), por meio de dois estimadores: o primeiro  
199 usando apenas a frequência dos haplótipos encontrados em cada população ( $F_{ST}$ , Weir and Cockerham  
200 1984); e o segundo calculado pela frequência e o número de diferenças nucleotídicas existentes entre cada  
201 par de haplótipos considerados ( $\phi_{ST}$ , distância). No Arlequin a distribuição geográfica dos haplótipos foi  
202 investigada através da análise de variância adaptada para dados moleculares (AMOVA). Esta análise  
203 permitiu identificar o quanto da variação existente na espécie é devido a variações dentro das populações  
204 e o quanto é decorrente de uma estruturação geográfica, ou seja, de variações entre as populações. Todas  
205 as análises do programa Arlequin foram realizadas em 10.000 permutações para a significância, valor de  
206 significância estatística  $P < 0,05$ , computando as estatísticas F sobre as frequências dos haplótipos.



207 Os testes de neutralidade D de Tajima (1989) e Fs de Fu (1996) foram calculados no programa  
208 Arlequin e a significância calculada através de 10.000 simulações. A relação filogenética entre as  
209 sequências foi estimada através de uma rede de haplótipos por meio do método de *median joining* pelo  
210 programa Network v.4.6 (Bandelt *et al.* 1999) usando os parâmetros *default*.

211

### 212 **Amplificação do DNA microsatélite**

213 Foram utilizados sete *loci* de microsatélites de DNA previamente desenvolvidos para cetáceos  
214 KWM2b, KWM9b e KWM12a (Hoelzel *et al.* 1998), EV37mn (Valsecchi and Amos 1996), TexVet5,  
215 TexVet7 e D08 (Rooney *et al.* 1999, Shinohara *et al.* 199). As reações para amplificação dos  
216 microsatélites seguiram o protocolo sugerido por Natoli *et al.* (2004) em um volume final de 20µl sob as  
217 seguintes condições: cerca de 20ng de DNA genômico; 1 X Tampão de PCR (10mM Tris-HCl pH 8,3,  
218 50mM KCl); 0,1mM de dNTPs; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,016µM *primer forward*; 0,25µM de *primer reverse*;  
219 0,05 unidades de Taq DNA Polimerase (©Invitrogen); 0,2µM de fluorescência.

220 As reações de PCR para os *loci* de microsatélite foram realizadas em termocicladores, através  
221 do sistema de *touchdown*, consistindo de uma etapa inicial de desnaturação à 94°C por 2 minutos e 30  
222 segundos; 1 minuto de anelamento a 60°C; 9 ciclos de 1 minuto de anelamento a 60°C (-1°C por ciclo); e  
223 1 minuto e 30 segundos de extensão a 72°C; seguidos de 40 ciclos de uma segunda desnaturação de 30  
224 segundos à 94°C; 1 minuto de anelamento a 50°C; e 1 minuto e 30 segundos de extensão a 72°C; 5  
225 minutos de extensão final a 72°C e 30 minutos a 4°C. O programa Genetic Profiler (*Amersham*  
226 *Biosciences*) foi utilizado para quantificar o tamanho dos alelos em pares de bases nucleotídicas (pb)  
227 através da leitura automática dos fragmentos, mas com conferência manual. O arredondamento do  
228 tamanho dos alelos e verificação de eventuais erros nos genótipos foi realizado por meio do programa  
229 Allelogram (Manaster 2002). Além disso, foi utilizado o programa Micro-checker (Oosterhout *et al.*  
230 2004) para detectar eventuais erros de interpretação na leitura dos alelos, como a presença de alelos nulos  
231 e *stuttering*, através do método de simulação Monte Carlo e a teoria de Hardy-Weinberg.

232

### 233 **Análise dos sete *loci* de DNA microsatélite**

234 As frequências alélicas e a heterozigosidade esperada (He) e observada (Ho), os desvios do  
235 equilíbrio de Hardy-Weinberg (Guo and Thompson 1992) e o desequilíbrio de ligação e estruturação

236 populacional ( $F_{ST}$  e  $R_{ST}$ ) foram calculados e testados com o Arlequin, usando os parâmetros: 1.000.000  
237 passos de MCMC, 100.000 passos *dememorization*, 10.000 permutações para a significância e valor de  
238 significância estatística  $P < 0,05$ .

239 O programa Structure v.2.3.4 (Pritchard *et al.* 2000) foi utilizado para a análise da estruturação  
240 populacional. Foi testada a possibilidade de existência de até 10 populações ( $K=2$  até  $K=10$ ), sendo que  
241 para cada  $K$  foram realizadas 10 corridas independentes de 1.000.000 de iterações MCMC, precedidas de  
242 *burn-in* de igual magnitude. O modelo utilizado foi o *admixture model* acompanhado de uma corrida com  
243 e sem *prior* de populações (origem). Inicialmente, o único indivíduo coletado na Guiana Francesa foi  
244 definido como uma população distinta das demais. Contudo, como após todas as análises o mesmo  
245 sempre foi atribuído como sendo integrante da população do Arquipélago São Pedro e São Paulo, nas  
246 análises finais o mesmo foi incorporado a esta população. Os resultados do Structure foram sumarizados  
247 por meio do site Structure Harvester (Earl and vonHoldt 2012), segundo os cálculos sugeridos por  
248 Evanno *et al.* (2005). Para visualização, foram utilizados os *softwares* Clumpp v.1.1.2 (Jakobsson and  
249 Rosenberg 2007), que sumariza os valores apresentados pelo Structure e *distruct* v.1.1 (Rosenberg 2004)  
250 que representa graficamente os valores gerados pelo Clumpp.

251 A relação entre os indivíduos baseada na distância  $D_c$  de Cavalli-Sforza and Edwards (1967) foi  
252 estimada através de uma árvore *neighbor-joining* sem raiz como programa Populations v. 1.2.32  
253 (Langella 1999) e a árvore resultante foi visualizada e editada com o FigTree v.1.4.2.

254 O fluxo gênico atual entre as populações foi calculado através do programa BayesAss v.3  
255 (Wilson and Rannala 2003). Os valores de aceite para avaliação dos parâmetros da análise apresentaram-  
256 se entre 20% e 60% (Wilson and Rannala 2003) como indicado pelo manual do programa. Os parâmetros  
257 usados foram de 30.000.000 iterações seguidas de *burn-in* de 3.000.000 iterações,  $DM=0,1$ ,  $DA=0,5$  e  
258  $DF=0,5$ . O programa Tracer v.1.5 (Rambaut and Drummond 2007) foi usado para monitorar as cadeias e  
259 sua convergência.

260

## 261 **Resultados**

### 262 **DNAm**

263 A variação das sequências de DNA foi avaliada em 316 pares de base alinhados, em um total de  
264 109 indivíduos, uma vez que não foi possível a obtenção de uma sequência de um indivíduo do nordeste.

265 Foram encontrados 30 sítios variáveis (92,2% transições e 8,8% transversões), que determinam 32  
266 haplótipos (Tabela 2 – Informações de Suporte). As diversidades haplotípica e nucleotídica das áreas  
267 foram em geral moderadamente alta (total  $H_d=0,85$ ) e bastante elevada (total  $\pi=1,5\%$ ), respectivamente  
268 (Tabela 1). A exceção foi a população do Arquipélago de São Pedro e São Paulo que apresentou somente  
269 dois haplótipos e, portanto  $H$  e  $\pi$  bastante baixos.

270 A rede de haplótipos (Figura 2) apresentou alguns haplótipos e clados muito divergentes dos  
271 demais (*e.g.* o haplótipo da Guiana Francesa). Há quatro haplótipos compartilhados entre o RS e BC/BS e  
272 que são compartilhados somente entre essas duas áreas. Embora o padrão geral da rede lembre uma  
273 estrela, não há um haplótipo central, e de forma geral os haplótipos de cada área estão distribuídos ao  
274 longo da rede, mas alguns clados estão geograficamente estruturados, como ocorre com um do Nordeste e  
275 um do RS. É importante salientar que este clado do RS (identificado por um retângulo na Figura 2)  
276 contém sequências que foram encontradas exclusivamente e em todos os indivíduos que foram  
277 identificados morfológicamente como *T. gephyreus* (Wickert 2013), embora alguns indivíduos com  
278 haplótipos deste clado não possuam informação morfológica e, portanto, não possam ser atribuídos a  
279 qualquer uma das duas morfoespécies. O haplótipo do espécime coletado no Pará apresentou-se mais  
280 próximo dos haplótipos do Nordeste (agrupados à direita da rede), sendo considerado como integrante da  
281 mesma área. De forma semelhante, dos cinco haplótipos da Bahia, quatro se encontram no “grupo do  
282 Nordeste” (formado por cinco haplótipos à direita da rede, Figura 2), sendo que um ainda é compartilhado  
283 com três amostras do RN reforçando a atribuição da Bahia à população do Nordeste. Vale ressaltar que a  
284 amostra coletada em SC apresentou haplótipo compartilhado com sete indivíduos da BC/BS e cinco do  
285 RS (Tabela 2).

286 A análise da variância molecular (AMOVA) indicou que há uma diferenciação alta e  
287 significativa entre as áreas em geral, com as duas medidas utilizadas ( $>26\%$ ,  $P<0,05$ ) (Tabela 2). As  
288 distâncias par a par entre as áreas foram todas significativas, tanto para o  $F_{ST}$  quanto para o  $\Phi_{ST}$ , sendo a  
289 população do Arquipélago São Pedro e São Paulo geralmente a que apresenta a maior diferenciação  
290 genética (Tabela 3).

291 Os testes de neutralidade seletiva de Tajima's  $D$  e Fu's  $FS$  não sugerem mudanças significativas  
292 no tamanho e nem expansão populacional recente, exceto na população do ASPSP, tanto nas populações  
293 separadas quanto na espécie como um todo (Tajima's  $D$ :  $-0,61 \pm 0,32$ ; Fu's  $FS$ :  $0,08 \pm 0,48$ ) (Tabela 1).

## 294 **Microssatélites**

295 Os sete *loci* de microssatélites analisados apresentaram polimorfismo moderado, sendo a média  
296 de heterozigosidade esperada total igual a 0,76 (SD=0,057) e a média total de alelos por *locus* foi de 12  
297 alelos (Tabela 4). Por não haver consistência no desequilíbrio de ligação e nos desvios do equilíbrio de  
298 Hardy-Weinberg na maioria dos *loci* e entre as áreas, indicando níveis baixos de interações entre os *loci*  
299 (D'Aoust-Messier and Lesbarrères 2015), nenhum *locus* foi excluído das análises. O programa  
300 Microchecker sugeriu a presença de alelos nulos e de *stuttering* em algumas áreas, mas por não haver  
301 consistência destes resultados entre *loci* e áreas, nenhum *locus* foi excluído das análises.

302 Como esperado para microssatélites, a análise AMOVA mostrou que aproximadamente 90% da  
303 variabilidade é intrapopulacional, mas a diferenciação de ~10% entre as áreas é significativa para ambas  
304 as estatísticas (Tabela 2). Os índices diferenciação par a par,  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  entre as quatro áreas são  
305 moderados, mas todas são significativos ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5).

306 A análise com o Structure sugere que a estruturação genética com maior verossimilhança é a que  
307 apresenta quatro grupos genéticos (Figura 1 – Informações de Suporte), que correspondem em geral às  
308 áreas geográficas utilizadas aqui (Figura 3), com exceção dos indivíduos do RS. A composição das  
309 amostras do RS é complexa, alguns indivíduos dessa área apresentam um alto nível de atribuição a um  
310 novo grupo (representado em amarelo na Figura 3), outros são muito similares aos indivíduos da BC/BS  
311 (verde), ainda há dois indivíduos mais relacionados à população do Nordeste e, por fim, alguns  
312 apresentam uma mistura de componentes. Ressalta-se que dez dos treze indivíduos identificados  
313 morfologicamente como *T. gephyreus* (retângulo tracejado, Figura 3) apresentam uma alta proporção do  
314 componente amarelo (de agora em diante denominado componente *gephyreus*). Por outro lado, indivíduos  
315 identificados morfologicamente como *T. truncatus* apresentam uma maior diversidade de composição  
316 genética, alguns mais similares aos indivíduos do Nordeste ou BC/BS, mas dois desses apresentam uma  
317 presença considerável do componente *gephyreus*. Três dos cinco indivíduos do RS sem identificação  
318 morfológica também apresentam uma alta proporção do componente *gephyreus*, e interessantemente,  
319 eles são os únicos outros indivíduos que possuem haplótipos (DNAMt) do clado *gephyreus* (Figura 2). Na  
320 análise exploratória, com  $K=2$ , os dois grupos genéticos formados são claramente (embora não  
321 perfeitamente) associados com os morfotipos *gephyreus* e *truncatus* e não com a área geográfica ou com a

322 distância geográfica, o que sugere uma diferenciação genética significativa entre estes dois tipos de  
323 morfologias.

324 A árvore *neighbor-joining* que representa as distâncias genéticas entre os indivíduos (Figura 4)  
325 se assemelha aos resultados do Structure, onde os indivíduos de uma mesma área geográfica tendem a se  
326 agrupar. Novamente, todos os indivíduos (exceto três) que possuem o componente *gephyreus* (Figura 3)  
327 estão em um ramo muito distinto, embora neste ramo estejam alguns indivíduos não identificados  
328 morfologicamente (do RS e de outras regiões). É importante notar que: os três indivíduos não  
329 identificados morfologicamente do RS, mas com DNAm de do clado *gephyreus*, também estão agrupados  
330 nesse ramo e, que nenhum indivíduo com morfologia *T. truncatus* está neste grupo.

331 Os maiores valores de migração encontrados foram da área do RS para a BC/BS ( $M=0,069$ ,  
332 Tabela 6) e da população do ASPSP para o Nordeste ( $M=0,063$ , Tabela 6). Enquanto as menores  
333 migrações detectadas foram do RS e do BC/BS para o ASPSP ( $M=0,012$  e  $0,015$  respectivamente),  
334 bastante correlacionadas com a distância geográfica entre elas. Curiosamente, os maiores valores de  
335 heterozigosidade observada foram encontrados no ASPSP, sugerindo uma provável imigração de  
336 indivíduos de localidades não avaliadas.

337

### 338 **Discussão**

339 Esse estudo é o primeiro a avaliar a diversidade e diferenciação genética das populações de *T.*  
340 *truncatus* desde o Norte (e Guiana Francesa) até o sul do Brasil, incluindo as águas adjacentes ao  
341 Arquipélago de São Pedro e São Paulo. A diversidade genética mitocondrial encontrada para a espécie na  
342 região como um todo foi alta em comparação com outras populações da espécie e outras espécies (Tabela  
343 3 – Informações de Suporte). Contudo, se observarmos os valores para as áreas isoladamente, veremos  
344 que ASPSP apresentou a menor diversidade nucleotídica da espécie (0,067%), o que é esperado por ser,  
345 entre as estudadas, a de menor tamanho populacional e a de distribuição mais restrita. Em estudos  
346 recentes Fruet *et al.* (2014) e Costa *et al.* (2015) do sul do Brasil, Uruguai e Argentina, encontraram  
347 níveis baixos ou moderados de variabilidade genética. A existência de pequenas comunidades distintas  
348 com alto grau de residência e certa restrição ao fluxo gênico entre elas foi sugerida por esses autores  
349 como causa provável para seus resultados.

350 Os resultados do presente estudo demonstraram haver significativa estruturação genética,  
351 principalmente nos marcadores nucleares, no golfinho-nariz-de-garrafa ao longo da costa brasileira. Dos  
352 quatro grupos genéticos principais, dois parecem representar basicamente populações geograficamente  
353 distintas, uma com os indivíduos do ASPSP (mais Guiana Francesa) e outra da região Nordeste do Brasil  
354 (NE, mas com talvez alguns representantes do RS). Já o grupo genético representado principalmente pelas  
355 amostras das Bacias de Campos e de Santos parece representar um grupo que se estende até o RS, onde é  
356 simpátrico com indivíduos provavelmente pertencentes à outra unidade biológica (morfotipo *gephyreus*,  
357 ver abaixo). Finalmente, a distribuição descontínua de parte da nossa amostragem pode ter aumentado, de  
358 modo não determinado, o grau da estruturação entre algumas áreas analisadas.

359 Nesse estudo, a maioria dos espécimes coletados foi oriunda de biópsias: 19 do Arquipélago São  
360 Pedro e São Paulo (sabidamente oceânicos – aproximadamente 1010km da costa e com profundidade  
361 entre 1000 e 2000m de profundidade), oito indivíduos do Nordeste (costeiros – 30-50m de profundidade)  
362 e 38 das Bacias de Campos e de Santos (costeiros – 30-50m de profundidade). Dessa forma, a forte  
363 diferenciação genética da população do Arquipélago em relação às demais áreas pode ser explicada  
364 devido ao fato dessa população ser reconhecidamente de habitat oceânico enquanto as outras amostras,  
365 em sua grande maioria, são provavelmente de indivíduos de habitats mais costeiros. Todavia, é  
366 importante destacar que estudos das Bacias do Pará/Maranhão até Santos revelaram a existência de  
367 indivíduos costeiros e oceânicos em todas as bacias (Ramos *et al.* 2010) também na Bacia de Campos e  
368 no litoral do Rio Grande do Sul, existem registros de avistagens (mas não amostradas) do golfinho-nariz-  
369 de-garrafa em regiões oceânicas (Siciliano *et al.* 2006, Ott *et al.* 2013). Porém, nossos resultados  
370 moleculares apontam para a existência de uma única população de *Tursiops* sabidamente *offshore* (dados  
371 geográficos e genéticos), a de ASPSP, contudo não há formação de grupos separados dos haplótipos  
372 correspondentes aos habitats como ocorre no estudo de Louis *et al.* (2014), sugerindo uma diferenciação  
373 não tão antiga.

374 Em contrapartida, a estruturação entre as populações do Nordeste e Bacias de Campos e de  
375 Santos, parece não estar relacionada a sua distância da costa, pois a grande maioria das amostras destas  
376 duas populações é, provavelmente, de indivíduos de hábitos costeiros. Contudo, é importante mencionar  
377 que o local de coleta, mesmo nas biópsias, pode não representar exatamente onde os espécimes vivem a  
378 maior parte do tempo de sua vida. Diversos estudos têm demonstrado que carcaças de mamíferos

379 marinhos podem derivar por longas distâncias antes de encalhar nas praias (*e.g.* Peltier *et al.* 2012, Prado  
380 *et al.* 2013). A explicação mais provável para a diferenciação entre as populações do Nordeste e Bacias de  
381 Campos e de Santos é a estrutura social associada à separação latitudinal destas populações pela zona de  
382 ressurgência presente nas Bacias de Campos e de Santos. Estudos tem mostrado que além da filopatria ao  
383 sítio de nascimento, os grupos de golfinhos podem apresentar características próprias influenciadas por  
384 fatores como distribuição das presas (Heithaus and Dill 2002), estrutura do habitat (Lusseau *et al.* 2003),  
385 sucesso reprodutivo (Möller and Harcourt 2008), transmissão cultural (Krützen *et al.* 2005) e competição  
386 entre machos (Connor *et al.* 1999). Relativo à Bacia de Campos essa região apresenta peculiaridades em  
387 seu habitat como a mistura de massas de água Tropical (temperatura mediana e salinidade alta) e costeira  
388 (temperatura alta e baixa salinidade) (Siciliano *et al.* 2006). Ainda nessa Bacia há o evento de  
389 ressurgência que ocorre durante o verão entre as latitudes 21° e 23°S controlado pelos ventos nordeste e  
390 leste quando a água Central do Atlântico Sul (baixa temperatura e menor salinidade) penetra na  
391 plataforma interna causando diminuição da temperatura oceânica (Siciliano *et al.* 2006). Essas condições  
392 podem estar levando a uma diferença regional na sua produtividade, refletida na abundância e distribuição  
393 de presas, e conseqüentemente, na estruturação da população da Bacia de Campos em relação a do  
394 Nordeste. Essas possíveis diferenças genéticas atribuídas a diferenças entre os habitats e relacionados às  
395 zonas com produtividade diferenciada já foram mencionadas anteriormente para a espécie por Natoli *et*  
396 *al.* (2005) para a região do Mar Negro até o nordeste do Atlântico e Escócia, onde os autores sugeriram  
397 que as diferentes características hidrográficas como temperatura e salinidade da água de duas bacias  
398 estudadas (leste e oeste do Mar Mediterrâneo) refletiram em habitats distintos com diferenças na  
399 distribuição e abundância de presas, o que poderia ter moldado a estruturação das populações analisadas  
400 de *T. truncatus*.

401 O padrão complexo apresentado no Structure entre as amostras do RS tem várias explicações  
402 possíveis. A presença de indivíduos com maior probabilidade de pertencerem às populações mais ao norte  
403 (BC/BS e Nordeste) ou uma mistura destas sugere algum fluxo gênico entre estas três áreas. Esta hipótese  
404 é consistente com os resultados das distâncias  $F_{ST}$  tanto no DNAm quanto nos microssatélites (Tabelas 3  
405 e 5), no qual os valores são, de forma geral, baixos entre RS-BC/BS e RS-Nordeste, assim como com o  
406 fato de termos encontrado valores relativamente altos de migração entre estas três áreas (Tabela 6).

407 Porém, a conexão migratória entre as áreas do RS e do Nordeste, devido à distância geográfica, é menos  
408 provável, sendo talvez necessário encontrar outra explicação para estes resultados.

409 A presença de vários indivíduos no RS associados a um componente genético único, bastante  
410 divergente (o componente *gephyreus*) do restante dos outros indivíduos, poderia ser explicada por duas  
411 hipóteses, não excludentes: existência de duas populações distintas (evidenciadas na análise de K=2 do  
412 Structure, Figura 3) na costa do Rio Grande do Sul, associadas à distância da costa (*inshore* e *offshore*)  
413 como sugerido por dados recentes de avistagens (*e.g.* Ott *et al.* 2013) ou ainda a simpatria entre  
414 populações geográficas (e morfológicamente) distintas, como sugerido pelos estudos morfológicos não  
415 publicados (*e.g.* Wickert 2013).

416 Quanto à primeira hipótese, ela é difícil de ser testada atualmente, pois como as amostras do RS  
417 são de animais encalhados, não é possível determinar o habitat utilizado por esses espécimes em vida.  
418 Contudo, sabe-se que um dos indivíduos (GEMARS1259) associado ao componente *gephyreus* (e  
419 identificado morfológicamente como *T. gephyreus* e com DNAm<sub>t</sub> do clado *gephyreus*) foi identificado  
420 em vida por meio de foto-identificação como sendo reconhecidamente um indivíduo com alto grau de  
421 residência no estuário do Rio Tramandaí, na zona costeira do Rio Grande do Sul (Van Bresse *et al.*  
422 2007). Observa-se que na análise de K=2, os indivíduos com o componente não *gephyreus* estão no  
423 mesmo grupo dos indivíduos do ASPSP, a única população claramente oceânica. Porém, o fato das  
424 demais áreas amostradas também apresentarem o mesmo componente do ASPSP (em K=2) sugere que o  
425 componente *gephyreus* se diferencia dos demais por outros fatores que não o de habitat costeiro ou  
426 oceânico. Em uma comparação mais ampla, o estudo de Louis *et al.* (2014) no Atlântico Norte mostraram  
427 uma clara separação nas sequências de DNAm<sub>t</sub> entre populações pelágicas (*offshore*) e costeiras  
428 (*inshore*). Quando comparamos estas sequências com as nossas (resultados não incluídos aqui), os nossos  
429 haplótipos do clado *truncatus* (ou seja, não *gephyreus*) se agrupam, incluindo algumas identidades, com  
430 as sequências pelágicas deles, enquanto que os haplótipos do clado *gephyreus*, embora mais distante e  
431 sem nenhuma identidade, são um pouco mais próximos dos haplótipos do habitat costeiro. Esses  
432 resultados indicam ser difícil relacionar diretamente a diferenciação significativa entre as populações  
433 estudadas com o habitat (costeiro e oceânico). É importante notar que, assim como em Louis *et al.* (2014),  
434 nenhuma das nossas sequências se agrupou com o clado de indivíduos da região costeira do Noroeste do  
435 Atlântico, o que corrobora a grande distinção deste último grupo dentro de *T. truncatus* (Moura *et al.*



436 2013). Portanto, no momento não existem informações suficientes para testar a hipótese de grupos  
437 genéticos *inshore* e *offshore* de *Tursiops* no Rio Grande do Sul.

438 Por outro lado, em relação à hipótese de existir unidades morfológicas distintas na região, este é  
439 o primeiro estudo genético com indivíduos também analisados morfológicamente, permitindo o teste da  
440 mesma. Nós mostramos que existe uma associação completa entre os indivíduos com morfologia *T.*  
441 *gephyreus* e um clado mitocondrial exclusivo e divergente, assim como uma grande associação destes  
442 indivíduos com um componente genético biparental também bastante distinto (o componente *gephyreus*).  
443 Portanto, estes resultados sugerem a existência de uma unidade biológica real, e diferente do táxon *T.*  
444 *truncatus* canônico, pelo menos na região norte da costa do RS e que está associado à proposta do táxon  
445 *T. gephyreus* (Barreto 2000, Wickert 2013). Porém, a existência de três indivíduos com morfologia e  
446 DNAm associadas à *T. gephyreus* mas com baixa proporção do componente *gephyreus* nos marcadores  
447 nucleares, assim como dois indivíduos com morfologia e haplótipos associados a *T. truncatus*, mas com  
448 uma proporção relativamente alta do componente *gephyreus* nos marcadores nucleares, sugerem a  
449 existência de algum fluxo gênico entre estas unidades biológicas, possivelmente mediada pelos machos.

450 Apesar das sequências do estudo de Fruet *et al.* (2014) não estarem disponíveis e que  
451 informações morfológicas não tenham sido analisadas pelos autores, é possível comparar parte dos seus  
452 resultados com os nossos devido ao fato de duas sequências serem comuns a ambos. Eles também  
453 encontraram dois grupos distintos de haplótipos na rede (ver Figura 5 de Fruet *et al.* 2014), separados por  
454 quatro substituições, que agora podemos mostrar que correspondem aos clados *gephyreus* e *truncatus*  
455 descritos aqui. O primeiro pode ser identificado pelo haplótipo encontrado nas populações de Laguna  
456 (SC) e o segundo pelo haplótipo encontrado na população da Bahía San Antonio na Argentina. Além  
457 disso, no estudo ainda não publicado de Barreto (2000), parte da região controle do DNAm de 17  
458 indivíduos (nenhum analisado aqui) foi sequenciada, incluindo indivíduos das duas formas morfológicas,  
459 o autor também encontrou um clado completamente associado com a morfologia *gephyreus*, composto de  
460 indivíduos encontrados no RS, exceto um proveniente da Argentina. Por conseguinte, a existência de pelo  
461 menos uma linhagem genética matrilinear separada associada a uma morfologia divergente no RS parece  
462 ser um resultado bastante consistente.

463 No entanto, dois pontos do estudo de Fruet *et al.* (2014) sugerem que o cenário pode ser mais  
464 complexo do que os resultados já expostos indicam. Em primeiro lugar, a hipótese sugerida por estudos

465 morfológicos, de uma distribuição norte-sul das formas *truncatus* e *gephyreus*, respectivamente, não é  
466 consistente com a presença em todos os indivíduos da população mais ao sul (Bahía San Antonio), de um  
467 único haplótipo aqui identificado como do grupo *truncatus* (H05 na sua Figura 5). Finalmente, os  
468 resultados desses autores na análise de estrutura genética com os dados de microssatélites (Figura 3 de  
469 Fruet *et al.* 2014) não parecem corroborar nossos resultados da existência de um componente genético  
470 *gephyreus* muito distinto. A única área de amostragem em comum entre os dois estudos é a NPL deles e  
471 nossa área do RS, e não há nenhuma evidência em seus resultados de dois componentes distintos na  
472 região, tão claramente encontrados aqui. Além disso, diferentemente do que foi observado como um  
473 padrão em nosso estudo, no trabalho de Fruet *et al.* (2014) não existe uma associação clara entre a  
474 presença de haplótipos de DNAm dos dois grupos, com os dois componentes genéticos nucleares  
475 distintos. Deve-se notar que Fruet *et al.* (2014) utilizaram um número muito maior de *loci* do que o  
476 utilizado aqui.

477 Portanto, combinando todas as informações disponíveis (especialmente neste estudo e de Fruet *et al.*  
478 *al.* 2014), concluímos que a espécie do golfinho-nariz-de-garrafa do sudoeste do Oceano Atlântico parece  
479 ser composta por, pelo menos, quatro unidades de manejo distintas geograficamente bem estruturadas: i)  
480 Arquipélago de São Pedro e São Paulo; ii) Nordeste do Brasil; iii) Bacias de Campos e de Santos; e iv)  
481 Bahía San Antonio, Argentina. Apesar dos indivíduos do sul do Brasil e Uruguai compreenderem uma  
482 única unidade em Fruet *et al.* (2014) (as quais foram chamadas de ESU – Unidades Evolutivamente  
483 Significativas), nós sugerimos que a unidade BC/BS provavelmente se estende para o sul, até pelo menos  
484 o RS, talvez até o Uruguai. Nessa região, há outra unidade (ainda que parcialmente simpátrica com aquela  
485 mais ao norte) que compreende os indivíduos com o componente genético e morfológico *gephyreus*.

486 Por fim, embora os resultados apontem claramente para a existência de uma entidade biológica  
487 distinta, que não é o *T. truncatus* canônico, no sudoeste do Oceano Atlântico, alguns aspectos desse  
488 quadro ainda não estão claros o suficiente para que se proponha qualquer decisão taxonômica formal  
489 sobre o assunto. Para resolver este impasse, será necessário um estudo que abranja a amostragem de toda  
490 a distribuição, usando tanto DNAm quanto um grande número de marcadores biparentais (microssatélites  
491 ou outros marcadores) e, tanto quanto possível incluir a descrição morfológica dos indivíduos, bem como  
492 amostras de biópsia de espécimes oceânicos (*offshore*).

493

494 **Agradecimentos**

495           Nossos agradecimentos aos grupos que coletaram e cederam as amostras para esse estudo:  
496 Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos, Simon-Bohuet Benoit do Centre  
497 d'Etudes Biologiques de Chizé/ Centre national de la recherche scientifique, ECOMAR - Projeto  
498 Pequenos Cetáceos, Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos da Amazônia, Grupo de Estudos de  
499 Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul e Grupo de Estudos de Mamíferos Marinhos da Região dos  
500 Lagos. À Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (SECIRM) pelo apoio no  
501 desenvolvimento do projeto junto ao Programa Arquipélago. À Gerência de Avaliação e Monitoramento  
502 Ambiental do CENPES/PETROBRAS (Projeto “Mamíferos e Quelônios Marinhos”). Ao Dr. Victor Hugo  
503 Valiati e ao Laboratório de Biologia Molecular da Universidade do Vale do Rio dos Sinos pelo auxílio no  
504 sequenciamento de duas amostras. Ao CNPq pelo financiamento dos projetos que permitiram as coletas  
505 no Rio Grande do Sul e Arquipélago de São Pedro e São Paulo (processos n°. 480037/2004-3,  
506 557176/2009, 572180/2008-0), e ao apoio financeiro a Lúcia D. Fraga na realização desse estudo  
507 (processo n° GM 130969/2014-1). Ao CNPq, Fapergs e Capes pelos recursos em projetos e bolsas (para  
508 SLB) ao longo dos anos de desenvolvimento deste estudo.  
509

510 **Literatura Citada**

- 511 Amos, W., and A. R. Hoelzel. 1991. Long-term preservation of whale skin for DNA analysis. Pages 99-  
512 103 in: A. R. Hoelzel and G. P. Donovan, eds. Genetic ecology of whales and dolphins.  
513 International Whaling Commission, Cambridge, UK.
- 514 Ansmann, I. C., G. J. Parra, J. M. Lanyon and J. M. Seddon. 2012. Fine-scale genetic population structure  
515 in a mobile marine mammal: inshore bottlenose dolphins in Moreton Bay, Australia. *Molecular*  
516 *Ecology* 21:4472-4485.
- 517 Baird, R. W., A. M. Gorgone, D. J. McSweeney, *et al.* 2009. Population structure of island-associated  
518 dolphins: Evidence from photo-identification of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)  
519 in the main Hawaiian Islands. *Marine Mammal Science* 25:251-274.
- 520 Bandelt, H. J., P. Forster and A. Rohl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific  
521 phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16:37-48.
- 522 Barreto, A. S. 2000. Variação craniana e genética de *Tursiops truncatus* (Delphinidae, Cetacea) na Costa  
523 Atlântica da América do Sul. PhD thesis. Universidade de Rio Grande, Rio Grande, RS.
- 524 Bilgmann, K., L. M. Möller, R. G. Harcourt, S. E. Gibbs and L. B. Beheregaray. 2007. Genetic  
525 differentiation in bottlenose dolphins from South Australia: association with local oceanography  
526 and coastal geography. *Marine Ecology Progress Series* 341:265-276.
- 527 Caballero, S., V. Islas-Villanueva, G. Tezanos-Pinto, S. Duchene, A. Delgado-Estrella, R. Sanchez-  
528 Okrucky and A. A. Mignucci-Giannoni. 2012. Phylogeography, genetic diversity and population  
529 structure of common bottlenose dolphins in the Wider Caribbean inferred from analyses of  
530 mitochondrial DNA control region sequences and microsatellite *loci*: conservation and  
531 management implications. *Animal Conservation* 15:95-112.
- 532 Cavalli-Sforza, L. L., and A. W. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis. Models and estimation  
533 procedures. *American Journal of Human Genetics* 19:233-257.
- 534 Committee on Taxonomy. 2015. List of marine mammal species and subspecies. Society for Marine  
535 Mammalogy, [www.marinemammalscience.org](http://www.marinemammalscience.org). Accessed on: 07 January 2016.
- 536 Costa, A. P. B., P. Fruet, F. G. Daura-Jorge, P. C. Simões-Lopes, P. Ott, V. H. Valiati and L. R. Oliveira.  
537 2015. Bottlenose dolphin communities from the southern Brazilian coast: do they exchange genes  
538 or are they just neighbors? *Marine and Freshwater Research* <http://dx.doi.org/10.1071/MF14007>.

539 Connor, R. C., R. M. Heithaus and L. M. Barre. 1999. Superalliance of bottlenose dolphins. Nature  
540 371:571-572.

541 Cunha, H. A., B. V. Medeiros, L. A. Barbosa, *et al.* 2014. Population Structure of the Endangered  
542 Franciscana Dolphin (*Pontoporia blainvillei*): Reassessing Management Units. PLOS ONE 9:  
543 e85633.

544 D'Aoust-Messier, A. -M., and D. Lesbarrères. 2015. A peripheral view: post-glacial history and genetic  
545 diversity of an amphibian in northern landscapes. Journal of Biogeography 42:2078-2088.

546 Daura-Jorge, F. G., and P. C. Simões-Lopes. 2011. Lobomycosis-like disease in wild bottlenose dolphins  
547 *Tursiops truncatus* of Laguna, southern Brazil: monitoring of a progressive case. Diseases of  
548 Aquatic Organisms 93:163-170.

549 Duffield, D. A., S. H. Ridgway and L. H. Cornell. 1983. Hematology distinguishes coastal and offshore  
550 forms of dolphins (*Tursiops*). Canadian Journal of Zoology 61:930-933.

551 Earl, D. A., and B. M. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for  
552 visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics  
553 Resources 4:359-361.

554 Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the  
555 software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology 14:2611-2620.

556 Excoffier, L., and H. E. L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform  
557 population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10:564-  
558 567.

559 Félix, F., S. Caballero and C. Olavarría. 2012. Genetic diversity and population structure of humpback  
560 whales (*Megaptera novaeangliae*) from Ecuador based on mitochondrial DNA analyses. Journal  
561 of Cetacean Research and Management 12:71-77.

562 Fruet, P. F., P. G. Kinas, K. G. da Silva, *et al.* 2012. Temporal trends in mortality and effects of by-catch  
563 on common bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in southern Brazil. Journal of the Marine  
564 Biological Association of the United Kingdom 92:1865-1876.

565 Fruet, P. F., E. R. Secchi, F. Daura-Jorge, *et al.* 2014. Remarkably low genetic diversity and strong  
566 population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of  
567 the Southwestern Atlantic Ocean. Conservation Genetics 15:879-895.

568 Fu, Y. X. 1996. New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* 143:557-  
569 570.

570 Gondim, M. A., K. C. A. Pansard, E. Jr. Santos, *et al.* 2013. 15 anos de atendimento a encalhes no litoral  
571 do Rio Grande do Norte. Pages 46-47 in 'Proceedings of the VII Encontro Nacional sobre  
572 Conservação e Pesquisa de Mamíferos Aquáticos', Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São  
573 Leopoldo, RS.

574 Guo, W. S., and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for  
575 multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.

576 Heithaus, M. R., and L. M. Dill. 2002. Food availability and tiger shark predation risk influences  
577 bottlenose dolphin habitat use. *Ecology* 83:480-491.

578 Hersh, S. L. and D. A. Duffield. 1990. Distinction between northwest Atlantic offshore and coastal  
579 bottlenose dolphins based on hemoglobin profile and morphometry. Pages 129-139 in S.  
580 Leatherwood and R. R. Reeves, eds. *The bottlenose dolphin*. Academic Press, San Diego, CA.

581 Hoelzel, A. R., C. W. Potter and P. B. Best. 1998. Genetic differentiation between parapatric 'nearshore'  
582 and 'off-shore' populations of the bottlenose dolphin. *Proceedings of the Royal Society of London*  
583 *B* 265:1177-1183.

584 ICMBio. 2011. Golfinho-nariz-de-garrafa. Pages 27-29 in C. C. Rocha-Campos, I. G. Câmara and D. J.  
585 Pretto, orgs. *Plano de Ação para a Conservação dos mamíferos aquáticos – Pequenos cetáceos*.  
586 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília, DF. Available in  
587 [http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-peqs-](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-peqs-cetaceos/pan_pequenoscetaceos_web.pdf)  
588 [cetaceos/pan\\_pequenoscetaceos\\_web.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-peqs-cetaceos/pan_pequenoscetaceos_web.pdf)

589 Jakobsson, M., and N. A. Rosenberg. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for  
590 dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*  
591 23:1801-1806.

592 Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Paabo, F. X. Villablanca and A. C. Wilson.  
593 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with  
594 conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*  
595 *America* 86:6196-6200.

596 Krützen, M., J. Mann, M. R. Heithaus, R. C. Connor, L. Bejder and W. B. Sherwin. 2005. Cultural  
597 transmission of tool use in bottlenose dolphins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*  
598 of the United States of America 102:8939-8943.

599 Lahille, F. 1908. Nota sobre un delfín (*Tursiops geophysreus* Lah). *Anales del Museo Nacional de Buenos*  
600 Aires 9:347-365.

601 Langella, O. 1999. Populations 1.2.32. Available in <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>

602 Librado. P., and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA  
603 polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.

604 Louis, M., A. Viricel, T. Lucas, *et al.* 2014. Habitat-driven population structure of bottlenose dolphins,  
605 *Tursiops truncatus*, in the North-East Atlantic. *Molecular Ecology* 23:857-874.

606 Lusseau, D., K. Schneider, O. J. Boisseau, P. Haase, E. Sloaten and S. M. Dawson. 2003. The bottlenose  
607 dolphin community of Doubtful Sound features a large proportion of long-lasting associations -  
608 Can geographic isolation explain this unique trait? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 54:396-  
609 405.

610 Manaster, C. J. 2002. Allelogram: a program for normalizing and binning microsatellite genotypes.  
611 Available in <http://code.google.com/p/allelogram/>

612 Martien, K. K., R. W. Baird, N. M. Hedrick, *et al.* 2011. Population structure of island-associated  
613 dolphins: Evidence from mitochondrial and microsatellite markers for common bottlenose  
614 dolphins (*Tursiops truncatus*) around the main Hawaiian Islands. *Marine Mammal Science*  
615 28:208-232.

616 Mead, J. G., and C. W. Potter. 1995. Recognizing two populations for the bottlenose dolphin (*Tursiops*  
617 *truncatus*) off the Atlantic coast of North America: morphologic and ecologic considerations.  
618 *International Biological Research Institute Reports* 5:31-43.

619 Mirimin, L., R. Miller, E. Dillane, S. D. Berrow, S. Ingram, T. F. Cross and E. Rogan. 2011. Fine-scale  
620 population genetic structuring of bottlenose dolphins in Irish coastal waters. *Animal Conservation*  
621 14:342-353.

622 Möller, L. M., and A. H. Harcourt. 2008. Shared reproductive state enhances female associations in  
623 dolphins. *Research Letters in Ecology* 1:1-5.

624 Moura, A. E., S. C. Nielsen, J. T. Vilstrup, *et al.* 2013. Recent diversification of a marine genus (*Tursiops*  
625 spp.) tracks habitat preference and environmental change. *Systematic Biology* 62:865-877.

626 Natoli, A., V. M. Peddemors and A. R. Hoelzel. 2004. Population structure and speciation in the genus  
627 *Tursiops* based on microsatellite and mitochondrial DNA analyses. *Journal of Evolutionary*  
628 *Biology* 17:363-375.

629 Natoli, A., A. Birkun, A. Aguilar, A. Lopez and A. R. Hoelzel. 2005. Habitat structure and the dispersal  
630 of male and female bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Proceedings of the Royal Society of*  
631 *London B* 272:1217-1226.

632 Natoli, A., V. M. Peddemors and A. R. Hoelzel. 2008. Population structure of bottlenose dolphins  
633 (*Tursiops aduncus*) impacted by bycatch along the east coast of South Africa. *Conservation*  
634 *Genetics* 9:627-636.

635 Oosterhout, C. V., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills and P. Shipley. 2004. Micro-checker: software for  
636 identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*  
637 4:535-538.

638 Ott, P. H. 2002. Diversidade genética e estrutura populacional de duas espécies de cetáceos do Atlântico  
639 Sul Ocidental: *Pontoporia blainvillei* e *Eubalaena australis*. PhD thesis. Universidade Federal do  
640 Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

641 Ott, P. H., M. Tavares, I. B. Moreno, L. R. Oliveira and D. Danilewicz. 2009. Os cetáceos do  
642 Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Pages 283-300 *in* L. V. Mohr, J. W. A. Castro, P. M. S.  
643 Costa and R. J. V. Alves, eds. *Ilhas oceânicas brasileiras: da pesquisa ao manejo* (Volume 2).  
644 Ministério do Meio Ambiente, Brasília, DF.

645 Ott, P. H., M. Tavares, E. R. Secchi and J. C. Di Tullio. 2013. Cetacea. Pages 457-550 *in* M. M. Weber,  
646 C. Roman and N. C. Cáceres, org. *Mamíferos do Rio Grande do Sul* 1 ed. UFSM, Santa Maria,  
647 RS.

648 Ott, P. H., A. S. Barreto, S. Siciliano, *et al.* In press. Report of the working group on taxomomy and stock  
649 identity of bottlenose dolphins in the Southwestern Atlantic Ocean. *Latin American Journal of*  
650 *Aquatic Mammals*.

651 Patenaude, N. J., V. A. Portway, C. M. Schaeff, *et al.* 2007. Mitochondrial DNA diversity and population  
652 structure among southern right whales (*Eubalaena australis*). *Journal of Heredity* 98:147-57.



653 Parsons, K. M., L. R. Noble, R. J. Reid and P. M. Thompson. 2002. Mitochondrial genetic diversity and  
654 population structuring of UK bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): is the Scotland population  
655 demographically and geographically isolated? *Biological Conservation* 108:175-182.

656 Parsons, K. M., J. W. Durban, D. E. Claridge, D. L. Herzing, K. C. Balcomb and L. R. Noble. 2006.  
657 Population genetic structure of coastal bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Northern  
658 Bahamas. *Marine Mammal Science*. 22:276-298.

659 Peltier, H., W. Dabin, P. Daniel, O. Van Canneyt, G. Doremus, M. Huon and V. Ridoux. 2012. The  
660 significance of stranding data as indicators of cetacean populations at sea: Modelling the drift of  
661 cetacean carcasses. *Ecological Indicators* 18:278-290.

662 Pinedo, M. C., F. C. W. Rosas and M. Marmontel. 1992. Cetáceos e Pinípedes do Brasil: uma revisão dos  
663 registros e guia para identificação das espécies. United Nations Environment Programme  
664 (UNEP)/FUA, Manaus, AM.

665 Prado, J. H. F., E. R. Secchi and P. G. Kinas. 2013. Mark-recapture of the endangered franciscana dolphin  
666 (*Pontoporia blainvillei*) killed in gillnet fisheries to estimate past bycatch from time series of  
667 stranded carcasses in southern Brazil. *Ecological Indicators* 32:35-41.

668 Pritchard, J. K., M. Stephens and P. J. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus  
669 genotype data. *Genetics* 155:945-959.

670 Quérrouil, S., M. A. Silva, L. Freitas, *et al.* 2007. High gene flow in oceanic bottlenose dolphins (*Tursiops*  
671 *truncatus*) of the North Atlantic. *Conservation Genetics* 8:1405-1419.

672 Quintela, M., H. J. Skaug, N. Øien, *et al.* 2014. Investigating Population Genetic Structure in a Highly  
673 Mobile Marine Organism: The Minke Whale *Balaenoptera acutorostrata acutorostrata* in the  
674 North East Atlantic. *PLOS ONE* 9: e108640.

675 Rambaut, A., and A. J. Drummond. 2007. Tracer v1.4. Available in <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.

676 Ramos, R. M. A., S. Siciliano and R. Ribeiro. 2010 (orgs.). Monitoramento da biota marinha em navios  
677 de sismica: seis anos de pesquisa (2001-2007). Everest Tecnologia em Serviços, Vitória, ES.  
678 Available in [http://ramosetal2010.blogspot.com.br/2010/08/monitoramento-da-biota-marinha-](http://ramosetal2010.blogspot.com.br/2010/08/monitoramento-da-biota-marinha-em.html)  
679 [em.html](http://ramosetal2010.blogspot.com.br/2010/08/monitoramento-da-biota-marinha-em.html)

680 Reynolds, J. R. I., R. S. Wells and S. D. Eide. 2000. The bottlenose dolphin. *Biology and conservation*.  
681 University Press of Florida, Gainesville, FL.

- 682 Rooney, A. P., D. B. Merritt and J. N. Derr. 1999. Microsatellite diversity in captive bottlenose dolphins  
683 (*Tursiops truncatus*). *Journal of Heredity* 90:228-231.
- 684 Ross, G. J. B., and V. G. Cockcroft. 1990. Comments on Australian bottlenose dolphins and the  
685 Taxonomic Status of *Tursiops aduncus* (Ehrenberg, 1832). Pages 101-128 in S. Leatherwood and  
686 R. R. Reeves, eds. *The bottlenose dolphin*. Academic Press, San Diego, CA.
- 687 Rosel, P. E., A. E. Dizon and J. E. Heyning. 1994. Genetic analysis of sympatric morphotypes of common  
688 dolphins (genus *Delphinus*). *Marine Biology* 119:159-167.
- 689 Rosel, P. E., A. E. Dizon and M. G. Haygood. 1995. Variability of the mitochondrial control region in  
690 populations of the harbour porpoise, *Phocoena phocoena*, on interoceanic and regional scales.  
691 *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52:1210-1219.
- 692 Rosenberg, N. A. 2004. Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular*  
693 *Ecology Notes* 4:137-138.
- 694 Sambrook, J., E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring  
695 Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- 696 Sanino, P. G., V. K. Waerebeek, M. F. V. Bressemer and A. L. Pastene. 2005. A preliminar note on  
697 population structure in eastern South Pacific common bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*.  
698 *Journal of Cetacean Research and Management* 7:65-70.
- 699 Sellas, A. B., R. S. Wells and P. E. Rosel. 2005. Mitochondrial and nuclear DNA analyses reveal fine  
700 scale geographic structure in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Gulf of Mexico.  
701 *Conservation Genetics*. 6:715-728.
- 702 Segura, I., A. Rocha-Olivares, S. Flóres-Ramírez and L. Rojas-Bracho. 2006. Conservation implications  
703 of the genetic and ecological distinction of *Tursiops truncatus* ecotypes in the Gulf of California.  
704 *Biological Conservation* 133:336-346.
- 705 Shaw, C., P. Wilson and B. N. White. 2003. A reliable molecular method of gender determination for a  
706 wide range of mammals. *Journal of Mammalogy* 84:123-128.
- 707 Shinohara, M., X. Domingo-Roura and O. Takenaka. 1997. Microsatellite in the bottlenose dolphin  
708 *Tursiops truncatus*. *Molecular Ecology* 6:695-696.

709 Siciliano, S., I. B. Moreno, E. D. Silva and V. C. Alves. 2006. Baleias, botos e golfinhos na Bacia de  
710 Campos. Série Guias de Campo: Fauna Marinha da Bacia de Campos. Editora Fiocruz, Rio de  
711 Janeiro, RJ.

712 Simões-Lopes, P. C., and F. G. Daura-Jorge. 2008. Os Parceiros da Sobrevivência: A interação entre  
713 botos e pescadores no sul do Brasil. Insular, Florianópolis, SC.

714 Stockin, K. A., A. R. Amaral, J. Latimer and D. M. Lambert. 2014. Population genetic structure and  
715 taxonomy of the common dolphin (*Delphinus* sp.) at its southernmost range limit: New Zealand  
716 Waters. Marine Mammal Science 30:44-63.

717 Tajima, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. 1989.  
718 Genetics 123:585-595.

719 Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary  
720 Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution 30:2725-2729.

721 Tezanos-Pinto, G., C. S. Baker, K. Russell, *et al.* 2009. A worldwide perspective on the population  
722 structure and genetic diversity of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in New Zealand.  
723 Journal of Heredity 100:11-24.

724 Torres, L. G., P. E. Rosel, C. D'agrosa and A. J. Read. 2003. Improving management of overlapping  
725 bottlenose dolphin ecotypes through spatial analysis and genetics. Marine Mammal Science  
726 19:502-514.

727 Valsecchi, E., and B. Amos. 1996. Microsatellite markers for the study of cetacean populations.  
728 Molecular Ecology 5:151-156.

729 Van Bresselem, M. -F., K. V. Waerebeek, J. C. Reyes, *et al.* 2007. A preliminary overview of skin and  
730 skeletal diseases and traumata in small cetaceans from South American Waters. Latin American  
731 Journal of Aquatic Mammals 6:7-42.

732 Van Bresselem, M. -F., P. C. Simões-Lopes, F. Félix, *et al.* 2015. Epidemiology of lobomycosis-like  
733 disease in bottlenose dolphins *Tursiops* spp. from South America and southern Africa. Diseases of  
734 Aquatic Organisms 117:59-75.

735 Viaud-Martínez, K. A., R. L. J. Brownell, A. Komnenouc and A. J. Bohonaka. 2008. Genetic isolation  
736 and morphological divergence of black sea bottlenose dolphins. Biological Conservation  
737 141:1600-1611.

- 738 Walker, W. A. 1981. Geographical variation in morphology and biology of bottlenose dolphins (*Tursiops*)  
739 in the eastern North Pacific. Southwest Fisheries Science Center, National Marine Fisheries  
740 Service, La Jolla, CA.
- 741 Weir, B. S., and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure.  
742 Evolution 38:1358-1370.
- 743 Wells, R. S., and M. D. Scott. 1999. Bottlenose dolphin – *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). Pages  
744 137-182 in S. H. Ridgway and R. Harrison, eds. Handbook of Marine Mammals – vol. 6: The  
745 second book of dolphins and the porpoises. Academic Press, San Diego, CA.
- 746 Wickert, J. C. 2013. *Tursiops* no Oceano Atlântico Sul Ocidental: redescrição e revalidação de *Tursiops*  
747 *gephyreus* Lahille, 1908 (Cetartiodactyla: Delphinidae). MA thesis. Universidade Federal do Rio  
748 Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- 749 Wilson, G. A., and B. Rannala. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus  
750 genotypes. Genetics 163:1177-1191.
- 751

## Figuras

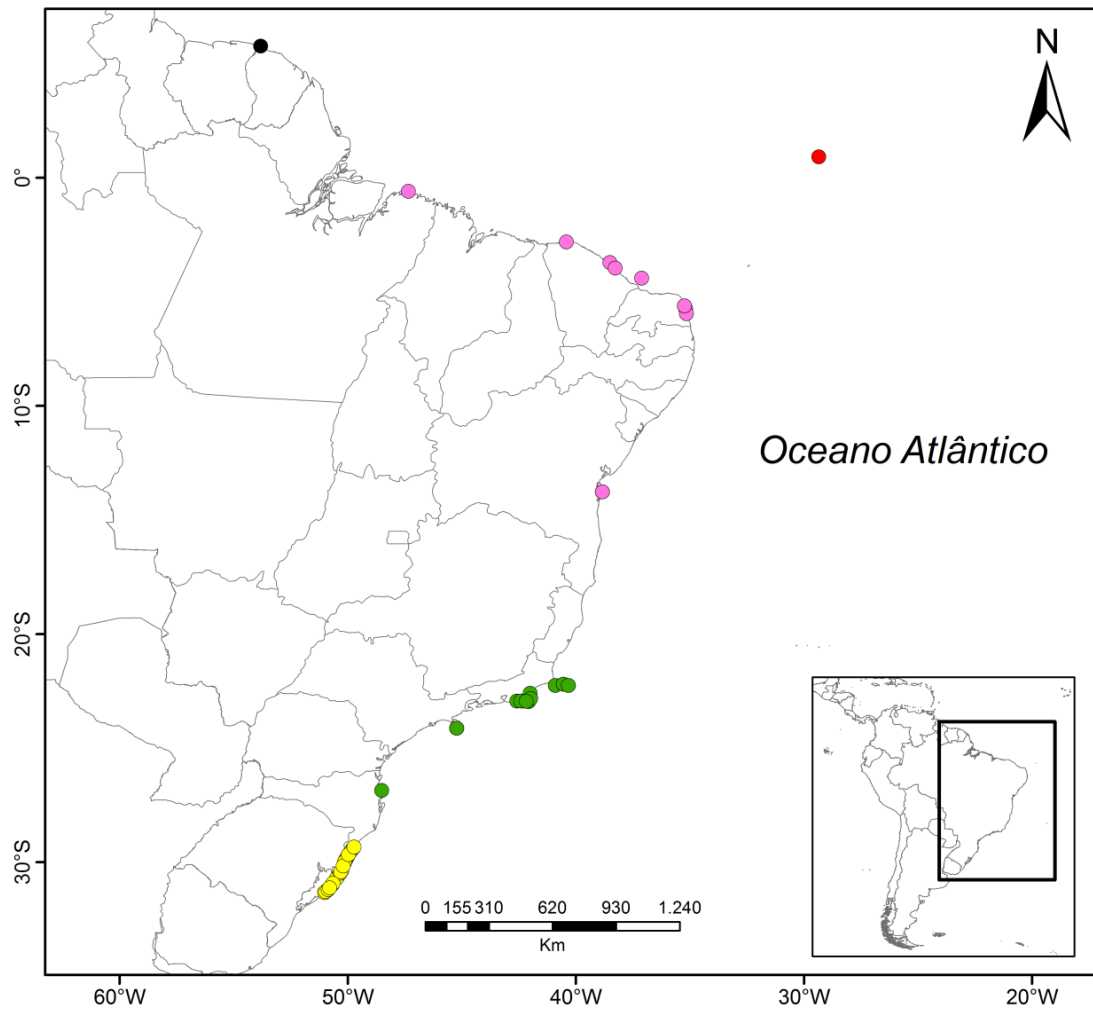


Figura 1. Mapa com os locais de coletas de amostras de tecido de *Tursiops truncatus* analisados neste estudo. As cores são referentes às localidades dos indivíduos, conforme a legenda: Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP), Guiana Francesa (GF), Nordeste (NE), Bacias de Campos e de Santos (BC/BS) e Rio Grande do Sul (RS).

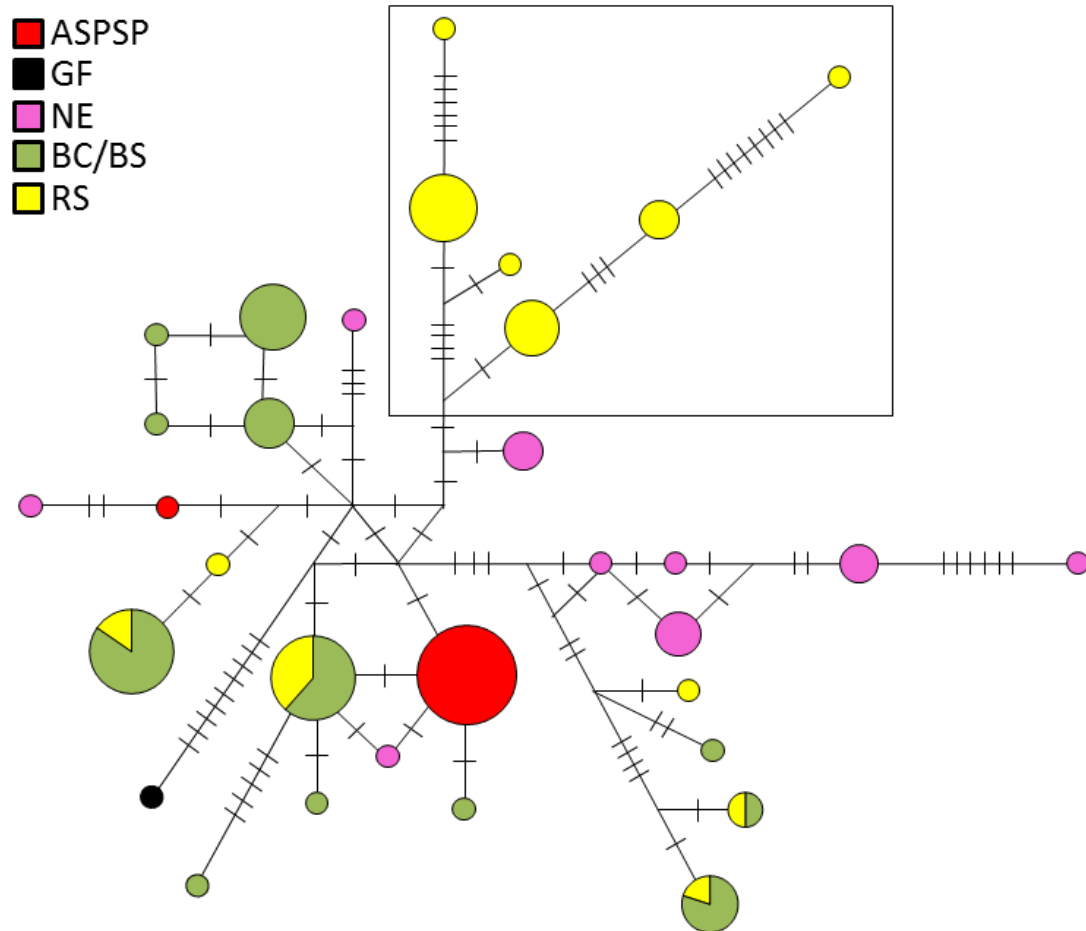


Figura 2. Rede de haplótipos das sequências da região controladora do DNAm<sub>t</sub>. Os círculos representam os diversos haplótipos e seus tamanhos são proporcionais à frequência de indivíduos que os apresentam. Os passos mutacionais são representados pela quantidade de barras nos ramos. O retângulo indica os haplótipos dos indivíduos identificados morfologicamente por Wickert (2013) como *Tursiops gephyreus* (referidos nesse estudo como clado *gephyreus*). As cores são referentes às localidades dos indivíduos, conforme a legenda, e as abreviações são conforme a Figura 1.

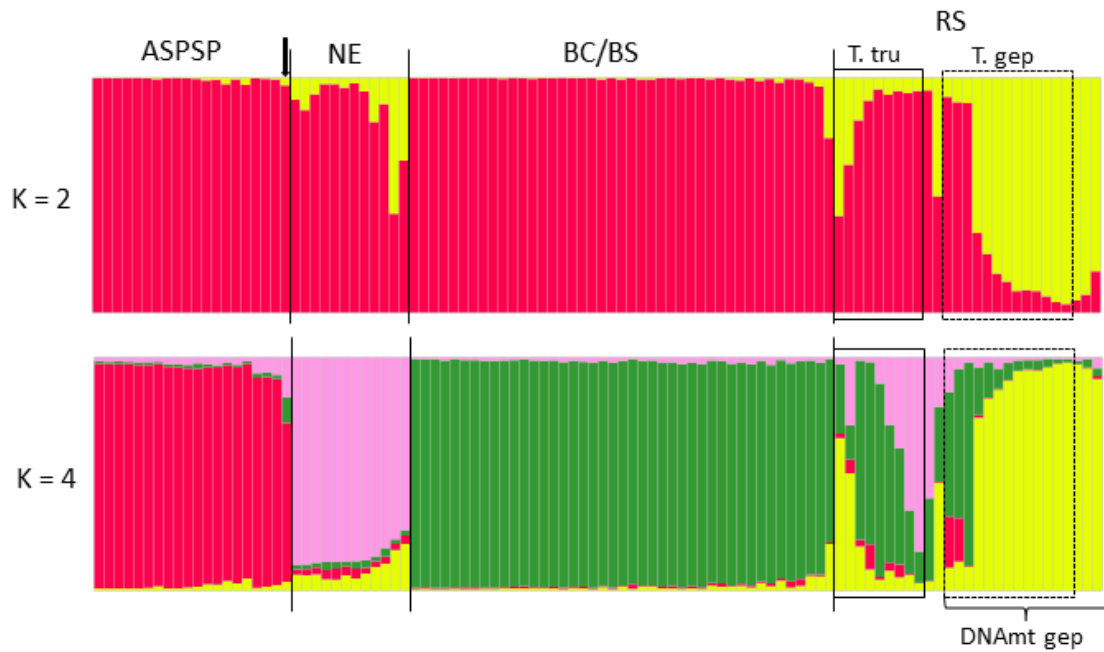


Figura 3. Probabilidade de atribuição aos grupos genéticos ( $K = 2$  e  $K = 4$ ) dos 102 indivíduos com dados de microssatélites determinada pelo Structure. As barras verticais indicam cada um dos indivíduos e o comprimento das barras é o coeficiente de atribuição a cada grupo genético (representado pelas cores). A flecha indica o indivíduo da Guiana Francesa, considerado como pertencente à população do Arquipélago de São Pedro e São Paulo. O retângulo em linha sólida representa os indivíduos identificados como *T. truncatus* (com legenda T.tru) e o retângulo tracejado identifica os indivíduos identificados como *T. gephyreus* (com legenda T.gep) no estudo morfológico de Wickert (2013), e a chave com a legenda indica os indivíduos com DNAmT pertencentes ao clado gephyreus (DNAmT gep). Abreviações conforme a Figura 1.

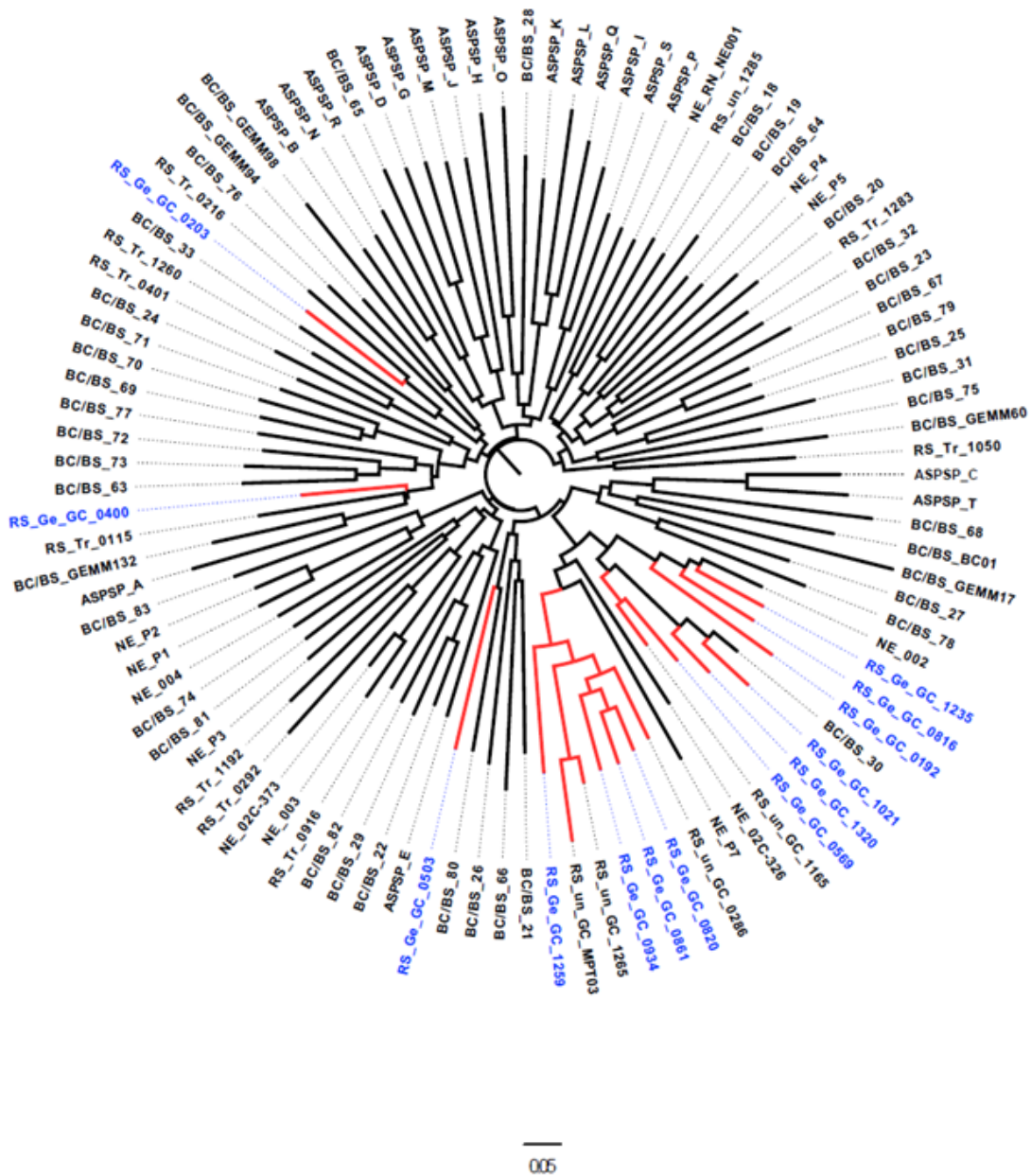


Figura 4. Árvore de *neighbor-joining* não enraizada representando as distâncias genéticas de Cavalli-Sforza e Edwards entre indivíduos baseadas nos dados de microssatélites. Identificados com a cor azul são os indivíduos com morfologia *T. gephyreus* e nos ramos vermelhos estão aqueles com os haplótipos (DNAm) do clado *gephyreus*. Nas amostras do RS, seguida da identificação da população a que pertencem estão a identificação morfológica dos indivíduos que compõe a análise (Ge = *T. gephyreus*, Tr = *T. truncatus*, Un = desconhecida) e os que pertencem ao clado *gephyreus* (DNAm) estão identificados ainda com as letra GC.



## Tabelas

Tabela 1. Estatísticas básicas da região controladora do DNAm. N = número de amostras, S = sítios variáveis, H = número de haplótipos, Hd = diversidade haplotípica,  $\pi$  = diversidade nucleotídica (%), SD, desvio padrão. \*  $P < 0,05$ .

População	N	S	H	Hd (SD)	$\pi$ % (SD)	Tajima's D (valor - p)	Fu's Fs (valor - p)
Arquipélago de São Pedro e São Paulo	19	2	2	0,105 (0,092)	0,067 (0,059)	-1,51* (0,04)	0,59 (0,41)
Nordeste	14	14	9	0,912 (0,059)	1,94 (0,302)	-0,23 (0,43)	-0,45 (0,40)
Bacia de Campos e Bacia de Santos	45	18	12	0,848 (0,028)	1,34 (0,174)	-0,42 (0,37)	-0,38 (0,48)
Rio Grande do Sul	30	20	12	0,862 (0,040)	1,948 (0,184)	-0,29 (0,43)	0,59 (0,63)
Total	109	30	32	0,855 (0,025)	1,56 (0,124)	-0,61 (0,32)	0,08 (0,48)

Tabela 2. Análise da variância molecular (AMOVA) baseada nos valores de fixação ( $F_{ST}$  e  $\Phi_{ST}$ ) para a região controladora do DNAm e para os sete *loci* de microssatélites ( $F_{ST}$  e  $R_{ST}$ ). Todos os valores obtidos foram significativos para  $P < 0,05$ .

Fonte de variação	DNAm		Microssatélites	
	$F_{ST}$	$\Phi_{ST}$	$F_{ST}$	$R_{ST}$
Entre as populações	26,82	28,08	9,47	12,41
Dentro das populações	73,18	71,92	90,53	87,59

Tabela 3. Análise pareada das estatísticas F da região controladora do DNAm. Diagonal superior  $\Phi_{ST}$  e diagonal inferior  $F_{ST}$ . Todos os valores são significativos para  $P < 0,05$ .

População	Arquipélago de São Pedro e São Paulo	Nordeste	Bacia de Campos e Bacia de Santos	Rio Grande do Sul
Arquipélago de São Pedro e São Paulo	-	0,548	0,152	0,370
Nordeste	0,529	-	0,323	0,260
Bacia de Campos e Bacia de Santos	0,444	0,120	-	0,222
Rio Grande do Sul	0,468	0,112	0,095	-

Tabela 4. Diversidade genética média com os dados de microssatélites. N = número de amostras, A = número de alelos, RA = riqueza de alelos, E = número de alelos exclusivos, Ho = heterozigosidade observada, He = heterozigosidade esperada.

População	N	A	RA	E	Ho	He (SD)
Arquipélago de São Pedro e São Paulo	19	6,86	6,04	1,14	0,63	0,76 (0,07)
Nordeste	12	5,43	5,36	0,28	0,58	0,65 (0,28)
Bacia de Campos e Bacia de Santos	43	9,43	6,52	1,57	0,51	0,72 (0,22)
Rio Grande do Sul	27	7,57	5,89	0,71	0,36	0,64 (0,23)
Total	101	12	6,885	3,71	0,524	0,760 (0,17)

Tabela 5. Análise pareada das estatísticas F para os dados de microssatélites. Diagonal superior  $R_{ST}$  e diagonal inferior  $F_{ST}$ . Todos os valores são significativos para  $P < 0,05$ .

População	Arquipélago de São Pedro e São Paulo	Nordeste	Bacia de Campos e Bacia de Santos	Rio Grande do Sul
Arquipélago de São Pedro e São Paulo	-	0,124	0,085	0,131
Nordeste	0,113	-	0,158	0,141
Bacia de Campos e Bacia de Santos	0,084	0,099	-	0,118
Rio Grande do Sul	0,126	0,107	0,077	-

Tabela 6. Razões de migração (média posterior) e respectivos valores de desvio padrão (entre parênteses) entre as áreas estimadas com o BayesAss.

De	Para			
	Arquipélago de São Pedro e São Paulo	Nordeste	Bacia de Campos e Bacia de Santos	Rio Grande do Sul
Arquipélago de São Pedro e São Paulo	-	0,063 (0,035)	0,024 (0,023)	0,026 (0,023)
Nordeste	0,022 (0,021)	-	0,040 (0,041)	0,057 (0,035)
Bacia de Campos e Bacia de Santos	0,015 (0,013)	0,020 (0,018)	-	0,032 (0,022)
Rio Grande do Sul	0,012 (0,012)	0,041 (0,026)	0,069 (0,033)	-

## Informações de Suporte

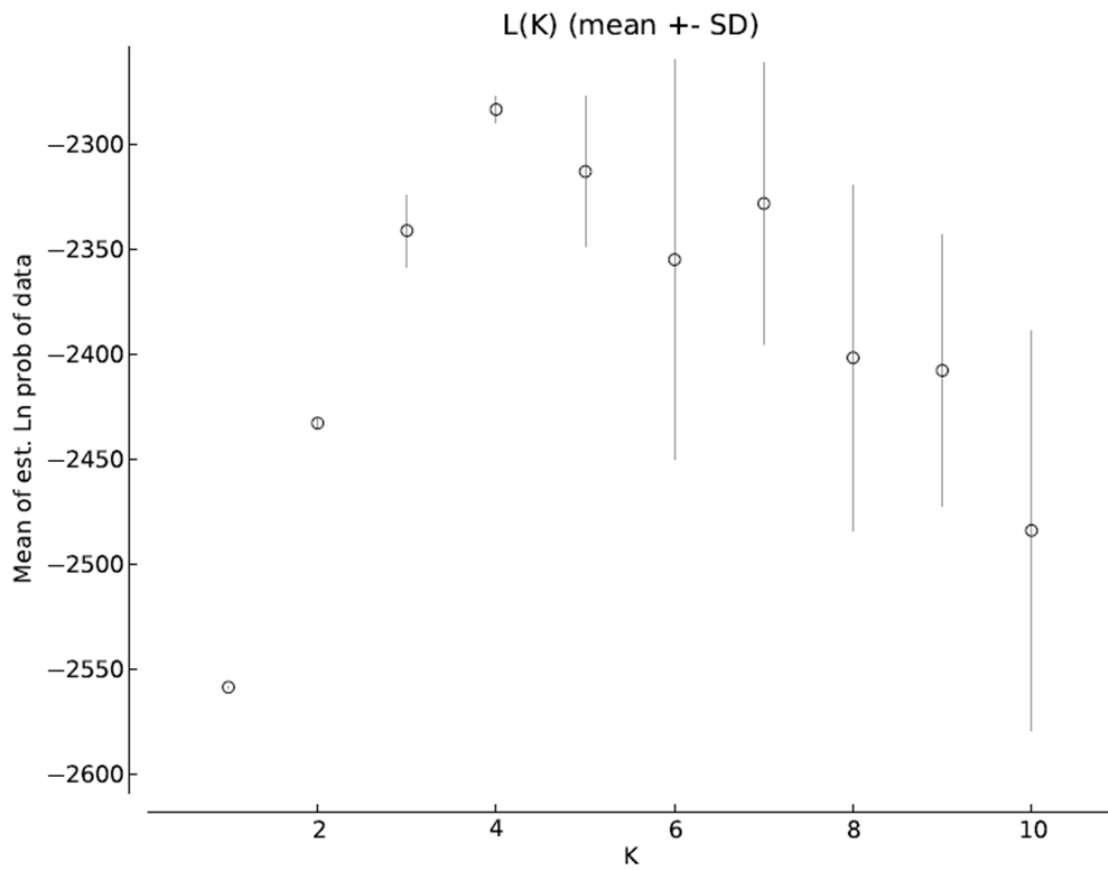


Figura 1. Valores da probabilidade de Log referentes às diferentes quantidades de número de populações de *Tursiops truncatus* sugeridas no programa Structure através da análise de sete *loci* microsatélites.

Tabela 1. Relação de amostras cedidas por seus respectivos grupos de pesquisa. N = número de amostras.

Localidade	Grupo de pesquisa	Tipo de amostra	N
Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP)	GEMARS <sup>1</sup>	Biópsia	19
Les Hattes, Guiana Francesa	Benoit Simon-Bouhet (CEBC/CNRS) <sup>2</sup>	Encalhe	1
Marapanin, PA/Norte	GEMAM <sup>3</sup>	Biópsia	1
Aracati, Cruz, Fortim, Aquiraz, CE/Nordeste	AQUASIS <sup>4</sup>	Biópsia Encalhe	1 3
Natal, RN/Nordeste	GEMARS ECOMAR-PPC <sup>5</sup>	Biópsia Encalhe	1 3
Barra Grande, BA/Nordeste	GEMARS	Biópsia	6
Bacias de Campos e de Santos (BC/BS)	GEMM-Lagos <sup>6</sup>	Biópsia Encalhe	38 7
Litoral norte do RS	GEMARS	Encalhe	30

<sup>1</sup> Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Centre d'Etudes Biologiques de Chizé/ Centre national de la recherche scientifique

<sup>3</sup> Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos da Amazônia - GEMAM

<sup>4</sup> Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos

<sup>5</sup> ECOMAR - Projeto Pequenos Cetáceos – Rio Grande do Norte

<sup>6</sup> Grupo de Estudos de Mamíferos Marinhos da Região dos Lagos

Tabela 2. Lista de haplótipos de DNAm: relação de indivíduos que os compõe, sua frequência e localidades.

Indivíduos	Frequência	Localidade
ASPSP_A	1	Arquipélago de São Pedro e São Paulo (PE)
ASPSP_B, ASPSP_C, ASPSP_D, ASPSP_E, ASPSP_G, ASPSP_H, ASPSP_I, ASPSP_J, ASPSP_K, ASPSP_L, ASPSP_M, ASPSP_N, ASPSP_O, ASPSP_P, ASPSP_Q, ASPSP_R, ASPSP_S, ASPSP_T	18	Arquipélago de São Pedro e São Paulo (PE)
BC/BS018, BC/BS023, BC/BS028, GEMM94	4	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ), Arraial do Cabo (RJ)
BC/BS019, BC/BS024, BC/BS030, BC/BS063, BC/BS066, BC/BS067, BC/BS078, BC/BS079, BC/BS080, BC/BS082, BC/BS083	11	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
BC/BS020, BC/BS025, BC/BS065, BC/BS070, BC/BS073, BC/BS01, GEMM132, GEMM98, GEMARS1192, GEMARS1260, GEMARS1285, GEMARS292, GEMARS916	13	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP, RJ e SC) Litoral Norte do Rio Grande do Sul (RS)
BC/BS021, BC/BS022, BC/BS029, BC/BS033, GEMARS216	5	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ) Litoral Norte do Rio Grande do Sul (RS)
BC/BS026, BC/BS031, BC/BS032, BC/BS064, BC/BS068, BC/BS069, BC/BS072, BC/BS074, BC/BS076, BC/BS077, GEMM60, GEMARS115, GEMARS401	13	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ) Litoral Norte do Rio Grande do Sul (RS)
BC/BS027	1	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
BC/BS071	1	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
BC/BS075	1	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
BC/BS081	1	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
GEMM120	1	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
GEMM17	1	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ)
GEMM57, GEMARS1050	2	Bacia de Campos e Bacia de Santos (SP e RJ) Litoral Norte do Rio Grande do Sul (RS)
NE001, NE002, Ne004, P1	4	Litoral sul do Rio Grande do Norte (RN), Litoral norte do Rio Grande do Norte (RN), Barra Grande (BA)/Nordeste
NE003, 02c325	2	Litoral norte do Rio Grande do Norte (RN) Pontal de Cima, Fortim (CE) Nordeste

02c373	1	Barro Preto, Aquiraz, (CE) Nordeste
02c375	1	Nordeste
P2, P3	2	Barra Grande (BA)/Nordeste
P4	1	Barra Grande (BA)/Nordeste
P5	1	Barra Grande (BA)/Nordeste
P7	1	Barra Grande (BA)/Nordeste
GEMARS1021, GEMARS1094	2	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS1165, GEMARS1259, GEMARS286, GEMARS400, GEMARS934	5	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS1235, GEMARS192, GEMARS203, GEMARS333, GEMARS503, GEMARS569, GEMARS816, GEMARS861, MPT003	9	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS1265	1	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS1283	1	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS1477	1	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS820	1	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMARS1320	1	Litoral Norte do Rio Grande do Sul
GEMAM441	1	Marapanim (Pará)/Nordeste
Guiana	1	Les Hattes/Guiana Francesa

---

Tabela 3. Diversidade genética mitocondrial para diferentes espécies de cetáceos, N: número de espécimes analisados; H: número total de haplótipos encontrados em cada um dos estudos; h: diversidade haplotípica e  $\pi$ : diversidade nucleotídica.

População	N	H	h	$\pi$
<i>Tursiops truncatus</i> (ASPSP desse estudo)	19	2	0,105	0,0006
<i>Tursiops truncatus</i> (Nordeste desse estudo)	14	9	0,912	0,019
<i>Tursiops truncatus</i> (BC/BS desse estudo)	45	12	0,848	0,013
<i>Tursiops truncatus</i> (RS desse estudo)	30	12	0,862	0,019
<i>Tursiops truncatus</i> (total desse estudo)	109	32	0,85	0,015
<i>Tursiops truncatus</i> sul do Brasil, Uruguai e Argentina (Fruet <i>et al.</i> 2014)	124	9	0,71	0,009
<i>Tursiops truncatus</i> sul do Brasil (Costa <i>et al.</i> 2015)	32	8	0,71	0,0168
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro Ilha Choros, Chile (Sanino <i>et al.</i> 2005)	8	2	-	0,0069
<i>Tursiops truncatus</i> oceânico Chile (Sanino <i>et al.</i> 2005)	8	6	-	0,0200
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro Peru (Sanino <i>et al.</i> 2005)	3	2	-	0,0021
<i>Tursiops truncatus</i> oceânico Peru (Sanino <i>et al.</i> 2005)	12	12	-	0,0179
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro do Atlântico Norte Ocidental (Hoelzel <i>et al.</i> 1998)	29	6	-	0,006
<i>Tursiops truncatus</i> oceânico do Atlântico Norte Ocidental (Hoelzel <i>et al.</i> 1998)	26	12	-	0,027
<i>Tursiops truncatus</i> norte Bahamas (Parsons <i>et al.</i> 2006)	56	11	0,76	0,006
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro Caribe (Caballero <i>et al.</i> 2012)	112	22	0,57	0,009
<i>Tursiops truncatus</i> Golfo do México (Sellas <i>et al.</i> 2005)	56	7	0,79	0,009
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro Atlântico Norte Oriental (Natoli <i>et al.</i> 2004)	9	2	0,42	0,016
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro (norte) do nordeste Atlântico (Louis <i>et al.</i> 2014)	76	5	0,66	0,006



<i>Tursiops truncatus</i> costeiro (sul) do nordeste Atlântico (Louis <i>et al.</i> 2014)	115	4	0,49	0,001
<i>Tursiops truncatus</i> pelágico do nordeste Atlântico (Louis <i>et al.</i> 2014)	101	38	0,92	0,014
<i>Tursiops truncatus</i> Açores (Quérouil <i>et al.</i> 2007)	83	29	0,95	0,015
<i>Tursiops truncatus</i> Madeira (Quérouil <i>et al.</i> 2007)	24	14	0,92	0,012
<i>Tursiops truncatus</i> Portugal (Quérouil <i>et al.</i> 2007)	7	5	0,85	0,014
<i>Tursiops truncatus</i> pelágico do Mar Mediterrâneo (Louis <i>et al.</i> 2014)	51	15	0,90	0,013
<i>Tursiops truncatus</i> costeiro Golfo da Califórnia (Segura <i>et al.</i> 2006)	32	11	0,86	0,011
<i>Tursiops truncatus</i> oceânico Golfo da Califórnia (Segura <i>et al.</i> 2006)	51	20	0,94	0,013
<i>Tursiops truncatus</i> Ilhas do Haváí (Martien <i>et al.</i> 2011)	130	25	0,88	0,022
<i>Tursiops truncatus</i> África do Sul (Natoli <i>et al.</i> 2004)	38	5	0,29	0,008
<i>Tursiops truncatus</i> pelágico China (Natoli <i>et al.</i> 2004)	17	12	0,92	0,024
<i>Tursiops aduncus</i> China (Natoli <i>et al.</i> 2004)	19	11	0,88	0,015
<i>Pontoporia blainvillei</i> (Cunha <i>et al.</i> 2014)	162	30	0,86	0,009
<i>Delphinus</i> sp. (Stockin <i>et al.</i> 2014)	84	65	0,99	0,017
<i>Phocoena phocoena</i> Oceano Pacífico (Rosel <i>et al.</i> 1995)	-	-	0,90	0,0137
<i>Phocoena phocoena</i> Oceano Atlântico (Rosel <i>et al.</i> 1995)	-	-	0,89	0,0081
<i>Eubalaena australis</i> (Patenaude <i>et al.</i> 2007)	136	34	0,91	0,0271
<i>Megaptera novaengliae</i> (Félix <i>et al.</i> 2012)	182	41	0,92	0,019

---