

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DE ESTOQUES PESQUEIROS COM DNA BARCODE AO LONGO
DE UM GRADIENTE LATITUDINAL DO ATLÂNTICO OCIDENTAL**

Aluna: Danielle de Jesus Gama Maia
Orientador: Dr. Uedson Pereira Jacobina

Recife, 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DE ESTOQUES PESQUEIROS COM DNA BARCODE AO LONGO
DE UM GRADIENTE LATITUDINAL DO ATLÂNTICO OCIDENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Biologia Animal da Universidade Federal de
Pernambuco, como exigência para a obtenção do título de
Mestre em Biologia Animal.

Aluna: Danielle de Jesus Gama Maia
Orientador: Dr. Uedson Pereira Jacobina

Recife, 2016

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Maia, Danielle de Jesus Gama

Avaliação de estoques pesqueiros com DNA Barcode ao longo de um gradiente latitudinal do Atlântico Ocidental / Danielle de Jesus Gama Maia - Recife: O Autor, 2016.

72 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Uedson Pereira Jacobina

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biologia Animal, 2016.

Inclui referências e anexo

1. Peixes marinhos 2. Biogeografia 3. Zoologia- classificação I. Jacobina, Uedson Pereira (orient.) II. Título

597

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017- 430

DANIELLE DE JESUS GAMA MAIA

**AVALIAÇÃO DE ESTOQUES PESQUEIROS COM DNA BARCODE AO LONGO
DE UM GRADIENTE LATITUDINAL DO ATLÂNTICO OCIDENTAL**

Aprovado em 26 / 08 / 2016

Banca Examinadora:

Dr. Uedson Pereira Jacobina
Universidade Federal de Pernambuco
(Departamento de Zoologia)

Dr. Alexandre Oliveira de Almeida
Universidade Federal de Pernambuco
(Departamento de Zoologia)

Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Souza
Universidade Federal de Pernambuco
(Departamento de Botânica)

Dr. Pablo Ariel Martinez
Universidade Federal de Sergipe
(Departamento de Ecologia)

Recife, 2016

AGRADECIMENTOS

Gratidão,

Ao Poder Superior, por toda a Luz na minha caminhada

Poder que me ajuda a ir em frente, minha Fé, minha Luz, Amor que me sustenta me guia o Sol do meu amanhecer, meu alimento de todo dia, minha razão de viver, meu Pai meu Irmão meu Amigo pra qualquer parada, a mão que desvia meus passos de qualquer cilada

Ao M. G., Amigo Verdadeiro, pelos Ensinamentos, Amor, Paciência, Orientação e Zelo na minha caminhada, e pelo auxílio no início e até a conclusão deste trabalho

À minha família de Aracaju

Minha mãe Joana (Coração) por todo Trabalho, Dedicação, Amor e Cuidado em favor do meu crescimento no sentido de ser um Ser humano melhor e contribuir no crescimento da humanidade em favor do Bem e me ensinando o que é a Generosidade

À Minha irmã Diana, meu cunhado Fernando e meu sobrinho Fernandinho, por toda Paciência, Auxílio, Apoio, União e Amor doados a mim por toda a vida, mas principalmente enquanto estive longe de casa, cuidando de mainha e trazendo tranquilidade ao meu coração para que pudesse desenvolver bem o meu trabalho

À minha Amiga Taci, sentimento Verdadeiro, um Abrigo Seguro e Bem Presente, Braço Forte que me auxilia a remar e com quem sei que posso contar, por todo auxílio na minha estadia em Recife/Olinda e na conclusão deste trabalho

À Wilson Treger por todo incentivo em favor do meu crescimento nos estudos e na minha ida à Recife, me mostrando o caminho da Pós-graduação e do valor de um bom professor e da pesquisa feita com qualidade

À D. Veronika e Paulo por todo apoio e incentivo na minha estadia desde que cheguei a Recife

Ao meu orientador neste trabalho, Uedson Jacobina, por acreditar neste trabalho e na minha capacidade de realiza-lo, além do empenho em favor de que eu pudesse ter uma bolsa de estudos e continuar em Recife

À Flávinha e Gabi pela Amizade e Carinho

Àos meus companheiros de Laboratório pela companhia

A D. Ana e Sr. Roberto

Aos Mestres e Amigos que fizeram a minha estadia em Recife mais Alegre

À Rodrigo A. Torres pelo apoio financeiro e estrutural no desenvolvimento deste trabalho

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal por todo apoio prestado

Ao **CNPq** pelo suporte financeiro fundamental para viabilidade e execução do nosso trabalho

“Nenhuma aresta seria polida se não tivésseis a
perseverança necessária para desbastá-la

A natureza humana é assim: passo a passo toda estrada
pode ser percorrida

Gota a gota até mesmo o oceano pode ser esvaziado

Ceitel por ceitel tudo será pago

Dívida por dívida tudo será pago

Se tiveres paciência e perseverança no desejo de fazê-lo.”

(José Laércio do Egito, palavras atribuídas ao Rei Salomão)

RESUMO

No ambiente marinho, a ausência de barreiras óbvias parece indicar ecossistemas marinhos resilientes que facilitam o fluxo gênico entre populações. Contudo, fatores físicos tais como correntes marítimas, temperatura e salinidade contribuem para a definição dos limites biogeográficos e ecológicos através da formação, manutenção e distribuição de uma fauna em especial. O objetivo deste estudo foi utilizar a metodologia de DNA barcode para investigar o efeito da escala geográfica sobre a variação genética e conectividade entre populações de espécies de peixes marinhos ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental. Um total de 1549 sequências do gene citocromo oxidase I (COI) pertencentes a 54 espécies foi obtido para quatro províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental (Província da Carolina-CR, Caribe-CA, Brasil-BR e Argentina-AR). Na comparação entre espécimes provenientes de diferentes províncias biogeográficas, foram observadas divergências genéticas profundas (>2%) nas espécies *Polydactylus virginicus*, *Achirus lineatus*, *Harengula clupeola*, *Elops saurus*, *Haemulon plumieri* e *Pomatomus saltatrix*. O DNA Barcode mostrou-se uma ferramenta útil em detectar descontinuidades genéticas ao longo de uma gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental. Além disso, a análise de métodos filogenéticos comparativos mostrou que a variação nas distâncias genéticas entre populações de diferentes províncias biogeográficas pode ser influenciada por características biológicas das espécies, como a capacidade de formar cardumes. Contudo, outras características biológicas, como período de reprodução podem ter influência sobre a divergência genética das espécies. Nossos resultados destacam a eficiência deste marcador em uma primeira avaliação sobre o status taxonômico das espécies, assim como na detecção de unidades evolutivas significativas, que poderá nortear futuras revisões taxonômicas, estudos filogeográficos e consequentemente programas de conservação.

Palavras-chave: divergência genética. Citocromo Oxidase subunidade I. métodos filogenéticos comparativos.

ABSTRACT

In the marine environment, the absence of obvious barriers seems to indicate resilient marine ecosystems that facilitate gene flow between large marine populations. However, physical factors such as ocean currents, temperature and salinity contribute to the definition of biogeographical and ecological limits through training, maintenance and distribution of a special fauna. The aim of this study was to use the barcode DNA methodology to investigate the effect of geographic scale on genetic variation and connectivity among populations of marine fish species along a latitudinal gradient in the western Atlantic. 1.549 sequences of the gene cytochrome oxidase I (COI) belonging to 54 species of marine fish they were obtained for four biogeographical provinces of the western Atlantic (Carolina Province -PC, Caribbean-CA, Brazil-BR and Argentina-AR). When comparing specimens from different biogeographic provinces, deep genetic differences were observed (>2%) the species *Polydactylus virginicus*, *Achirus lineatus*, *Harengula clupeiola*, *Elops Saurus*, *Haemulon plumieri* and *Pomatomus saltatrix*. The DNA Barcode proved to be a useful tool in detecting genetic discontinuities along a latitudinal gradient in the western Atlantic. Moreover, the comparative phylogenetic analysis methods showed that genetic variation in populations of different distances between biogeographic provinces can be influenced by biological characteristics of the species, such as the ability to form schools. However, other biological characteristics, such as breeding period can influence the genetic diversity of the species. Our results highlight the effectiveness of this marker in a first assessment of the taxonomic status of the species, as well as in the detection of significant evolutionary units, which may guide future taxonomic revisions, phylogeographic studies and consequently conservation programs.

Keywords: Genetic divergence. Cytochrome Oxidase subunit I. Comparative Phylogenetics Methods.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Rede de haplótipos dos espécimes coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números acima da barra preta entre os haplótipos indica a quantidade de mutações que separam os haplótipos coletados em cada província biogeográfica e os números abaixo indicam a distância genética entre os haplótipos coletados em cada província biogeográfica.....38

Figura 2 – Efeitos do comportamento de formar cardumes sobre à variação genética. As linhas tracejadas verticais, barras cinzentas e linhas horizontais pretas representam, respectivamente, intervalo de dados, intervalo interquartil, e mediano. Nível de confiança de 95%.....39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distâncias genéticas de espécies de peixes marinhos e estuarinos que não apresentaram divergências genéticas entre e dentro de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental.....	33
Tabela 2 – Distâncias genéticas de espécies de peixes marinhos e estuarinos que apresentaram divergências genéticas entre e dentro de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental.....	35
Tabela 3 – Distribuição dos haplótipos das espécies que apresentaram divergências genéticas entre e dentro das províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental.....	36
Tabela 4 – Resultados dos modelos individuais obtidos das regressões filogenéticas generalizadas dos quadrados mínimos (pGLS) entre distância genética e características biológicas.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Item	Definição
AFLP	-Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos Amplificados
AOP	-Pluma dos rios Amazonas-Orinoco
AR	-Província biogeográfica da Argentina
BB	-Barreira de Benguela
BOLD	-Barcode of Life Datasystems
BR	-Província biogeográfica do Brasil
CA	-Província biogeográfica do Caribe
COI	-Citocromo Oxidase Subunidade I
CR	-Província biogeográfica da Carolina
DNA	-Ácido desoxirribonucléico
IOP	-Istmo do Panamá
K2P	-Kimura-2 parâmetros
MAB	-Barreira Meso-Atlântica
mtDNA	-DNA mitocondrial
PCR	-Reação em cadeia da polimerase
pGLS	-Análise filogenéticas de mínimos quadrados generalizados
QTL	-Locus de caracteres quantitativos
RNA	-RNA Ribossomal
SNP	-Polimorfismos de nucleotídeo único
SSR	-Sequências de Repetição Simples (microsatélites)
TTE	-Evento Terminal Tetiano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 BIOGEOGRAFIA DO ATLÂNTICO.....	15
2.2 MARCADORES MOLECULARES NA DETECÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA	19
2.3 TAXONOMIA UTILIZANDO DADOS MOLECULARES: A ABORDAGEM DO DNA BARCODE	20
3 OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GERAL.....	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4 MANUSCRITO.....	25
4.1 INTRODUÇÃO.....	28
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.2.1 Amostragem	30
4.2.2 Análise estatística dos dados	31
4.3 RESULTADOS	32
4.4 DISCUSSÃO	40
4.4.1 Diversidade Críptica no Atlântico Ocidental	40
4.4.2 Associação entre variabilidade genética e características biológicas.....	41
4.4.3 A Utilidade do DNA Barcode em Estudos Biogeográficos.....	42
4.5 REFERÊNCIAS	43
5 CONCLUSÃO GERAL.....	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXO A- INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES.....	56

1 INTRODUÇÃO

No ambiente marinho, a ausência de barreiras óbvias parece indicar ecossistemas resilientes e que facilitam o fluxo gênico entre populações marinhas extensas (Palumbi, 1994). Contudo, características geomorfológicas, hidrográficas ou influências geoquímicas, contribuem para a definição dos limites biogeográficos e ecológicos através da formação, manutenção e distribuição de uma fauna em especial que apresenta coesão evolutiva. Tais áreas são denominadas províncias biogeográficas marinhas (Spalding et al., 2007).

Com base na distribuição de espécies de peixes marinhos, Briggs & Bowen (2012) realinharam as províncias biogeográficas marinhas propostas por Spalding et al. (2007), e observaram a existência de quatro províncias para as regiões quentes no Atlântico Ocidental: Província da Carolina (que é dividida em duas partes: Norte do golfo do México, entre o Cabo Romano e Flórida, e na Costa Atlântica, entre o Cabo Hatteras e Cabo Canaveral) Província do Caribe (Estende-se das Bermudas até o Rio Amazonas), Província do Brasil (Rio Amazonas até o Sul de Santa Catarina) e Província da Argentina (de Santa Catarina até a Península de Valdez, Argentina). A pluma dos rios Amazonas-Orinoco (AOP), localizada entre as Províncias do Caribe e do Brasil, tem sido relatada como uma das principais barreiras (barreira suave -soft barrier Luiz et al., 2012; Cowman & Bellwood, 2013) que moldam a distribuição das espécies de peixes no Atlântico Ocidental (Rocha et al., 2007). Esta barreira costeira formada a cerca de 10 milhões de anos, consiste em uma descarga de água doce e sedimentos que se alastra por 2300 Km ao longo da costa norte/nordeste da América do Sul e modifica profundamente as características químicas e físicas das águas costeiras (Rocha et al., 2003). Algumas espécies apresentam características fisiológicas, morfológicas, ecológicas e/ou comportamentais que melhoram a probabilidade de superar barreiras geográficas (Robertson et al., 2004; Bradbury et al., 2008). Rocha et al. (2002) observaram que a Pluma dos rios Amazonas-Orinoco mostrou-se uma forte barreira à dispersão de *A. bahianus*, moderada em *A. coeruleus* e sem efeito em *A. chirurgus*, devido às diferentes preferências de habitat observados nestes peixes recifais. Assim, a efetividade das barreiras em moldar a distribuição das espécies dependerá de características espécie-específicas, como resistência a variações físico-químicas da água e preferências de habitat, que afetam não só a dispersão, mas também o potencial para estabelecer uma nova população depois que a barreira foi cruzada (Rocha et al 2005). Compreender o papel das forças ambientais históricas e modernas na formação de padrões biogeográficos contemporâneos é uma parte central da biogeografia marinha (Mora et al., 2012). Assim, modelos genéticos populacionais podem investigar a

relação entre limites biogeográficos e a distribuição de variantes genéticas através do uso de marcadores moleculares (Sunnucks, 2000; Schlötterer, 2004).

A utilização da metodologia de DNA Barcode no estudo da biodiversidade tem crescido vertiginosamente desde que foi descrito por Hebert et al. (2003a,b). O DNA Barcode é um sistema de identificação molecular baseado na amplificação de um fragmento curto de DNA mitocondrial do gene Citocromo oxidase subunidade I (COI) capaz de identificar com efetividade boa parte da biodiversidade global (Hebert et al. 2003a,b). Em peixes, esta estratégia vem sendo utilizada com bastante sucesso, resultando na identificação de espécies crípticas e unidades evolutivamente significativas (Winterbottom et al, 2014; Ferreira et al, 2014; Hyde et al., 2014). Tais achados também apontam na compreensão de efeitos vicariantes, sejam eles através de barreiras geográficas e/ou ecológicas na estruturação genética de uma determinada espécie ou conjuntos de espécies (Amaral et al., 2013).

Embora o principal foco do DNA Barcode seja na identificação molecular de diversos taxa, a disponibilidade de sequências georreferenciadas de diferentes espécies nos bancos de dados de domínio público proveniente de várias ecorregiões permite analisar a sua variação genética em uma ampla escala geográfica, e testar a sua coesão evolutiva ao longo de sua distribuição. Briggs & Bowen (2012) destacaram a necessidade de estudos biogeográficos na região do Atlântico Ocidental, o número de sequências COI de espécies de peixes marinhos coletados ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental tem sido disponibilizadas nestes bancos de dados nos últimos anos, desde a Argentina, Sudeste do Brasil e boa parte da América Central e do Norte, que podem ser utilizados para investigar a variação genética de peixes com diferentes adaptações ecológicas para o uso do habitat. Contudo, há uma grande lacuna na informação contida neste banco de dados referente às populações destas espécies no Nordeste Brasileiro que se encontra em uma zona de intercessão entre estas regiões. Estudos recentes têm demonstrado que a escala geográfica da amostragem podem ter um impacto crítico na interpretação dos dados provenientes de Barcode, assim, complementar este banco de dados torna-se crucial para compreender o padrão de conectividade destas espécies ao longo de toda ou boa parte de sua distribuição (Bergsten et al., 2012). Nesse contexto, este estudo objetiva responder as seguintes questões: i) existem divergências genéticas profundas em populações de espécies de peixes provenientes de diferentes províncias biogeográficas? ii) a variação nas distâncias genéticas entre populações de diferentes províncias biogeográficas pode ser influenciada por características biológicas das espécies? iii) o DNA Barcode é uma ferramenta útil em estudos biogeográficos?

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BIOGEOGRAFIA DO ATLÂNTICO

O Oceano Atlântico é a segunda maior bacia oceânica com vastos 86,5 milhões de Km² de área e profundidade média de 3736 metros, que se estende ao longo dos hemisférios Norte e Sul do Planeta (Castro & Huber, 2012). Originou-se há cerca de 180 milhões de anos, quando a elevação de um rifte entre o que hoje é a América do Norte e os continentes da América do Sul e África, separou o supercontinente Pangeia em Laurásia (América do Norte e a Eurásia) e Gondwana (América do Sul, África, Antártica, Índia e Austrália) (Brown & Lomolino, 2006; Castro & Huber, 2012; Cox & Moore, 2013). Este rifte foi o início da Cordilheira Dorsal Meso-Atlântica e sua formação marcou a origem do Oceano Atlântico Norte e a divisão do grande Oceano Pantalassa (precursor do Pacífico), que outrora apresentava apenas dois recuos: o Mar de Tétis, precursor do atual Mar Mediterrâneo, que separava a África da Eurásia e o Sinus Borealis, que originaria o Oceano Ártico (Brown & Lomolino, 2006; Castro & Huber, 2012; Cox & Moore, 2013). Neste período, também houve a formação do Oceano Índico devido à separação de Gondwana (Brown & Lomolino, 2006; Castro & Huber, 2012). Há aproximadamente 135-85 milhões de anos surge o Atlântico Sul, a partir de um novo rifte que separou a África e a América do Sul (Castro & Huber, 2012). Esse rifte encontrou a Cordilheira Dorsal Meso-Atlântica do Atlântico Norte e formou uma única Cordilheira Dorsal Meso-Atlântica, promovendo o crescimento do Oceano Atlântico e o consequente distanciamento das Américas em relação à África e Eurásia (Brown & Lomolino, 2006; Castro & Huber, 2012; Cox & Moore, 2013). O soerguimento de cadeias de ilhas vulcânicas entre a América do Norte e do Sul originou a América Central (Brown & Lomolino, 2006).

Com a expansão do Oceano Atlântico, eventos biogeográficos reduziram e moldaram a circulação de correntes marinhas entre o Atlântico e as demais bacias oceânicas (Brown & Lomolino, 2006; Castro & Huber, 2012; Cowman & Bellwood, 2013). Tais eventos contribuíram para que as bacias oceânicas desenvolvessem características ecológicas peculiares, devido à formação de barreiras geográficas que restringiram o fluxo de correntes marinhas e de grupos de peixes (Cowman & Bellwood, 2013). As barreiras geográficas são importantes determinantes da evolução e distribuição de organismos marinhos (Cowman & Bellwood, 2013; Floeter et al 2008). Essas barreiras podem ser rígidas ou hard barriers, quando são originadas pela formação de pontes de terra que dividem fisicamente populações marinhas, ou podem ser barreiras suaves ou soft barriers quando são consequências de

processos hidrológicos (correntes de água, grande distância, descargas fluviais) que perturbam o movimento de adultos e/ou dispersão de larvas pelágicas, geralmente classificadas como barreiras permeáveis ou filtros (Luiz et al., 2012).

Cinco principais barreiras geográficas moldam a distribuição de peixes no Oceano Atlântico, são elas: as barreiras rígidas do Evento Terminal Tetiano (TTE) e do Istmo do Panamá (IOP), e a barreira suave da Corrente de Benguela (BB), separam o Oceano Atlântico de outras bacias oceânicas, enquanto as Barreiras suaves Meso-Atlântica (MAB) e a Pluma dos rios Amazonas-Orinoco (AOP) são as principais determinantes de padrões de endemismo regionais dentro do Atlântico (Rocha, 2003; Floeter et al., 2008; Luiz et al., 2012).

O Evento Terminal Tetiano (Terminal Tethyan Event-TTE) à aproximadamente 12–18 Milhões de anos, marcou o fim do Mar de Tétis, quando o contato entre as placas continentais da África e Eurásia, devido à expansão do Oceano Índico, levantou uma longa ponte no Oriente médio e fechou uma importante conexão entre os Oceanos Atlântico e Índico (Bellwood and Wainwright 2002; Cowman & Bellwood, 2013). Este evento biogeográfico tem sido apontado como o início de evolução de muitas linhagens de peixes (Bellwood et al., 2004; Barber & Bellwood, 2005; Fessler & Westneat, 2007).

O fechamento do Istmo do Panamá (Isthmus of Panama- IOP) há cerca de 3,5 milhões de anos, separou o Atlântico (região do Caribe) e o Leste do Oceano Pacífico (Cowman & Bellwood, 2013). Esta barreira afetou o fluxo de correntes, salinidade, temperatura e produtividade primária do Pacífico e do Atlântico, além de determinar trajetórias evolutivas independentes dos organismos marinhos dos dois oceanos (Taylor & Hellberg, 2005; Lessios, 2008). Contudo, estima-se que a divisão observada em várias linhagens de peixes em ambos os lados da América é o produto final de um processo gradual de vicariância durante cerca de 12 milhões de anos (Lessios, 2008)

A Corrente de Benguela, originada a cerca de dois milhões de anos, é uma corrente de água fria que atua no sudeste da Costa Atlântica da África entre o Cabo da Boa esperança (34°S) e o Angola (15°S) (Marlow et al., 2000). A temperatura da água desta corrente constitui uma barreira ao fluxo de muitos organismos marinhos de águas quentes do Sul do Oceano Índico em direção ao Atlântico (Floeter et al., 2008).

A Barreira Meso-Atlântica (MAB) consiste numa grande extensão de água de aproximadamente 3500 km que separa o Atlântico Oriental e Ocidental (Luiz et al., 2012). Esta barreira começou a se formar há cerca de 85 milhões de anos, pela separação da África e América do Sul e representa uma grande distância a ser transposta para a dispersão larval regular pelos organismos marinhos (Floeter et al., 2008; Luiz et al., 2012).

A Pluma dos rios Amazonas-Orinoco (AOP) é uma barreira costeira formada há aproximadamente 10 milhões de anos pela descarga de água doce e sedimentos dos Rios Amazonas, Orinoco e seus efluentes (Rocha, 2003). Estende-se por 2300 km ao longo da costa nordeste da América do Sul, modificando profundamente as características químicas e físicas das águas costeiras e separando habitats recifais do Brasil e Caribe (Rocha, 2003). O Rio Amazonas representa cerca de 20% da descarga fluvial global ($6300 \text{ km}^3/\text{ano}^{-1}$) e é a maior descarga global de sedimentos (2.9×10^8 toneladas/ano) no Oceano Atlântico (Moura et al., 2016). O aporte de água doce produzido é transportado ao mar como uma pluma de superfície com cerca de 30m de profundidade e até 500 km de extensão (Rocha, 2003).

A foz do Rio Amazonas representa o limite de distribuição para várias espécies de esponjas, corais escleractíneos, peixes de águas rasas, entre outros grupos de organismos costeiros e associados a recifes (Miloslavich et al., 2011). Além disso, estudos têm relatado uma redução na conectividade populacional em espécies de organismos costeiros distribuídos em ambos os lados da barreira (Rocha et al., 2003; Luiz et al., 2012). Por exemplo, com base em dados de genética populacional, foram observadas divergências quando populações provenientes do Sul foram comparadas com aquelas ao Norte da Foz do Amazonas em peixes recifais do gênero *Halichoeres* (*H. bivittatus*, *H. radiatus*, *H. brasiliensis*, *H. cyanocephalus* e *H. maculipinna*, Rocha 2004; Rocha et al., 2005), *Acanthurus* (*A. bahianus* e *A. coeruleus*, Rocha et al., 2002), *Holocentrus* (*H. ascensionais*, Bowen et al., 2006), *Sparisoma* (*S. axillare* e *S. radians*, Robertson et al., 2004), *Haemulon* (*H. steindachneri*, Rocha et al., 2008), *Pagrus* (*P. pagrus*, Ball et al., 2007). A ruptura na conectividade entre as populações em ambos os lados da Foz do Rio Amazonas é atribuída ao efeito vicariante da barreira e/ou à especiação ecológica, uma vez que, ao Norte da Foz o ambiente é insular, de condições ambientais relativamente estáveis, com águas claras durante todo o ano e sedimentos de fundo em grande parte compostos de carbonato de cálcio (Rocha et al., 2002; Rocha, 2003; Rocha et al., 2005). Porém, ao Sul da Foz, predomina o ambiente costeiro continental, com substratos terrígenos, influenciado por descarga de rios e alta turbidez (Rocha, 2003).

Por outro lado, populações de espécies pelágicas ou associadas a recifes de corais, ocorrem em ambos os lados da foz do Rio Amazonas e exibem alta conectividade (Rocha et al., 2002; Robertson et al., 2006; Rocha et al., 2008). Tal conectividade pode estar relacionada à dispersão larval em longo alcance ou migração de juvenis e adultos (Rocha, 2003; Luiz et al., 2012). Em um estudo recente, Moura et al. (2016) revelaram um amplo sistema de recifes de carbonato (9300 km^2) existente sob a pluma do Rio Amazonas que pode ser utilizado como um corredor por peixes e outros organismos para atravessar a barreira (Rocha, 2003). A

maioria das espécies de peixes registradas no sistema de recifes de carbonato são carnívoras, suportam grandes profundidades e possuem uma ampla distribuição geográfica (Moura et al. 2012). Algumas espécies têm características fisiológicas, morfológicas, ecológicas e/ou comportamentais que melhoram a probabilidade de superar barreiras geográficas (Robertson et al., 2004; Bradbury et al., 2008). Assim, a efetividade das barreiras em moldar a distribuição das espécies dependerá de características espécie-específicas, como resistência a variações físico-químicas da água e preferências de habitat, que afetam não só a dispersão, mas também o potencial para estabelecer uma nova população depois que a barreira foi cruzada (Rocha et al 2005).

O conhecimento a respeito das barreiras geográficas e da sua influência na distribuição de populações e espécies é decisivo para compreender processos de especiação, padrões de riqueza e endemismo, e assim caracterizar províncias biogeográficas (Spalding et al., 2007; Brigs & Bowen 2012; Cowman & Bellwood, 2013). As províncias biogeográficas são grandes áreas definidas pela presença de uma biota peculiar, que têm pelo menos alguma coesão evolutiva em longo prazo (Spalding et al., 2007). São caracterizadas por altos níveis de espécies endêmicas ($> 10\%$), como resultado de fatores abióticos como características geomorfológicas, hidrográficas ou influências geoquímicas que agem nos limites da província (Spalding et al., 2007). As classificações biogeográficas são essenciais para o desenvolvimento de áreas de proteção ambiental que sejam ecologicamente representativas, ou seja, representem a biodiversidade contida em genes, espécies e altas taxa, além dos processos que geram tal diversidade (Spalding et al., 2007).

As províncias biogeográficas marinhas costeiras foram realinhadas por Brigs & Bowen (2012), com base na distribuição de espécies de peixes e com uma taxa de 10% de endemismo. O sistema de classificação proposto por Brigs & Bowen (2012) considera as quatro zonas de temperatura das plataformas continentais: zona tropical, zona quente-temperada, zona frio-temperada e zona fria. Dentro de cada zona, uma série de regiões biogeográficas foi reconhecida, e províncias biogeográficas foram localizadas dentro das regiões.

Para o Atlântico Ocidental, nas Regiões quentes são observadas quatro províncias biogeográficas: i) Província da Carolina (zona quente-temperada), que é dividida em duas partes: Norte do golfo do México, entre o Cabo Romano e Flórida, e na Costa Atlântica, entre o Cabo Hatteras e Cabo Canaveral. Apresenta 10% de endemismo; ii) Província do Caribe (zona tropical), que estende-se das Bermudas até o Rio Amazonas. Apresenta 33% de endemismo; iii) Província do Brasil (zona tropical): do Rio Amazonas até o Sul de Santa

Catarina, além as ilhas de Atol das Rocas, Fernando de Noronha, São Pedro e São Paulo e Trindade. Apresenta 25% de endemismo, e; iv) Província da Argentina (zona quente-temperada): de Santa Catarina, Sul do Brasil, até a Península de Valdez, Argentina, com 10% de endemismo.

2.2 MARCADORES MOLECULARES NA DETECÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA

A variabilidade entre indivíduos é algo essencial para a evolução (Allendorf & Luikart, 2009). A transformação da variação individual dentro de uma população em diferenças entre populações ou espécies através do processo de seleção natural é a base da mudança adaptativa descrita por Darwin (Allendorf & Luikart, 2009). Tais variações podem ser expressas fenotipicamente em diferentes padrões de cor, morfologia e comportamento, ou a nível molecular, como diferenças nas sequências de DNA (Allendorf & Luikart, 2009). O destino de uma determinada variante genética no tempo e no espaço será influenciado pela biologia e circunstâncias da história de vida dos indivíduos, incluindo o sucesso reprodutivo, migração, tamanho da população, seleção natural e eventos históricos (Sunnucks, 2000; Frankham et al., 2004). Assim, modelos genéticos populacionais podem investigar a relação entre estas características demográficas e a distribuição de variantes genéticas moleculares através do uso de marcadores moleculares (Sunnucks, 2000; Schlötterer, 2004).

Os Marcadores moleculares são definidos como caracteres hereditários que possuem múltiplos estados em cada caráter (Sunnucks, 2000). Nas sequências de DNA, é um segmento particular do DNA que representa as diferenças (polimorfismos) em nível genômico (Agarwal et al., 2008). Um marcador molecular ideal deve ser polimórfico e uniformemente distribuído por todo o genoma, fornecer a resolução adequada de diferenças genéticas, ser simples, rápido e barato, necessitar de pequenas quantidades de amostras de tecido e de DNA, ter ligação com fenótipos distintos e não necessitar de informação prévia sobre o genoma de um organismo (Agarwal et al., 2008). Avanços na biologia molecular conduziram à introdução de diversos tipos de marcadores moleculares como, por exemplo, Isoenzimas, Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos Amplificados (AFLP), microssatélites (SSR), Polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) e Locus de caracteres quantitativos (QTL), que experimentam de forma diferente a ação dos processos fundamentais como recombinação, mutação e restrição seletiva, tornando-se particularmente adequados para responder determinadas questões biológicas (Sunnucks, 2000; Schlötterer, 2004). Assim, o marcador molecular escolhido deve

ter a sensibilidade correta para a pergunta proposta, uma vez que, é possível ter demasiada informação (se os grupos estudados são muito diferentes não há nada para relacioná-los) ou muito pouca informação (não foram encontrados polimorfismos a serem comparados) (Sunnucks, 2000; Schlötterer, 2004)

As células da maior parte dos eucariotos contêm DNA nuclear (que é herdado de forma biparental) bem como o DNA de organelas (em animais: DNA mitocondrial- mtDNA) que geralmente é herdado de forma uniparental e matrilinear (Galtier et al., 2009). Esta diferença na transmissão e algumas grandes diferenças nos padrões de evolução fazem com que as genealogias propostas para o DNA de organelas e o DNA nuclear reflitam diferentes aspectos da biologia populacional e história evolutiva do táxon ou da população objeto de estudo (Ballard & Rand 2005). O DNA mitocondrial (mtDNA) é uma molécula circular pequena (15000- 20000 pares de bases- pb) que em peixes e outros vertebrados é constituída por sequências que codificam dois RNAs ribossomais, 22 RNAs transportadores e 13 genes que codificam proteínas, além de uma região denominada Região Controle, responsável pelo processo de transcrição e replicação da molécula (Miya et al., 2003). Características como a herança haploide uniparental, ausência de íntrons, exposição limitada à recombinação e facilidade para amplificar (uma vez que aparece em múltiplas cópias na célula) e elevada taxa de mutação (altamente variável em populações naturais) explicam o crescimento da popularidade do mtDNA como marcador molecular nas últimas três décadas em estudos de ecologia e taxonomia molecular (Ballard & Rand 2005; Gissi et al. 2008; Galtier et al., 2009).

2.3 TAXONOMIA UTILIZANDO DADOS MOLECULARES: A ABORDAGEM DO DNA BARCODE

Hebert e colaboradores (2003ab) revolucionaram a taxonomia molecular ao descrever um fragmento de 648 pares de bases do gene mitocondrial Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) capaz de identificar com alta precisão (c. 95%) a biodiversidade no reino animal. Tal é a eficiência deste marcador molecular, que foi batizado como DNA Barcode, ou código de barras de DNA. Os códigos de barras universais são uma representação de uma sequência alfanumérica que possui 11 dígitos utilizados para identificar produtos de varejo, ou seja, funciona como um registro geral do produto, onde não existem dois produtos diferentes com o mesmo número (Frézal et al., 2008). Assim, o código de barras de DNA é representado pela variação das bases nitrogenadas adenina, guanina, citosina e timina, ao longo do fragmento da sequência de DNA a ser estudado, que é capaz de discriminar diferentes taxa ou linhagens

genéticas (Hebert et al., 2003ab). O Citocromo Oxidase Subunidade I parece possuir uma maior amplitude de sinal filogenético do que qualquer outro gene mitocondrial, devido a uma elevada substituição na sua terceira base que confere a este gene uma alta taxa de evolução molecular, cerca de três vezes maior que outros genes mitocondriais como 12S e 16S (Waugh, 2007). Esta rápida evolução permite a discriminação de espécies intimamente relacionadas e linhagens genéticas (ou grupos filogeográficos) dentro de uma única espécie, sem prejudicar a identificação eficiente em categorias taxonômicas altas (Hebert et al., 2003ab).

O protocolo para obtenção do fragmento de DNA Barcode consiste na extração de DNA a partir da amostra, amplificação via reação em cadeia da polimerase (PCR) com a utilização de iniciadores específicos ou universais, e sequenciamento do fragmento amplificado (Ward et al., 2009). Após a obtenção da sequência, o modelo evolutivo Kimura-2 parâmetros (K2P) é utilizado para obter as distâncias genéticas intraespecíficas e interespecíficas, representadas graficamente por uma análise de agrupamento do tipo Neighbor-Joining (Ratnasingham & Hebert 2007). A metodologia DNA Barcode baseia-se na premissa de que a variação genética entre as espécies excede a variação genética dentro das espécies, deste modo, a diferença entre a maior variação intraespecífica e a menor divergência interespecífica é denominada “barcoding gap” e é através dela que é possível a discriminação de diferentes linhagens genéticas (Hebert et al., 2003ab). Por Exemplo, Hebert e colaboradores (2003b) observaram que a divergência (distância) intraespecífica raramente é superior a 2%, mais além, geralmente são menores que 1%. Assim, diversos estudos têm atribuído um valor de corte maior que 2% para a delimitação de espécies com DNA Barcode.

A disponibilidade de iniciadores universais para a amplificação do fragmento de 648 pb de COI em diversos filos estabeleceu este marcador molecular como uma ferramenta promissora na taxonomia molecular (Folmer et al., 1994). Assim, em 2004 foi criado o Consórcio para o Código de Barras da Vida (Consortium for the Barcode of Life -CBOL) com o objetivo de estabelecer o DNA Barcode como um padrão global em taxonomia (Ratnasingham & Hebert 2007). Este consórcio e incentivou uma série de iniciativas globais com o objetivo de construir uma biblioteca de código de barras de DNA de eucariotos, com grupos de trabalho voltados aos fungos (CBOL Fungal Working Group), abelhas (Bee Barcode of Life Initiative/ Bee-BOL), recifes de coral (Coral Reef Barcode of Life), Saúde humana (HealthBOL), borboletas (Lepidoptera Barcode of Life), mamíferos (Mammalia Barcode of Life Campaign), esponjas (Sponge Barcode Project/SpongeBOL), Organismos marinhos (Marine Barcode of Life/MarBOL), tubarões (SharkBOL), Peixes (Fish Barcode of

Life Campaign/ FISH-BOL) e outros grupos formados em 2010 a partir do International Barcode of Life (iBOL).

Apesar do reconhecimento do DNA Barcode a partir do COI em identificar boa parte da biodiversidade animal (pássaros, Hebert et al, 2004b.; Yoo et al., 2006; morcegos, Clare et al., 2007; peixes, Brandão et al, 2016; colêmbolos, Hogg & Hebert, 2004; borboletas, Hebert et al, 2004a; Waugh, 2007), foi observado que o fragmento do gene COI não é eficiente na identificação de espécies em Plantas e fungos, todavia, sequências de regiões alternativas têm sido propostas para uso como códigos de barras nestes grupos (Kress et al. 2005; Chase et al. 2005; Kress et al., 2015).

Referente à biodiversidade marinha, este marcador tem sido utilizado para estudos em Metazoa (Radulovici et al., 2010; Bucklin et al. 2011; Trivedi et al., 2015), mais especificamente em Copepoda (Bucklin et al. 2010; Machida and Tsuda, 2010; Blanco-Bercial et al. 2014), Amphipoda (Costa et al., 2009), Gastropoda (Kemppainen et al., 2009; Jennings et al. 2010a), Bivalvia (Mikkelsen et al. 2007), Platyhelminthes (Larsson et al. 2008), Nematelminthes (Derycke et al. 2008), Annelida (De Wit et al. 2009), Porifera (Cardenas et al. 2009), Cnidaria (Moura et al. 2007), Bryozoa (Gómez et al. 2007), Echinodermata (Uthicke et al. 2010), Reptilia (Vargas et al., 2009), aves marinhas (Aliabadian et al., 2013), mamíferos (Alfonsi et al., 2013) e Peixes (Ward et al., 2005, Brandão et al., 2016).

A campanha mundial para o Barcode de peixes (Fish Barcode of Life Campaign/ FISH-BOL) já permitiu a identificação de cerca de 12 000 espécies de peixes já descritas, e vários espécimes com sequências de DNA Barcode divergentes foram confirmados por análise de taxonomia integrativa como novas espécies (Ward et al., 2009). Ward e colaboradores (2009) observaram a partir de um conjunto de dados de 546 espécies de peixes marinhos, estuarinos e de água doce, que a média da distância genética dentro das espécies, gêneros e famílias corresponde a 0,35%, 8-11% e 16-19%, respectivamente. Assim, o limiar de 2% para identificação de possíveis novas linhagens genéticas foi estabelecido (Ward et al., 2009)

Em peixes marinhos, os estudos clássicos de DNA Barcode em larga escala consistem na coleta de espécimes de diferentes espécies pertencentes a um ou mais grupos taxonômicos em uma determinada área geográfica (Ward et al., 2005; Steinke et al., 2009; Trivedi et al. 2014; Ribeiro et al., 2012; Brandão et al., 2016). Informações a respeito dos espécimes coletados como: nome da espécie, dados do voucher (número do catálogo e instituição no qual está armazenado), registro de coleta (coletor, data da coleta e localização com coordenadas GPS), identificador do espécime, sequência COI de pelo menos 500 pb e eletroferogramas das

sequências são armazenados em uma banco de dados público e sistematizado, o Barcode of Life Datasystems (BOLD)(Ward et al., 2009). A disponibilidade destas sequências e suas respectivas informações ampliam a utilização do DNA Barcode para mais além do campo da taxonomia molecular, podendo ser utilizado em estudos de genética forense (Ogden, 2008), conectividade populacional e ecologia (Kress et al., 2015), conservação (Krishnamurthy & Francis 2012), e gestão de recursos pesqueiros (Ardura et al, 2010). Contudo, poucos estudos com abordagem biogeográfica são observados (Neves et al., 2016).

Com o recente realinhamento das províncias biogeográficas marinhas por Briggs & Bowen (2012), as sequências georreferenciadas de DNA Barcode disponíveis nos bancos de dados públicos podem ser utilizadas para a compreensão de padrões biogeográficos em espécies marinhas. Sequências georreferenciadas de DNA Barcode pertencentes a espécies de peixes marinhos e estuarinos com diferentes adaptações ecológicas para o uso do habitat, coletados ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental desde a Argentina, Sudeste do Brasil e boa parte da América Central e do Norte, estão depositadas nestes bancos de dados. Estes dados podem ser utilizadas para investigar a existência de divergências genéticas profundas em populações de espécies de peixes provenientes de diferentes províncias biogeográficas, além de observar se a variação nas distâncias genéticas entre barreiras geográficas pode ser influenciada por características biológicas das espécies, como observado em peixes recifais (Luiz et al., 2012). Tais informações podem auxiliar uma melhor compreensão dos padrões biogeográficos em peixes marinhos do Atlântico Ocidental, uma vez que, os poucos estudos genéticos observados para o Atlântico Ocidental abrangem um número reduzido de espécies ou áreas geográficas (Ribeiro et al., 2012; Neves et al., 2016; Brandão et al., 2016) que não abrangem as províncias biogeográficas propostas por Brigg & Bowen (2012).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar a metodologia de DNA barcode para investigar o efeito da escala geográfica sobre a variação genética e conectividade em espécies de peixes com diferentes características biológicas ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I) Estimar a variação genética das espécies entre províncias biogeográficas ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental;
- II) Testar a influência da Barreira da Pluma dos rios Amazonas-Orinoco na conectividade genética destas espécies;

4 MANUSCRITO

Os dados referentes ao estudo “AVALIAÇÃO DE ESTOQUES PESQUEIROS COM DNA BARCODE AO LONGO DE UM GRADIENTE LATITUDINAL DO ATLÂNTICO OCIDENTAL” estão apresentados no manuscrito a seguir com previsão de submissão em revista científica a ser escolhida após as revisões sugeridas pela banca.

**EFEITO DA BARREIRA DA PLUMA DOS RIOS AMAZONAS-ORINOCO SOBRE A
VARIAÇÃO GENÉTICA EM PEIXES MARINHOS DO ATLÂNTICO OCIDENTAL**

Gama-Maia, DJ^{1*}; Torres, RA¹; Jacobina, UP²

¹Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental, Dep. Zoologia, Centro de Ciências Biológicas -Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Nelson Chaves, s/n, Cidade Universitária, Recife – Pernambuco, Brasil. CEP 50670-420 – fone (FAX): +55 (81)21268359

²Universidade Federal de Alagoas, Unidade de Ensino Penedo. Laboratório de Ictiologia e Conservação, Av. Beira Rio, s/nº, Centro Histórico, Penedo, AL, CEP 57200-000, Brazil.

*autor correspondente: Email: danielle.gamaia@gmail.com

RESUMO

No ambiente marinho, a ausência de barreiras óbvias parece indicar ecossistemas marinhos resilientes que facilitam o fluxo gênico entre populações marinhas extensas. Contudo, fatores físicos tais como correntes marítimas, temperatura e salinidade contribuem para a definição dos limites biogeográficos e ecológicos através da formação, manutenção e distribuição de uma fauna em especial. O objetivo deste estudo foi utilizar a metodologia de DNA barcode para investigar o efeito da escala geográfica sobre a variação genética e conectividade entre populações de espécies de peixes marinhos estuarinos ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental. Um total de 1549 sequências do gene citocromo oxidase I (COI) pertencentes a 54 espécies de peixes marinhos foi obtido para quatro províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental (Província da Carolina-CR, Caribe-CA, Brasil-BR e Argentina-AR). Na comparação entre espécimes provenientes de diferentes províncias biogeográficas, foram observadas divergências genéticas profundas ($>2\%$) nas espécies *Polydactylus virginicus*, *Achirus lineatus*, *Harengula clupeiola*, *Elops Saurus*, *Haemulon plumieri* e *Pomatomus saltatrix*. O DNA Barcode mostrou-se uma ferramenta útil em detectar descontinuidades genéticas ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental. Além disso, a análise de métodos filogenéticos comparativos mostrou que a variação nas distâncias genéticas entre populações de diferentes províncias biogeográficas pode ser influenciada por características biológicas das espécies, como a capacidade de formar cardumes. Contudo, outras características biológicas, como período de reprodução podem ter influência sobre a divergência genética das espécies.

Palavras-chave: divergência genética, Citocromo Oxidase subunidade I, métodos filogenéticos comparativos

4.1 INTRODUÇÃO

No ambiente marinho, a ausência de barreiras óbvias parece indicar ecossistemas resilientes e que facilitam o fluxo gênico entre populações marinhas extensas (Palumbi, 1994). Contudo, características geomorfológicas, hidrográficas ou influências geoquímicas, contribuem para a definição dos limites biogeográficos e ecológicos através da formação, manutenção e distribuição de uma fauna em especial que apresenta coesão evolutiva. Tais áreas são denominadas províncias biogeográficas marinhas (Spalding et al., 2007).

Com base na distribuição de espécies de peixes marinhos, Briggs & Bowen (2012) realinharam as províncias biogeográficas marinhas propostas por Spalding et al. (2007), e observaram a existência de quatro províncias para as regiões quentes no Atlântico Ocidental: Província da Carolina (que é dividida em duas partes: Norte do golfo do México, entre o Cabo Romano e Flórida, e na Costa Atlântica, entre o Cabo Hatteras e Cabo Canaveral) Província do Caribe (Estende-se das Bermudas até o Rio Amazonas), Província do Brasil (Rio Amazonas até o Sul de Santa Catarina) e Província da Argentina (de Santa Catarina até a Península de Valdez, Argentina). A pluma dos rios Amazonas-Orinoco (AOP), localizada entre as Províncias do Caribe e do Brasil, tem sido relatada como uma das principais barreiras (barreira suave -*soft barrier* Luiz et al., 2012; Cowman & Bellwood, 2013) que moldam a distribuição das espécies de peixes no Atlântico Ocidental (Rocha et al., 2007). Esta barreira costeira formada a cerca de 10 milhões de anos, consiste em uma descarga de água doce e sedimentos que se alastra por 2300 Km ao longo da costa norte/nordeste da América do Sul e modifica profundamente as características químicas e físicas das águas costeiras (Rocha et al., 2003). Algumas espécies apresentam características fisiológicas, morfológicas, ecológicas e/ou comportamentais que melhoram a probabilidade de superar barreiras geográficas (Robertson et al., 2004; Bradbury et al., 2008). Rocha et al. (2002) observaram que a Pluma dos rios Amazonas-Orinoco mostrou-se uma forte barreira à dispersão de *A. bahianus*, moderada em *A. coeruleus* e sem efeito em *A. chirurgus*, devido às diferentes preferências de habitat observados nestes peixes recifais. Assim, a efetividade das barreiras em moldar a distribuição das espécies dependerá de características espécie-específicas, como resistência a variações físico-químicas da água e preferências de habitat, que afetam não só a dispersão, mas também o potencial para estabelecer uma nova população depois que a barreira foi cruzada (Rocha et al 2005) Compreender o papel das forças ambientais históricas e modernas na formação de padrões biogeográficos contemporâneos é uma parte central da biogeografia marinha (Mora et al., 2012). Assim, modelos genéticos populacionais podem investigar a

relação entre limites biogeográficos e a distribuição de variantes genéticas através do uso de marcadores moleculares (Sunnucks, 2000; Schlötterer, 2004).

A utilização da metodologia de DNA Barcode no estudo da biodiversidade tem crescido vertiginosamente desde que foi descrito por Hebert et al. (2003a,b). O DNA Barcode é um sistema de identificação molecular baseado na amplificação de um fragmento curto de DNA mitocondrial do gene Citocromo oxidase subunidade I (COI) capaz de identificar com efetividade boa parte da biodiversidade global (Hebert et al. 2003a,b). Em peixes, esta estratégia vem sendo utilizada com bastante sucesso, resultando na identificação de espécies crípticas e unidades evolutivamente significativas (Winterbottom et al, 2014; Ferreira et al, 2014; Hyde et al., 2014). Tais achados também apontam na compreensão de efeitos vicariantes, sejam eles através de barreiras geográficas e/ou ecológicas na estruturação genética de uma determinada espécie ou conjuntos de espécies (Amaral et al., 2013).

Embora o principal foco do DNA Barcode seja na identificação molecular de diversos taxa, a disponibilidade de sequências georreferenciadas de diferentes espécies nos bancos de dados de domínio público proveniente de várias ecorregiões permite analisar a sua variação genética em uma ampla escala geográfica, e testar a sua coesão evolutiva ao longo de sua distribuição. Briggs & Bowen (2012) destacaram a necessidade de estudos biogeográficos na região do Atlântico Ocidental, o número de sequências COI de espécies de peixes marinhos coletados ao longo de um gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental tem sido disponibilizadas nestes bancos de dados nos últimos anos, desde a Argentina, Sudeste do Brasil e boa parte da América Central e do Norte, que podem ser utilizados para investigar a variação genética de peixes com diferentes adaptações ecológicas para o uso do habitat. Contudo, há uma grande lacuna na informação contida neste banco de dados referente às populações destas espécies no Nordeste Brasileiro que se encontra em uma zona de intercessão entre estas regiões. Estudos recentes têm demonstrado que a escala geográfica da amostragem podem ter um impacto crítico na interpretação dos dados provenientes de Barcode, assim, complementar este banco de dados torna-se crucial para compreender o padrão de conectividade destas espécies ao longo de toda ou boa parte de sua distribuição (Bergsten et al., 2012). Nesse contexto, este estudo objetiva responder as seguintes questões: i) existem divergências genéticas profundas em populações de espécies de peixes provenientes de diferentes províncias biogeográficas? ii) a variação nas distâncias genéticas entre populações de diferentes províncias biogeográficas pode ser influenciada por

características biológicas das espécies? iii) o DNA Barcode é uma ferramenta útil em estudos biogeográficos?

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Amostragem

Um total de 1549 sequências do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) pertencentes a 54 espécies de peixes marinhos foi obtido para quatro províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental (Província da Carolina-CR, Caribe-CA, Brasil-BR e Argentina-AR, Tabela S1), com 10 a 90 espécimes analisados para cada espécie. As sequências foram adquiridas a partir de dois conjuntos de dados: i) peixes coletados na costa nordeste do Brasil (Província do Brasil, N= 336, tabela S1) e ii) Sequências do gene Citocromo oxidase subunidade I-COI (N=1213, tabela S1) disponíveis para as províncias estudadas no banco de dados público Bold systems (<http://www.boldsystems.org/index.php/>).

4.2.1.1 Peixes coletados na costa nordeste do Brasil

As amostras de peixes foram coletadas entre 2009-2014 em duas localidades ao longo da costa Nordeste do Brasil: Rio Grande do Norte (6°18'26.97"S; 35°01'55.45") e Bahia. Todas amostras foram identificadas, fotografadas e depositadas na coleção de peixes da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

O DNA dos espécimes coletados foi isolado a partir do tecido muscular fixado em etanol a 96%, utilizando o kit DNeasy Tissue (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante. Posteriormente, a região Barcode de aproximadamente 650 pares de bases (pb) do gene mitocondrial COI foi amplificada por meio dos primers universais forward FishR1 (5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3') e reverse FishR2 (5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3') (Ward, 2005). A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada para um volume final de 25 µl, constituído por: 12,5 µl de 2 X Taq master mix (Vivantis), 0,5 µl de cada um dos iniciadores (10 mM), 0,5 µl MgCl₂ (50 mM), 2 µl de solução de DNA genômico a 40 ng, e água purificada para completar o volume final. Tais reações se deram por um passo inicial de 2 minutos a 95°C, 35 ciclos de 30s a 94°C, 30 segundos a 57°C e 2 minutos a 72°C, com uma extensão final de 10 minutos a 72°C. As reações foram purificadas utilizando kit ExoSap-IT® (Affimetrix), de acordo com as instruções do fabricante. Sequências forward e reverse de códigos de barras foram obtidos utilizando o Kit "Big Dye™ Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction" (Applied

Biosystems), em sequenciador Modelo ABI 3130 – Applied Biosystems com o iniciador M-13.

4.2.1.2 Sequências do gene COI disponíveis no banco de dados público Bold systems

A escolha das sequências no banco de dados Bold Systems levou em consideração: i) nome científico da espécie, e; ii) a disponibilidade de coordenadas geográficas onde o espécime foi coletado.

4.2.2 Análise estatística dos dados

As sequências forward e reverse das amostras coletadas na Costa Nordeste do Brasil (tabela 1) foram editadas por meio do software geneious (<http://www.geneious.com>) e verificadas quanto à identidade taxonômica através da ferramenta Basic Local Alignment Search Tool- BLAST (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Todas as sequências foram alinhadas utilizando Clustal W (Thompson et al., 1994) implementado em BioEdit 7.0.5.3 (Hall, 1999), seguido por inspeção visual para os ajustes finais. Cada uma das espécies foi alinhada separadamente e as sequências foram classificadas de acordo com a província biogeográfica na qual o espécime foi coletado. Todas as sequências de DNA foram caracterizadas pela ausência de códons de parada, inserções ou deleções. As sequências serão todas depositadas no BOLD Systems e correspondendo aos números de adesão (ver anexo 1 colocar numa tabela).

As distâncias genéticas para cada espécie entre e dentro das províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental foram calculadas com o modelo evolutivo de substituição Kimura 2 Parâmetros (K2P) implementado em MEGA v.6 (Tamura et al., 2013), seguindo a rotina analítica do procedimento estabelecido em estudos anteriores de DNA barcode (www.boldsystems.org). As distâncias intraespecíficas da região de código de barras COI têm sido examinadas em vários estudos envolvendo milhares de espécies de peixes marinhos (Ward et al. 2009). De acordo com tais estudos, a delimitação de espécies foi realizada usando 2% de divergência como um valor de corte.

O software DNAsp v.5.10.1 (Librado & Rozas, 2009) foi utilizado para obter a distribuição dos haplótipos e gerar redes de haplótipos para as espécies que apresentaram divergências genéticas utilizando o algoritmo de Median joining, implementado através do software Network 4.6 (Fluxus Engineering Inc.; Bandelt et al. 1995; 1999).

Uma análise de métodos filogenéticos comparativos foi realizada com o objetivo de investigar se características biológicas das espécies como tamanho do corpo (cm),

profundidade (m), uso múltiplo do habitat, capacidade de formar cardume estariam associadas às variações nas distâncias genéticas. Para isso utilizamos análises filogenéticas de mínimos quadrados generalizados (pGLS) com sinal filogenético (k) estimada através de probabilidade máxima com o pacote Alcaparra vs 0.5.2 (Orme et al., 2014) implementado em R 3.0.2.

4.3 RESULTADOS

Foram obtidas sequências para 54 espécies de peixes marinhos provenientes de diferentes províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental (tabelas 2 e 3).

Na comparação entre espécimes provenientes de diferentes províncias biogeográficas foram observadas divergências genéticas profundas (>2%) em *Harengula clupeola*, *Elops saurus*, *Haemulon plumierii*, *Polydactylus virginicus*, *Stegastes variabilis*, *Pomatomus saltatrix* e *Achirus lineatus* (tabela 2). Divergências genéticas menores que 2%, mas que indicam estruturação populacional (>1%) também foram encontradas em *Acanthurus bahianus*, *Chloroscombrus chrysurus*, *Bathygobius soporator*, *Xyrichtys novacula*, *Citharichthys spilopterus* e *Scorpaena plumieri* (tabela 2). Além disso, foram observadas divergências genéticas populacionais dentro da província do Caribe, nas espécies *Achirus lineatus* (1%), *Haemulon plumierii* (1,7%) e *Bathygobius soporator* (1,3%), contudo, não foram encontradas divergências genéticas populacionais dentro das províncias do Brasil, Carolina e Argentina (tabela 2). Ainda com relação às espécies que apresentaram divergências genéticas entre províncias biogeográficas, foram observados haplótipos únicos para cada uma das províncias biogeográficas analisadas em 69,2 % das espécies (9 espécies, tabela 3, figuras 1 e S1 a S10), enquanto 30,8% das espécies compartilharam haplótipos entre as províncias biogeográficas (4 espécies, tabela 3, figuras 1 e S1 a S10).

A análise de métodos filogenéticos comparativos mostrou que entre as características de história de vida dos peixes (profundidade, tamanho máximo, uso múltiplo do habitat e capacidade de formar cardumes), apenas a capacidade de formar cardumes mostrou-se um preditor significativo da distância genética nas espécies analisadas ($p = 0,007$), onde espécies que não formam cardumes tendem a exibir maiores distâncias genéticas entre as províncias biogeográficas (tabela 4, figura 2). Entretanto, seis espécies que apresentaram divergências genéticas entre províncias biogeográficas (*Pomatomus saltatrix*, *Harengula clupeola*, *Elops saurus*, *Acanthurus bahianus*, *Chloroscombrus chrysurus*, *Polydactylus virginicus*) não possuem comportamentos de formação de cardumes (tabela S2).

Tabela 1. Distâncias genéticas de espécies de peixes marinhos e estuarinos que não apresentaram divergências genéticas entre e dentro de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental

Ordem	Família	Espécie	Distância entre províncias						Distância dentro das províncias			
			CR-CA	CR-BR	CR-AR	CA-BR	CA-AR	BR-AR	CR	CA	BR	AR
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Opisthonema oglinum</i>	*	*	*	0,005	*	*	*	0,004	0,004	*
Gadiformes	Merlucciidae	<i>Merluccius hubbsi</i>	*	*	*	*	*	0	*	*	0	0
Mugiliformes	Mugilidae	<i>Mugil curema</i>	*	*	*	0,003	0,002	0,003	*	0,002	0,004	0,002
Mugiliformes	Mugilidae	<i>Mugil liza</i>	*	*	*	0	0	0	*	0	0	0
Peciformes	Acanthuridae	<i>Acanthurus chirurgus</i>	*	*	*	0,002	*	*	*	0,003	0,002	*
Peciformes	Acanthuridae	<i>Acanthurus coeruleus</i>	*	*	*	0,005	*	*	*	0,003	0,001	*
Peciformes	Carangidae	<i>Caranx crysos</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0	0	*
Perciformes	Carangidae	<i>Caranx hipos</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Carangidae	<i>caranx latus</i>	*	*	*	0,002	*	*	*	0,002	0,002	*
Perciformes	Carangidae	<i>Selene vomer</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Carangidae	<i>Trachinotus carolinus</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0	0	*
Perciformes	Chaetodontidae	<i>Chaetodon striatus</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Coryphaenidae	<i>Coryphaena hippurus</i>	*	*	*	0,003	*	*	*	0,003	0,003	*
Perciformes	Ephippidae	<i>Chaetodipterus faber</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0	0	*
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus virginicus</i>	*	*	*	0,002	*	*	*	0,001	0,001	*
Perciformes	Haemulidae	<i>Conodon nobilis</i>	*	*	*	0,007	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Haemulidae	<i>Haemulon parra</i>	*	*	*	0,003	*	*	*	0,002	0,003	*
Perciformes	Istiophoridae	<i>Kajikia albida</i>	0,002	0,001	*	0,002	*	*	0,001	0,003	0,001	*
Perciformes	Istiophoridae	<i>Tetrapturus georgii</i>	0,002	0,002	*	0,001	*	*	0,003	0,001	0,002	*
Perciformes	Istiophoridae	<i>Tetrapturus pfluegeri</i>	0,004	0,005	*	0,003	*	*	0,007	0,003	0,004	*
Perciformes	Labridae	<i>Doratonotus megalepis</i>	*	*	*	0,005	*	*	*	0,004	0,003	*
Perciformes	Labridae	<i>Halichoeres radiatus</i>	*	*	*	0,002	*	*	*	0,002	0	*
Perciformes	Labrisomidae	<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	*	*	*	0,005	*	*	*	0,002	0,006	*

Tabela 1. Continuação

Ordem	Família	Espécie	Distância entre províncias						Distância dentro das províncias			
-------	---------	---------	----------------------------	--	--	--	--	--	---------------------------------	--	--	--

			CR- CA	CR- BR	CR- AR	CA- BR	CA- AR	BR- AR	CR	CA	BR	AR
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus synagris</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Lutjanidae	<i>Ocyurus chrysurus</i>	*	*	*	0,001	*	*	0	0,001	0,002	*
Perciformes	Lutjanidae	<i>Rhomboplites aurorubens</i>	*	*	*	0	*	*	*	0	0	*
Perciformes	Mullidae	<i>Pseudupeneus maculatus</i>	*	*	*	0,001	*	*	*	0	0,001	*
Perciformes	Percophidae	<i>Percophis brasiliensis</i>	*	*	*	*	*	0,002	*	*	0,001	0,002
Perciformes	Pomacentridae	<i>Abudefduf saxatilis</i>	*	*	*	0,002	*	*	*	0,001	0,002	*
Perciformes	Scaridae	<i>Sparisoma radians</i>	*	*	*	0,003	*	*	*	0,002	0,002	*
Perciformes	Sciaenidae	<i>Menticirrhus americanus</i>	*	*	*	*	*	0,004	*	*	0,001	0
Perciformes	Sciaenidae	<i>Micropogonias furnieri</i>	*	*	*	*	*	0,003	*	*	0,002	0,001
Perciformes	Scombridae	<i>Euthynnus alletteratus</i>	0,002	0,002	*	0,002	*	*	0,002	0,002	0,002	*
Perciformes	Scombridae	<i>Scomberomorus cavalla</i>	0,001	0	*	0	*	*	0,001	0,001	0	*
Perciformes	Scombridae	<i>Scomberomorus regalis</i>	0,003	0,002	*	0,004	*	*	0	0,004	0	*
Perciformes	Scombridae	<i>Thunnus albacares</i>	*	0,003	*	*	*	*	0,002		0,003	*
Perciformes	Scombridae	<i>Thunnus atlanticus</i>	*	*	*	0,003	*	*	*	0,001	0,004	*
Perciformes	Sparidae	<i>Archosargus rhomboidalis</i>	*	*	*	0,002	*	*	*	0	0	*
Perciformes	Xiphiidae	<i>Xiphias gladius</i>	*	0,003	*	*	*	*	*	0	0,005	*
Scorpaeniformes	Dactylopteridae	<i>Dactylopterus volitans</i>	*	*	*	0,003	*	*	*	0,003	0,002	*
Tetraodontiformes	Tetraodontidae	<i>Sphoeroides testudineus</i>	*	*	*	0,007	*	*	*	0,003	0,002	*

Tabela 2. Distâncias genéticas de espécies de peixes marinhos e estuarinos que apresentaram divergências genéticas entre e dentro de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental

Ordem	Família	Espécie	Distância entre províncias						Distância dentro das províncias			
			CR-CA	CR-BR	CR-AR	CA-BR	CA-AR	BR-AR	CR	CA	BR	AR
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Harengula clupeola</i>	*	*	*	0,040	*	*	*	0,003	0	*
Elopiformes	Elopidae	<i>Elops saurus</i>	0,004	0,026	*	0,025	*	*	0,005	0,003	0,003	*
Peciformes	Acanthuridae	<i>Acanthurus bahianus</i>	*	*	*	0,012	*	*	*	0,003	0,002	*
Peciformes	Carangidae	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	*	*	*	0,018	*	*	*	0,004	0,003	*
Peciformes	Gobiidae	<i>Bathygobius soporator</i>	*	*	*	0,012	*	*	*	0,013	0,004	*
Perciformes	Haemulidae	<i>Haemulon plumierii</i>	*	*	*	0,050	*	*	*	0,017	0	*
Perciformes	Labridae	<i>Xyrichtys novacula</i>	*	*	*	0,018	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Polynemidae	<i>Polydactylus virginicus</i>	*	*	*	0,021	*	*	*	0	0	*
Perciformes	Pomacentridae	<i>Stegastes variabilis</i>	*	*	*	0,042	*	*	*	0,001	0	*
Perciformes	Pomatomidae	<i>Pomatomus saltatrix</i>	0,028	0,028	0,025	0,005	0,015	0,012	0,004	0,001	0,008	0,002
Pleuronectiformes	Achiridae	<i>Achirus lineatus</i>	*	*	*	0,023	*	*	*	0,011	0	*
Pleuronectiformes	Paralichthyidae	<i>Citharichthys spilopterus</i>	*	*	*	0,014	*	*	*	0,001	0,002	*
Scorpaeniformes	Scorpaenidae	<i>Scorpaena plumieri</i>	*	*	*	0,010	*	*	*	0,007	0	*

Tabela 3. Distribuição dos haplótipos das espécies que apresentaram divergências genéticas entre e dentro das províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental

Família	Espécie	Número de Haplótipos por província biogeográfica				Total de Haplótipos	Compartilha haplótipos entre províncias biogeográficas
		CR	CA	BR	AR		
Clupeidae	<i>Harengula clupeola</i>	*	13	2	*	15	Não
Elopidae	<i>Elops saurus</i>	3	2	7	*	12	Não
Acanthuridae	<i>Acanthurus bahianus</i>	*	11	5	*	16	Não
Carangidae	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	*	3	4	*	6	Sim
Gobiidae	<i>Bathygobius soporator</i>	*	18	12	*	25	Sim
Haemulidae	<i>Haemulon plumieri</i>	*	14	2	*	15	Sim
Labridae	<i>Xyrichtys novacula</i>	*	3	2	*	5	Não
Polynemidae	<i>Polydactylus virginicus</i>	*	3	2	*	5	Não
Pomacentridae	<i>Stegastes variabilis</i>	*	7	2	*	9	Não
Pomatomidae	<i>Pomatomus saltatrix</i>	5	3	11	4	21	Sim
Achiridae	<i>Achirus lineatus</i>	*	6	2	*	8	Não
Paralichthyidae	<i>Citharichthys spilopterus</i>	*	2	7	*	9	Não
Scorpaenidae	<i>Scorpaena plumieri</i>	*	10	1	*	11	Não

Tabela 4. Resultados dos modelos individuais obtidos das regressões filogenéticas generalizadas dos quadrados mínimos (pGLS) entre distância genética e características biológicas

Variáveis	<i>p</i>
Tamanho corporal	0.774
Formação de cardumes	0.007
Profundidade	0.677
Uso múltiplo do habitat	0.671

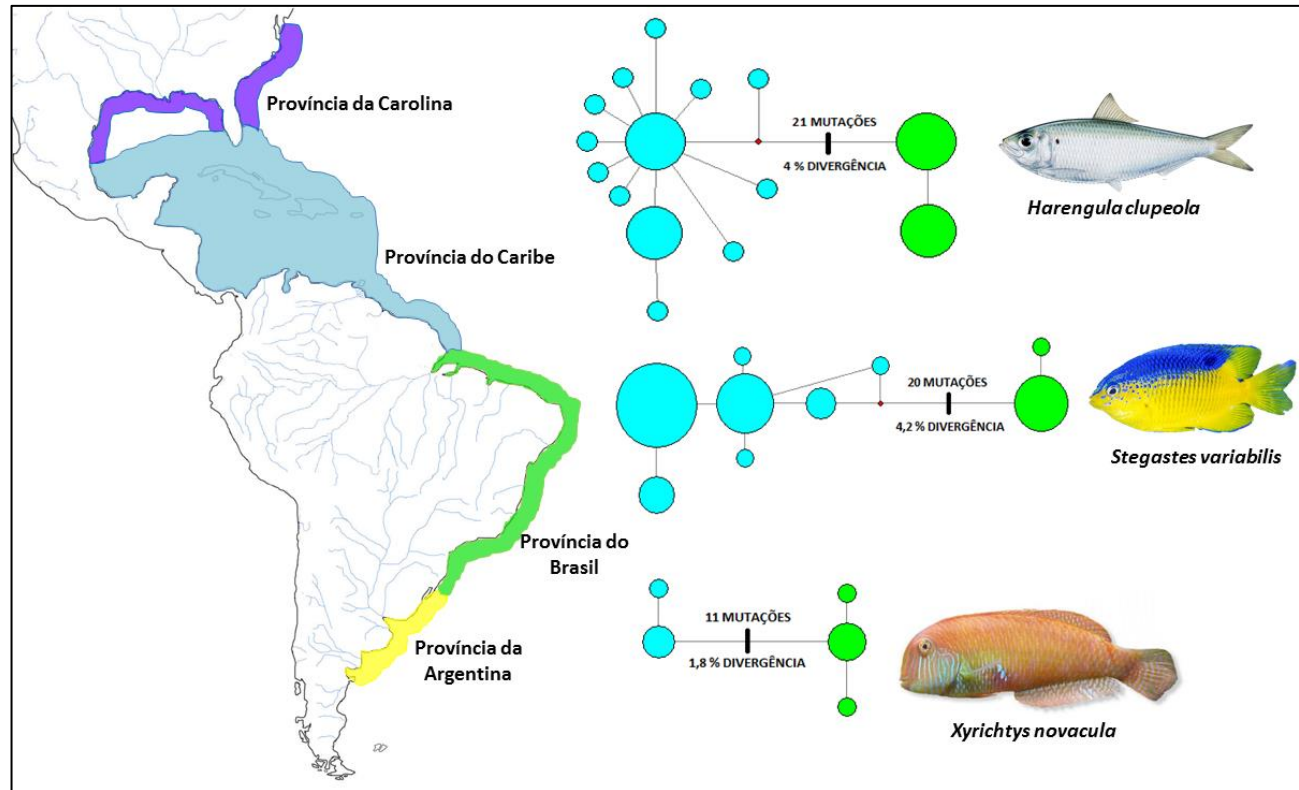


Figura 1. Rede de haplótipos dos espécimes coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números acima da barra preta entre os haplótipos indica a quantidade de mutações que separam os haplótipos coletados em cada província biogeográfica e os números abaixo indicam a distância genética entre os haplótipos coletados em cada província biogeográfica.

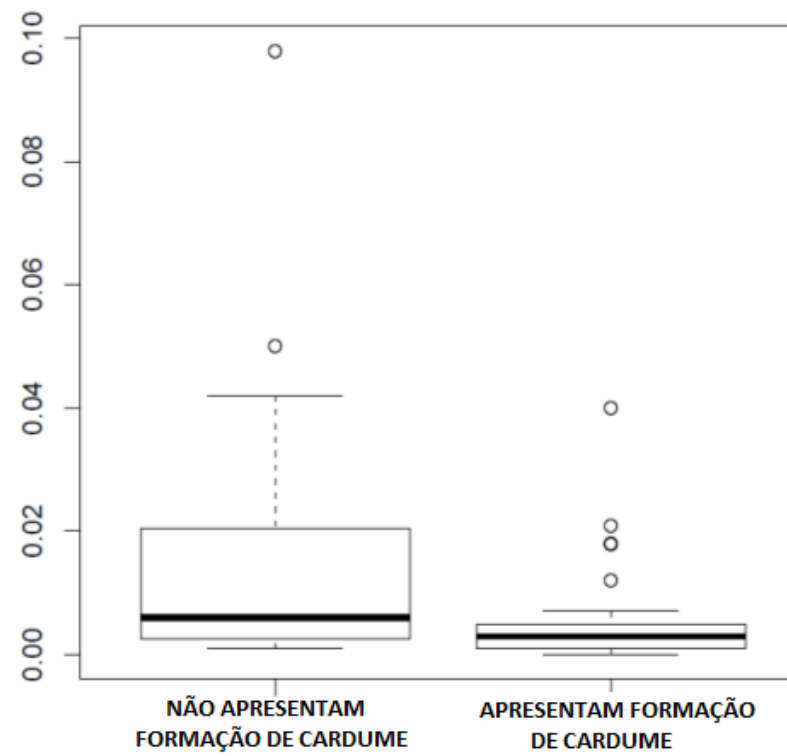


Figura 2. Efeitos do comportamento de formar cardumes sobre a variação genética. As linhas tracejadas verticais, barras cinzentas e linhas horizontais pretas representam, respectivamente, intervalo de dados, intervalo interquartil, e mediana. Nível de confiança de 95%.

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Diversidade Críptica no Atlântico Ocidental

Nossos dados mostram que existem divergências genéticas profundas em espécies de peixes distribuídas ao longo de diferentes províncias biogeográficas no Atlântico Ocidental. A maioria das divergências genéticas encontradas está concentrada entre as províncias do Brasil e Caribe, inclusive com a ocorrência de haplótipos exclusivos dentro de cada Província (ver tabelas 2 e 3; figuras 1 e S1 a S10). No limite entre estas duas províncias existe a foz do Rio Amazonas, que representa o limite de distribuição para várias espécies de esponjas, corais escleractíneos, peixes de águas rasas, entre outros grupos de organismos costeiros e associados a recifes (Miloslavich et al., 2011). Além disso, estudos têm relatado uma redução na conectividade populacional em espécies de organismos costeiros distribuídos em ambos os lados da barreira, como é caso dos peixes (Rocha et al., 2003; Luiz et al., 2012).. Nestes estudos, a ruptura na conectividade entre as populações em ambos os lados da Foz do Rio Amazonas foi atribuída ao efeito vicariante da barreira e/ou à especiação ecológica, uma vez que, ao Norte da Foz o ambiente é insular, de condições ambientais relativamente estáveis, com águas claras durante todo o ano e sedimentos de fundo em grande parte compostos de carbonato de cálcio (Rocha et al., 2002; Rocha, 2003; Rocha et al., 2005). Porém, ao Sul da Foz, predomina o ambiente costeiro continental, com substratos terrígenas, influenciado por descarga de rios e alta turbidez (Rocha, 2003).

Por outro lado, como observado no presente estudo (tabela 1), populações de espécies pelágicas ou associadas a recifes de corais, ocorrem em ambos os lados da foz do Rio Amazonas e exibem alta conectividade (Rocha et al., 2002; Robertson et al., 2004; Rocha et al., 2008). Tal conectividade pode estar também relacionada à dispersão larval em longo alcance ou migração de juvenis e adultos (Rocha, 2003; Luiz et al., 2012). Em um estudo recente, Moura et al. (2016) revelaram um amplo sistema de recifes de carbonato (9300 km²) existente sob a pluma do Rio Amazonas que pode ser utilizado como um corredor por peixes e outros organismos para atravessar a barreira. A maioria das espécies de peixes registradas no sistema de recifes de carbonato é carnívora, suportam grandes profundidades e possuem uma ampla distribuição geográfica, indicando que determinadas características biológicas podem favorecer a utilização deste “corredor” em determinadas espécies de peixes (Moura et al. 2016). Dentre as espécies observadas por Moura et al (2016) estão *Pseudupeneus maculatus*, *Caranx latus*, *Lutjanus synagris*, *Ocyurus chrysurus*, *Rhomboplites aurorubens*, *Acanthurus chirurgus*, que não apresentaram divergências genéticas entre as províncias

biogeográficas (tabela 1). Assim, tais resultados reforçam a influência da barreira da Pluma dos rios Amazonas-Orinoco em moldar os padrões de diversidade em peixes dentro do Atlântico, indicando que características espécie-específicas podem estar relacionadas à capacidade da espécie em estabelecer uma conectividade entre as populações residentes em ambos os lados da barreira.

4.4.2 Associação entre variabilidade genética e características biológicas

As variações nas distâncias genéticas encontradas nas espécies com padrões de divergência profunda (13%, 7 *spp.*, tabela 2), populacional (11%, 6 *spp.*, tabela 2) e ausência de divergências genéticas entre as províncias biogeográficas (76%, 41 *spp.*, tabela 1) levam à seguinte indagação: porque espécies que compartilham distribuições geográficas semelhantes apresentam padrões díspares de distâncias genéticas em uma determinada área geográfica? Luiz et al. (2012, 2013) observaram que características biológicas espécie-específicas em larvas e adultos de peixes, como duração larval pelágica (PLD), resistência a variações físico-químicas da água, comportamento e preferências de habitat, podem afetar não só a dispersão, mas também o potencial para estabelecer uma nova população depois que a barreira foi cruzada. Aqui, foi observado que espécies que não apresentam o comportamento de formar cardumes tendem a exibir maiores distâncias genéticas entre as províncias biogeográficas. O comportamento de formar cardume influencia diretamente a capacidade dos novos colonizadores sobreviverem e estabelecerem populações reprodutivas por dois principais motivos (Luiz et al., 2013). Primeiro, que a redução do risco de predação é considerada um dos principais benefícios da formação de cardumes em peixes (White et al., 2010). Assim como, pode aumentar a chance de encontrar parceiros em uma coorte escassa de colonizadores, melhorar a detecção de alimentos, e melhorar o acesso a recursos protegidos por concorrentes territoriais (Robertson et al., 1976, Pitcher et al., 1982). Nossos dados reforçam estudos anteriores que afirmam que características biológicas em larvas e adultos de peixes (neste caso o comportamento de formar cardumes) influenciam o potencial para o estabelecimento da nova população e persistência depois de atingir novas áreas (tabela 4).

Entretanto os padrões encontrados não são uma regra geral para maioria das espécies analisadas. Seis espécies que apresentaram divergências genéticas entre províncias biogeográficas (*Pomatomus saltatrix*, *Harengula clupeiola*, *Elops saurus*, *Acanthurus bahianus*, *Chloroscombrus chrysurus*, *Polydactylus virginicus*, tabelas 2 e S2) possuem comportamentos de formação de cardumes, indicando que outras características biológicas espécie-específicas ou forças evolutivas não analisadas neste estudo podem estar moldando a

descontinuidade genética nestas espécies. Por exemplo, a anchova (*Pomatomus saltatrix*) é uma espécie migradora circumtropical, e a divergência genética aqui observada parece conflitar com essa característica biológica da espécie. Contudo, Juanes et al. (1996) observaram diferenças no período anual da estação reprodutiva entre populações ao longo do Atlântico Ocidental. No presente estudo, foram encontrados três haplogrupos para esta espécie (figura S9) corroborando com os padrões observados por Juanes et al. (1996).

Outro exemplo pode ser observado em *Elops saurus*. Com a utilização de dados moleculares e morfológicos, foram identificados dois morfotipos em *Elops saurus* com a sua distribuição associada às temperaturas, onde o primeiro morfotipo era distribuído em águas mais frias (província da Carolina) e o segundo morfotipo (*Elops sp*) em águas mais quentes da Província do Caribe que posteriormente foi denominado *Elops smithi* (Obermiller & Pfeiler 2003; McBride & Horodysky 2004; McBride et al., 2010). Os resultados aqui obtidos indicam que existem também divergências genéticas profundas em *E. saurus* ao norte da Pluma do Amazonas-Orinoco (Carolina e Caribe) e ao Sul da Pluma (Província do Brasil) (tabela 2, figura S6). Dado o fato de que estas duas espécies podem viver em simpatria devido a diferenças período reprodutivo (McBride & Horodysky, 2004) e que a espécie *E. smithi* já foi registrada na província biogeográfica do Brasil, Lucena & Neto (2012) sugerem que é provável que os registros de *E. saurus* no Brasil correspondam a *E. smithi*. Assim, uma análise integrativa abordando aspectos genéticos e morfológicos podem elucidar o real status dessas espécies e sua distribuição geográfica ao longo do Atlântico Ocidental.

4.4.3 A Utilidade do DNA Barcode em Estudos Biogeográficos

Nossos dados identificaram divergências genéticas entre províncias biogeográficas no Atlântico Ocidental em *Harengula clupeola*, *Chloroscombrus chrysurus*, *Xyrichtys novacula*, *Haemulon plumierii*, *Polydactylus virginicus*, *Stegastes variabilis*, *Achirus lineatus*, *Citharichthys spilopterus*, *Pomatomus saltatrix*, *Elops saurus*, *Bathygobius soporator*, *Acanthurus bahianus* e *Scorpaena plumieri*. Landi et al. (2014) ressaltou a capacidade deste marcador em detectar variação genética relacionada à geografia em peixes marinhos, e estudos de genética populacional em peixes do Atlântico vem demonstrando a eficiência do DNA Barcode em detectar a diversidade críptica e como ela está geograficamente organizada (Serra-Pereira et al., 2011; Neves et al., 2016). Os resultados aqui obtidos corroboram tais achados, e destacam a eficiência deste marcador em estudos exploratórios que visam diagnosticar espécies que necessitam de revisões taxonômicas.

As divergências genéticas populacionais encontradas dentro da província biogeográfica do Caribe e ausentes nas províncias do Brasil, Carolina e Argentina (tabela 2), destacam a região biogeográfica do Caribe pode ser o centro de diversidade do Atlântico Tropical Ocidental (Rocha et al., 2008b). Ao invés de ser homogênea, essa província é dividida em três grandes partes que possuem fauna distinta e diferenças ambientais, como: variação latitudinal na temperatura do mar, a disponibilidade de diferentes habitats ambientes insulares e de plataforma continental (recifes de coral, linhas costeiras de fundo mole e manguezais), além de adições de nutrientes provenientes de áreas de afloramento e de grandes rios que podem propiciar um ambiente favorável para o desenvolvimento de divergências genéticas entre populações de espécies de peixes que residem nesta área (Robertson & Cramer 2014).

4.5 REFERÊNCIAS

- Amaral CR, Brito PM, Silva DA, Carvalho EF (2013) A new cryptic species of South American freshwater pufferfish of the genus *Colomesus* (Tetraodontidae), based on both morphology and DNA data. *PloS one*, 8(9).
- Ball AO, Beal MG, Chapman RW, Sedberry GR (2007) Population structure of red porgy, *Pagrus pagrus*, in the Atlantic Ocean. *Marine Biology*, 150(6), 1321-1332.
- Bandelt HJ, Forster P, Sykes BC, Richards MB (1995) Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, 141(2), 743-753.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16(1), 37-48.
- Bergsten J, Bilton DT, Fujisawa T, Elliott M, Monaghan MT, Balke M, Hendrich L, Geijer J, Herrmann J, Foster GN, Nilsson NA, Barraclough TG, Vogler AP, Ribera I (2012) The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Systematic biology*, sys037.
- Bowen BW, Bass AL, Muss A, Carlin J, Robertson DR (2006) Phylogeography of two Atlantic squirrelfishes (Family Holocentridae): exploring links between pelagic larval duration and population connectivity. *Marine Biology*, 149(4), 899-913.

Bradbury IR, Laurel B, Snelgrove PV, Bentzen P, Campana SE (2008) Global patterns in marine dispersal estimates: the influence of geography, taxonomic category and life history. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 275(1644), 1803-1809.

Briggs JC , Bowen BW (2012). A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography*, 39(1), 12-30.

Ferreira M, Kavalco KF, de Almeida-Toledo LF, Garcia C (2014) Cryptic Diversity Between Two *Imparfinis* Species (Siluriformes, Heptapteridae) by Cytogenetic Analysis and DNA Barcoding. *Zebrafish*, 11(4), 306-317.

Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, pp. 95-98).

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 270, 313–321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR (2003b) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 270, S596–S599.

Hyde JR, Underkoffler KE, Sundberg MA (2014) DNA barcoding provides support for a cryptic species complex within the globally distributed and fishery important opah (*Lampris guttatus*). *Molecular ecology resources*.

Juanes F, Hare JA, Miskiewicz, A G (1996) Comparing early life history strategies of *Pomatomus saltatrix*: a global approach. *Marine and Freshwater Research*, 47(2), 365-379.

Landi M, Dimech M, Arculeo M, Biondo G, Martins R, Carneiro M, Carvalho, Robert G, Brutto SL, Costa FO (2014) DNA barcoding for species assignment: the case of Mediterranean marine fishes. *PloS one*, 9(9).

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

Luiz OJ, Allen AP, Robertson DR, Floeter SR, Kulbicki M, Vigliola L, Becheler L, Madin JS (2013). Adult and larval traits as determinants of geographic range size among tropical reef fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(41), 16498-16502.

Luiz OJ, Madin JS, Robertson DR, Rocha LA, Wirtz P, Floeter SR (2012) Ecological traits influencing range expansion across large oceanic dispersal barriers: insights from tropical Atlantic reef fishes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 279(1730), 1033-1040.

McBride RS, Horodysky AZ (2004) Mechanisms maintaining sympatric distributions of two ladyfish (Elopidae: Elops) morphs in the Gulf of Mexico and western North Atlantic Ocean. *Limnology and Oceanography*, 49(4), 1173-1181.

McBride RS, Rocha CR, Ruiz-Carus R, Bowen BW (2010) A new species of ladyfish, of the genus *Elops* (Elopiformes: Elopidae), from the western Atlantic Ocean. *Zootaxa*, 2346, 29-41.

Miloslavich P, Klein E, Díaz JM, Hernández CE, Bigatti G, Campos LF, Artigas F, Castillo J, Penchaszadeh PE, Neill PE, Carranza A, Retana MV, Díaz de Astarloa JM, Lewis M, Yorio P, Piriz ML, Rodríguez D, Yoneshigue-Valentin Y, Gamboa L, Carranza A (2011). Marine biodiversity in the Atlantic and Pacific coasts of South America: knowledge and gaps. *PloS one*, 6(1), e14631.

Molina WF (2007) Chromosomal changes and stasis in marine fish groups. *Fish Cytogenetics*. Science Publishers, Enfield, 69-110.

Mora C, Trembl EA, Roberts J, Crosby K, Roy D, Tittensor DP (2012) High connectivity among habitats precludes the relationship between dispersal and range size in tropical reef fishes. *Ecography*, 35(1), 89-96.

Moura RL, Amado-Filho GM, Moraes FC, Brasileiro PS, Salomon PS, Mahiques MM, Bastos AC, Almeida MG, Silva JM, Araujo BF, Brito FP, Rangel TP, Oliveira BCV, Bahia RG, Paranhos RP, Dias RJS, Siegle E, Figueiredo AG, Pereira RC, Leal CV, Hajdu E, Asp NE, Gregoracci GB, Neumann-Leitao S, Yager PL, Francini-Filho RB, Froes A, Campeao M, Silva BS, Moreira APB, Oliveira L, Soares AC, Araujo L, Oliveira NL, Teixeira JB, Valle RAB, Thompson CC, Rezende CE, Thompson FL (2016) An extensive reef system at the Amazon River mouth. *Science advances*, 2(4).

Neves JM, Lima SM, Mendes LF, Torres RA, Pereira RJ, Mott T (2016) Population Structure of the Rockpool Blenny *Entomacrodus vomerinus* Shows Source-Sink Dynamics among Ecoregions in the Tropical Southwestern Atlantic. PloS one, 11(6).

Obermiller LE, Pfeiler E (2003) Phylogenetic relationships of elopomorph fishes inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 26(2), 202-214.

Orme AD, Freckleton R, Thomas G, Petzoldt T, Isaac N, Pearse W, Orme MD (2014) caper: Comparative Analyses of Phylogenetics and Evolution in R Version. R package version 0.5.2. <<http://cran.r-project.org/web/packages/caper/index.html>>.

Palumbi SR (1994) Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. Annual Review of Ecology and Systematics, 547-572.

Pitcher TJ, Magurran AE, Winfield IJ (1982) Fish in larger shoals find food faster. Behavioral Ecology and Sociobiology, 10(2), 149-151.

Robertson DR, Cramer KL (2014) Defining and dividing the greater Caribbean: insights from the biogeography of shorefishes. PloS one, 9(7).

Robertson D R, Grove J S, McCosker JE (2004) Tropical transpacific shore fishes. Pacific Science, 58(4), 507-565.

Robertson DR, Sweatman HPA, Fletcher EA, Cleland MG (1976) Schooling as a mechanism for circumventing the territoriality of competitors. Ecology, 57(6), 1208-1220.

Rocha LA, Bass AL, Robertson DR, Bowen BW (2002) Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). Molecular Ecology, 11(2), 243-251.

Rocha LA (2003) Patterns of distribution and processes of speciation in Brazilian reef fishes. Journal of Biogeography, 30(8), 1161-1171.

Rocha LA (2004). Mitochondrial DNA and color pattern variation in three western Atlantic *Halichoeres* (Labridae), with the revalidation of two species. Copeia, 2004(4), 770-782.

Rocha LA, Craig MT, Bowen BW (2007). Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. *Coral Reefs*, 26(3), 501-512.

Rocha LA, Lindeman KC, Rocha CR, Lessios HA (2008a) Historical biogeography and speciation in the reef fish genus *Haemulon* (Teleostei: Haemulidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 48(3), 918-928.

Rocha LA, Rocha CR, Robertson DR, Bowen BW (2008b) Comparative phylogeography of Atlantic reef fishes indicates both origin and accumulation of diversity in the Caribbean. *BMC Evolutionary Biology*, 8(1), 1.

Rocha LA, Robertson DR, Roman J, Bowen BW (2005) Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1563), 573-579.

Schlötterer C (2004) The evolution of molecular markers—just a matter of fashion?. *Nature Reviews Genetics*, 5(1), 63-69.

Serra-Pereira B, Moura T, Griffiths AM, Serrano Gordo L, Figueiredo I (2011) Molecular barcoding of skates (Chondrichthyes: Rajidae) from the southern Northeast Atlantic. *Zoologica Scripta*, 40(1), 76-84.

Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña Z A, Finlayson MAX, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA, Robertson J (2007) Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience*, 57(7), 573-583.

Sunnucks P (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(5), 199-203.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30(12), 2725-2729.

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680.

Ward RD, Hanner R, Hebert PD (2009) The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of fish biology*, 74(2), 329-356.

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.

White JW, Samhouri JF, Stier AC, Wormald CL, Hamilton SL, Sandin SA (2010) Synthesizing mechanisms of density dependence in reef fishes: behavior, habitat configuration, and observational scale. *Ecology*, 91(7), 1949-1961.

Winterbottom R, Hanner RH, Burrige M, Zur M (2014) A cornucopia of cryptic species- a DNA barcode analysis of the gobiid fish genus *Trimma* (Percomorpha, Gobiiformes). *ZooKeys*, (381), 79.

5 CONCLUSÃO GERAL

O DNA Barcode mostrou-se uma ferramenta útil em detectar discontinuidades genéticas ao longo de uma gradiente latitudinal no Atlântico Ocidental. Além disso, foi observado que a variação nas distâncias genéticas entre populações de diferentes províncias biogeográficas pode ser influenciada por características biológicas das espécies, como a capacidade de formar cardumes. Contudo, outras características biológicas, como período de reprodução podem ter influência sobre a divergência genética das espécies.

Nossos resultados destacam a eficiência deste marcador em uma primeira avaliação sobre o status taxonômico das espécies, assim como na detecção de unidades evolutivas significativas, que poderá nortear futuras revisões taxonômicas, estudos filogeográficos e consequentemente programas de conservação.

REFERÊNCIAS

- Agarwal M, Shrivastava N, Padh H (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant cell reports*, 27(4), 617-631.
- Alfonsi, E., Me'heust, E., Fuchs, S., 2013. The use of DNA barcoding to monitor the marine mammal biodiversity along the French Atlantic coast. In: Nagy, Z.T., Backeljau, T., De Meyer, M., Jordaens, K. (Eds.), *DNA barcoding: a practical tool for fundamental and applied biodiversity research*, ZooKeys, 365, pp. 5–24.
- Aliabadian M, Beentjes KK, Roselaar HVB, Nijman, V., & Vonk, R. (2013). DNA barcoding of Dutch birds. *ZooKeys*, (365), 25.
- Allendorf FW, Luikart G (2009) *Conservation and the genetics of populations*. John Wiley & Sons.
- Ardura A, Linde AR, Moreira JC, Garcia-Vazquez E (2010) DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biological Conservation*, 143(6), 1438-1443.
- Ball AO, Beal MG, Chapman RW, Sedberry GR (2007) Population structure of red porgy, *Pagrus pagrus*, in the Atlantic Ocean. *Marine Biology*, 150(6), 1321-1332.
- Ballard JWO, Rand DM (2005) The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annual Review Of Ecology Evolution And Systematics*, 36, 621–642.
- Barber PH, Bellwood DR (2005) Biodiversity hotspots: evolutionary origins of biodiversity in wrasses (*Halichoeres*: Labridae) in the Indo-Pacific and new world tropics. *Molecular phylogenetics and evolution*, 35(1), 235-253.
- Bellwood DR, Wainwright PC (2002) The History and Biogeography of Fishes on Coral Reefs. In: Sale PF (ed.) *Coral Reef Fishes: Dynamics and Diversity in a Complex Ecosystem*. Academic Press, London (pp 5-32).
- Blanco-Bercial L, Cornils A, Copley N, Bucklin A (2014) DNA barcoding of marine copepods: assessment of analytical approaches to species identification. *PLoS currents*, 6.
- Bowen BW, Bass AL, Muss A, Carlin J, Robertson DR (2006) Phylogeography of two Atlantic squirrelfishes (Family Holocentridae): exploring links between pelagic larval duration and population connectivity. *Marine Biology*, 149(4), 899-913.
- Brandão JHSG, de Araújo Bitencourt J, Santos FB, Watanabe LA, Schneider H, Sampaio I, de Mello Affonso PRA (2016) DNA barcoding of coastal ichthyofauna from Bahia, northeastern Brazil, South Atlantic: High efficiency for systematics and identification of cryptic diversity. *Biochemical Systematics and Ecology*, 65, 214-224.
- Briggs JC, Bowen BW (2012) A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *Journal of Biogeography*, 39(1), 12-30.

- Brown JH, Lomolino MV (2006) *Biogeografia*. Ribeirão Preto, SP: Funpec. 691p.
- Bucklin A, Hopcroft RR, Kosobokova KN, Nigro LM, Ortman BD, Jennings RM, Sweetman CJ (2010) DNA barcoding of Arctic Ocean holozooplankton for species identification and recognition. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(1), 40-48.
- Bucklin A, Steinke D, Blanco-Bercial L (2011) DNA barcoding of marine metazoa. *Annual Review of Marine Science*, 3, 471-508.
- Cardenas P, Menegola C, Rapp HT, Diaz MC (2009) Morphological description and DNA barcodes of shallow-water Tetractinellida (Porifera: Demospongiae) from Bocas del Toro, Panama, with description of a new species. *Zootaxa*, 2276, 1-39.
- Castro P, Huber ME (2012) *Biologia marinha*. 8. ed. Porto Alegre, RS: AMGH. 461p.
- Chase MW, Salamin N, Wilkinson M, Dunwell JM, Kesanakurthi RP, Haidar N, Savolainen V (2005) Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1889-1895.
- Clare EL, Lim BK, Engstrom MD, Eger JL, Hebert PD (2007) DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes*, 7(2), 184-190.
- Costa FO, Henzler CM, Lunt DH, Whiteley NM, Rock J (2009) Probing marine Gammarus (Amphipoda) taxonomy with DNA barcodes. *Systematics and Biodiversity*, 7(04), 365-379.
- Cox CB, Moore PD (2013) *Biogeografia: uma abordagem ecológica e evolucionária*. 7. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC,. 398p.
- Cowman PF, Bellwood DR (2013) Vicariance across major marine biogeographic barriers: temporal concordance and the relative intensity of hard versus soft barriers. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 280(1768).
- Derycke S, Fonseca G, Vierstraete A, Vanfleteren J, Vincx M, Moens T (2008) Disentangling taxonomy within the Rhabditis (Pellioditis) marina (Nematoda, Rhabditidae) species complex using molecular and morphological tools. *Zoological journal of the Linnean Society*, 152(1), 1-15.
- De Wit P, Rota E, Erseus C (2009) *Grania* (Annelida: Clitellata: Enchytraeidae) of the Great Barrier Reef, Australia, including four new species and a re-description of *Grania trichaeta* Jamieson, 1977. *Zootaxa*, 2165, 16-38.
- Eberhardt, U. (2012) Methods for DNA barcoding of fungi. In *DNA Barcodes: Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology* (Kress, W.J. and Erickson, D.L., eds), pp. 183–206, Humana Press, Springer Science Publishing Media, LLC.
- Fessler JL, Westneat MW (2007) Molecular phylogenetics of the butterflyfishes (Chaetodontidae): taxonomy and biogeography of a global coral reef fish family. *Molecular phylogenetics and evolution*, 45(1), 50-68.

Floeter SR, Rocha LA, Robertson DR, Joyeux JC, Smith-Vaniz WF, Edwards AJ, Barreiros JP, Ferreira CEL, Gasparini JL, Brito A, Falcon JM, Bowen BW, Bernardi G (2008) Atlantic reef fish biogeography and evolution. *J Biogeogr* 35:22–47.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2004) *Fundamentos de Genética da Conservação*. Ribeirão Preto, SP: SBG (Sociedade Brasileira de Genética), 262p.

Frézal L, Leblois R (2008) Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(5), 727–736.

Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst GDD (2009) Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18(22).

Gissi C, Iannelli F, Pesole G (2008) Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*, 101, 301–320.

Gomez A, Wright PJ, Lunt DH, Cancino JM, Carvalho GR, Hughes RN (2007) Mating trials validate the use of DNA barcoding to reveal cryptic speciation of a marine bryozoan taxon. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274(1607), 199–207.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 270, 313–321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR (2003b) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 270.

Hebert PD, Penton EH, Burns JM, Janzen DH, Hallwachs W (2004a). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(41).

Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM (2004b) Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biol* 2.

Hogg ID, Hebert PDN (2004) Biological identifications of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic using mitochondrial DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*, 82, 749–754.

Jennings RM, Bucklin A, Ossenbrügger H, Hopcroft RR (2010) Species diversity of planktonic gastropods (Pteropoda and Heteropoda) from six ocean regions based on DNA barcode analysis. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(24).

Kemppainen P, Panova M, Hollander J, Johannesson K (2009) Complete lack of mitochondrial divergence between two species of NE Atlantic marine intertidal gastropods. *Journal of evolutionary biology*, 22(10), 2000-2011.

Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102.

Kress WJ, García-Robledo C, Uriarte M, Erickson DL (2015) DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in ecology & evolution*, 30(1), 25-35.

Krishnamurthy PK, Francis RA (2012) A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*, 21(8).

Larsson K, Ahmadzadeh A, Jondelius U (2008) DNA taxonomy of Swedish Catenulida (Platyhelminthes) and a phylogenetic framework for catenulid classification. *Organisms Diversity & Evolution*, 8(5), 399-412.

Lessios HA (2008) The great American schism: divergence of marine organisms after the rise of the Central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 63-91.

Luiz OJ, Madin JS, Robertson DR, Rocha LA, Wirtz P, Floeter SR (2012) Ecological traits influencing range expansion across large oceanic dispersal barriers: insights from tropical Atlantic reef fishes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 279(1730).

Mabragaña E, de Astarloa JMD, Hanner R, Zhang J, Castro MG (2011) DNA barcoding identifies Argentine fishes from marine and brackish waters. *PLoS One*, 6(12).

Machida RJ, Tsuda A (2010) Dissimilarity of species and forms of planktonic *Neocalanus* copepods using mitochondrial COI, 12S, nuclear ITS, and 28S gene sequences. *PLoS one*, 5(4).

Marlow JR, Lange, CB, Wefer, G. & Rosell-Mele, A. (2000) Upwelling intensification as part of the Pliocene-Pleistocene climate transition. *Science*, 290.

Mikkelsen NT, Schander C, Willassen E (2007) Local scale DNA barcoding of bivalves (Mollusca): a case study. *Zoologica Scripta*, 36(5), 455-463.

Miloslavich P, Klein E, Díaz JM, Hernández CE, Bigatti G, Campos LF, Artigas F, Castillo J, Penchaszadeh PE, Neill PE, Carranza A, Retana MV, Díaz de Astarloa JM, . Lewis M, Yorio P, Piriz ML, Rodríguez D, Yoneshigue-Valentin Y, Gamboa L, Carranza A (2011). Marine biodiversity in the Atlantic and Pacific coasts of South America: knowledge and gaps. *PloS one*, 6(1).

Miya M, Takeshima H, Endo H, Ishiguro NB, Inoue JG, Mukai T, Satoh TP, Yamaguchi M, Kawaguchi A, Mabuchi K, Shirai SM, Shirai M N(2003) Major patterns of higher teleostean phylogenies: a new perspective based on 100 complete mitochondrial DNA sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 26(1), 121-138.

Moura CJ, Harris DJ, Cunha MR, Rogers AD (2008) DNA barcoding reveals cryptic diversity in marine hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from coastal and deep-sea environments. *Zoologica Scripta*, 37(1), 93-108.

Moura RL, Amado-Filho GM, Moraes FC, Brasileiro PS, Salomon PS, Mahiques MM, Bastos AC, Almeida MG, Silva JM, Araujo BF, Brito FP, Rangel TP, Oliveira BCV, Bahia RG, Paranhos RP, Dias RJS, Siegle E, Figueiredo AG, Pereira RC, Leal CV, Hajdu E, Asp NE, Gregoracci GB, Neumann-Leitao S, Yager PL, Francini-Filho RB, Froes A, Campeao M, Silva BS, Moreira APB, Oliveira L, Soares AC, Araujo L, Oliveira NL, Teixeira JB, Valle RAB, Thompson CC, Rezende CE, Thompson FL (2016). An extensive reef system at the Amazon River mouth. *Science advances*, 2(4).

Neves JM, Lima SM, Mendes LF, Torres RA, Pereira RJ, Mott T (2016) Population Structure of the Rockpool Blenny *Entomacrodus vomerinus* Shows Source-Sink Dynamics among Ecoregions in the Tropical Southwestern Atlantic. *PloS one*, 11(6).

Ogden R (2008) Fisheries forensics: the use of DNA tools for improving compliance, traceability and enforcement in the fishing industry. *Fish and fisheries*, 9(4), 462-472.

Radulovici AE, Archambault P, Dufresne F (2010) DNA barcodes for marine biodiversity: moving fast forward?. *Diversity*, 2(4), 450-472.

Ratnasingham S, Hebert PD (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364.

Ribeiro ADO, Caires RA, Mariguela TC, Pereira LHG, Hanner R, Oliveira C (2012). DNA barcodes identify marine fishes of Sao Paulo State, Brazil. *Molecular ecology resources*, 12(6).

Robertson DR, Grove JS, McCosker JE (2004) Tropical transpacific shore fishes. *Pacific Science*, 58(4), 507-565.

Rocha LA, Bass AL, Robertson DR, Bowen BW (2002) Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). *Molecular Ecology*, 11(2), 243-251.

Rocha LA (2003) Patterns of distribution and processes of speciation in Brazilian reef fishes. *Journal of Biogeography*, 30(8).

Rocha LA (2004). Mitochondrial DNA and color pattern variation in three western Atlantic *Halichoeres* (Labridae), with the revalidation of two species. *Copeia*, 2004(4), 770-782.

Rocha LA, Robertson DR, Roman J, Bowen BW (2005) Ecological speciation in tropical reef fishes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1563), 573-579.

Rocha LA, Lindeman KC, Rocha CR, Lessios HA (2008) Historical biogeography and speciation in the reef fish genus *Haemulon* (Teleostei: Haemulidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 48(3), 918-928.

Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CA, Robertson J (2007) Marine Ecoregions of the World: a bioregionalization of coast and shelf areas. *BioScience* 57: 573-583.

Steinke D, Zemlak TS, Boutillier JA (2009) DNA barcoding Pacific Canada's fishes. *Mar. Biol.* 156, 2641–2647.

Taylor MS, Hellberg ME (2005) Marine radiations at small geographic scales: speciation in neotropical reef gobies (*Elacatinus*). *Evolution*, 59(2), 374-385.

Trivedi S, Affan R, Alessa A, Hirab A, Ansari A, Dhar B, Mahadani P, Ghosh S (2014) DNA barcoding of Red Sea fishes from Saudi Arabia—the first approach. *DNA Barcodes*, 2(1).

Trivedi S, Aloufi AA, Ansari AA, Ghosh SK (2016) Role of DNA barcoding in marine biodiversity assessment and conservation: An update. *Saudi journal of biological sciences*, 23(2), 161-171.

Uthicke S, Byrne M, Conand C (2010) Genetic barcoding of commercial Bêche-de-mer species (Echinodermata: Holothuroidea). *Molecular Ecology Resources*, 10(4), 634-646.

Vargas SM, Araújo FC, Santos FR (2009) DNA barcoding of Brazilian sea turtles (Testudines). *Genetics and molecular biology*, 32(3), 608-612.

Ward RD, Hanner R, Hebert PD (2009) The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of fish biology*, 74(2), 329-356.

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.

Waugh J (2007) DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *BioEssays*, 29(2), 188-197.

Yoo HS, Eah JY, Kim JS, Min MS, Paek WK, Lee H, Kim C (2006) DNA barcoding Korean birds. *Mol. Cells* 22 (3), 323–327.

ANEXO A- INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Tabela S1. Número de amostras coletadas e obtidas através do banco de dados de domínio público BOLD Systems para quatro províncias biogeográficas da região quente do Atlântico Ocidental

Espécie	Número de amostras obtidas nos bancos de dados para cada província do Atlântico Ocidental estudada				Número de amostras coletadas na província do Brasil (Nordeste)			
	Carolina	Caribe	Brasil		Argentina	Bahia	Natal	Total
			Sudeste	Nordeste				
<i>Abudefduf saxatilis</i>	0	33	2	10	0	6	0	51
<i>Acanthurus bahianus</i>	0	23	0	0	0	6	0	29
<i>Acanthurus chirurgus</i>	0	22	0	3	0	3	8	36
<i>Acanthurus coeruleus</i>	0	26	0	0	0	4	0	30
<i>Achirus lineatus</i>	0	15	13	0	0	0	0	28
<i>Anisotremus virginicus</i>	0	12	2	0	0	0	7	21
<i>Archosargus rhomboidalis</i>	0	17	0	0	0	0	4	21
<i>Bathygobius soporator</i>	0	49	9	0	0	0	0	58
<i>Caranx crysos</i>	0	12	11	0	0	4	7	34
<i>Caranx hipos</i>	0	8	4	0	0	0	1	13
<i>caranx latus</i>	0	6	6	0	0	3	3	18
<i>Chaetodipterus faber</i>	0	7	18	0	0	7	6	38
<i>Chaetodon striatus</i>	0	21	0	0	0	9	0	30
<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	0	7	0	0	0	6	6	19

<i>Citharichthys spilopterus</i>	0	6	13	0	0	0	0	19
<i>Conodon nobilis</i>	0	5	8	0	0	3	0	16
<i>Coryphaena hippurus</i>	0	40	3	0	0	5	0	48
<i>Dactylopterus volitans</i>	0	4	10	0	0	1	0	15
<i>Doratonotus megalepis</i>	0	17	5	0	0	1	0	23
<i>Elops saurus</i>	3	3	4	0	0	0	7	17
<i>Euthynnus alletteratus</i>	2	10	2	0	0	10	5	29
<i>Haemulon parra</i>	0	9	0	0	0	4	7	20
<i>Haemulon plumieri</i>	0	20	0	0	0	3	6	29
<i>Halichoeres radiatus</i>	0	22	0	8	0	0	0	30
<i>Harengula clupeiola</i>	0	26	13	0	0	2	0	41
<i>Kajikia albida</i>	12	20	16	0	0	0	0	48
<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	0	17	4	0	0	0	0	21
<i>Lutjanus synagris</i>	0	30	2	0	0	46	12	90
<i>Menticirrhus americanus</i>	0	5	16	0	0	2	0	23
<i>Merluccius hubbsi</i>	0	10	4	0	0	0	0	14
<i>Micropogonias furnieri</i>	0	8	18	0	0	0	0	26
<i>Mugil curema</i>	0	14	22	0	2	0	20	58
<i>Mugil liza</i>	0	6	31	0	16	0	0	53
<i>Ocyurus chrysurus</i>	6	34	6	0	0	5	3	54
<i>Opisthonema oglinum</i>	0	5	6	0	0	0	1	12
<i>Percophis brasiliensis</i>	0	9	5	0	0	0	0	14
<i>Polydactylus virginicus</i>	0	8	2	0	0	2	3	15
<i>Pomatomus saltatrix</i>	8	6	23	0	5	0	0	42
<i>Pseudupeneus maculatus</i>	0	9	0	0	0	38	0	47
<i>Rhomboplites aurorubens</i>	0	10	4	0	0	0	0	14
<i>Scomberomorus cavalla</i>	9	5	0	0	0	4	0	18
<i>Scomberomorus regalis</i>	4	7	2	0	0	3	0	16
<i>Scorpaena plumieri</i>	0	15	3	0	0	1	0	19
<i>Selene vomer</i>	0	8	5	0	0	2	0	15
<i>Sparisoma radians</i>	0	11	0	0	0	25	0	36
<i>Sphoeroides testudineus</i>	0	15	6	0	0	0	0	21
<i>Stegastes variabilis</i>	0	40	0	0	0	10	0	50

<i>Tetrapturus georgii</i>	9	8	11	0	0	0	0	28
<i>Tetrapturus pfluegeri</i>	3	8	14	0	0	0	0	25
<i>Thunnus albacares</i>	5	3	0	0	0	3	0	11
<i>Thunnus atlanticus</i>	0	17	5	0	0	0	0	22
<i>Trachinotus carolinus</i>	0	7	10	0	0	1	0	18
<i>Xiphias gladius</i>	9	0	0	0	0	0	7	16
<i>Xyrichtys novacula</i>	0	6	0	0	0	4	0	10

Tabela S2. Características biológicas das espécies utilizadas neste estudo. As espécies que apresentaram divergências genéticas estão sublinhadas. Fonte: Fishbase

Ordem	Família	Espécie	Tamanho do corpo (cm)	Profundidade (m)	Forma cardumes	Uso múltiplo do habitat
<u>Clupeiformes</u>	<u>Clupeidae</u>	<u>Harengula clupeola</u>	<u>18</u>	<u>50</u>	<u>SIM</u>	<u>SIM</u>
Clupeiformes	Clupeidae	<i>Opisthonema oglinum</i>	38	50	SIM	SIM
<u>Elopiformes</u>	<u>Elopidae</u>	<u>Elops saurus</u>	<u>100</u>	<u>50</u>	<u>SIM</u>	<u>SIM</u>
Gadiformes	Merlucciidae	<i>Merluccius hubbsi</i>	95	800	SIM	NÃO
Mugiliformes	Mugilidae	<i>Mugil curema</i>	90	30	SIM	SIM
Mugiliformes	Mugilidae	<i>Mugil liza</i>	80	40	SIM	SIM
<u>Peciformes</u>	<u>Acanthuridae</u>	<u>Acanthurus bahianus</u>	<u>35</u>	<u>38</u>	<u>SIM</u>	<u>SIM</u>
Peciformes	Acanthuridae	<i>Acanthurus chirurgus</i>	34	23	SIM	SIM
Peciformes	Acanthuridae	<i>Acanthurus coeruleus</i>	36	38	SIM	SIM
Peciformes	Carangidae	<i>Caranx crysos</i>	70	100	SIM	SIM
Peciformes	Carangidae	<i>Caranx hippos</i>	124	350	SIM	SIM
Perciformes	Carangidae	<i>caranx latus</i>	101	140	SIM	SIM
<u>Perciformes</u>	<u>Carangidae</u>	<u>Chloroscombrus chrysurus</u>	<u>65</u>	<u>55</u>	<u>SIM</u>	<u>SIM</u>
Perciformes	Carangidae	<i>Selene vomer</i>	48,3	53	SIM	SIM
Perciformes	Carangidae	<i>Trachinotus carolinus</i>	64	70	SIM	SIM
Perciformes	Chaetodontidae	<i>Chaetodon striatus</i>	16	55	NÃO	SIM
Perciformes	Coryphaenidae	<i>Coryphaena hippurus</i>	210	85	SIM	SIM
Perciformes	Ephippidae	<i>Chaetodipterus faber</i>	91	35	SIM	SIM
<u>Peciformes</u>	<u>Gobiidae</u>	<u>Bathygobius soporator</u>	<u>15</u>	<u>16</u>	<u>NÃO</u>	<u>SIM</u>
Perciformes	Haemulidae	<i>Anisotremus virginicus</i>	40	18	SIM	NÃO
Perciformes	Haemulidae	<i>Conodon nobilis</i>	33,6	100	SIM	NÃO
Perciformes	Haemulidae	<i>Haemulon parra</i>	41	27	SIM	SIM
<u>Perciformes</u>	<u>Haemulidae</u>	<u>Haemulon plumierii</u>	<u>53</u>	<u>37</u>	<u>NÃO</u>	<u>SIM</u>
Perciformes	Istiophoridae	<i>Kajikia albida</i>	300	150	NÃO	NÃO
Perciformes	Istiophoridae	<i>Tetrapturus georgii</i>	184	200	NA	NÃO
Perciformes	Istiophoridae	<i>Tetrapturus pfluegeri</i>	254	200	NA	NÃO
Perciformes	Labridae	<i>Doratonotus megalepis</i>	9,4	14	NÃO	SIM
Perciformes	Labridae	<i>Halichoeres radiatus</i>	51	53	NÃO	SIM
<u>Perciformes</u>	<u>Labridae</u>	<u>Xyrichtys novacula</u>	<u>38</u>	<u>89</u>	<u>NÃO</u>	<u>SIM</u>

Perciformes	Labrisomidae	<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	22	10	NÃO	SIM
Perciformes	Lutjanidae	<i>Lutjanus synagris</i>	71	390	SIM	SIM
Perciformes	Lutjanidae	<i>Ocyurus chrysurus</i>	86	180	SIM	SIM
Perciformes	Lutjanidae	<i>Rhomboplites aurorubens</i>	60	300	SIM	NÃO
Perciformes	Mullidae	<i>Pseudupeneus maculatus</i>	30	90	SIM	NÃO
Perciformes	Percophidae	<i>Percophis brasiliensis</i>	53,3	180	NA	NÃO
<u>Perciformes</u>	<u>Polynemidae</u>	<u><i>Polydactylus virginicus</i></u>	<u>33</u>	<u>55</u>	<u>SIM</u>	<u>SIM</u>
Perciformes	Pomacentridae	<i>Abudefduf saxatilis</i>	23	20	SIM	NÃO
<u>Perciformes</u>	<u>Pomacentridae</u>	<u><i>Stegastes variabilis</i></u>	<u>12,5</u>	<u>30</u>	<u>NÃO</u>	<u>NÃO</u>
<u>Perciformes</u>	<u>Pomatomidae</u>	<u><i>Pomatomus saltatrix</i></u>	<u>130</u>	<u>200</u>	<u>SIM</u>	<u>NÃO</u>
Perciformes	Scaridae	<i>Sparisoma radians</i>	20	12	SIM	NÃO
Perciformes	Sciaenidae	<i>Menticirrhus americanus</i>	50	40	SIM	SIM
Perciformes	Sciaenidae	<i>Micropogonias furnieri</i>	60	60	SIM	SIM
Perciformes	Scombridae	<i>Euthynnus alletteratus</i>	122	150	SIM	SIM
Perciformes	Scombridae	<i>Scomberomorus regalis</i>	183	20	SIM	NÃO
Perciformes	Scombridae	<i>Thunnus albacares</i>	239	250	SIM	SIM
Perciformes	Scombridae	<i>Thunnus atlanticus</i>	108	50	SIM	NÃO
<u>Perciformes</u>	<u>Serranidae</u>	<u><i>Diplectrum bivittatum</i></u>	<u>25</u>	<u>100</u>	<u>NÃO</u>	<u>NÃO</u>
Perciformes	Sparidae	<i>Archosargus rhomboidalis</i>	33	29	NÃO	SIM
Perciformes	Xiphiidae	<i>Xiphias gladius</i>	455	800	NÃO	NÃO
<u>Pleuronectiformes</u>	<u>Achiridae</u>	<u><i>Achirus lineatus</i></u>	<u>23</u>	<u>20</u>	<u>NÃO</u>	<u>SIM</u>
<u>Pleuronectiformes</u>	<u>Paralichthyidae</u>	<u><i>Citharichthys spilopterus</i></u>	<u>20</u>	<u>75</u>	<u>NÃO</u>	<u>SIM</u>
Scorpaeniformes	Dactylopteridae	<i>Dactylopterus volitans</i>	45	99	NÃO	SIM
<u>Scorpaeniformes</u>	<u>Scorpaenidae</u>	<u><i>Scorpaena plumieri</i></u>	<u>45</u>	<u>59</u>	<u>NÃO</u>	<u>SIM</u>
Tetraodontiformes	Tetraodontidae	<i>Sphoeroides testudineus</i>	38,8	48	NÃO	SIM

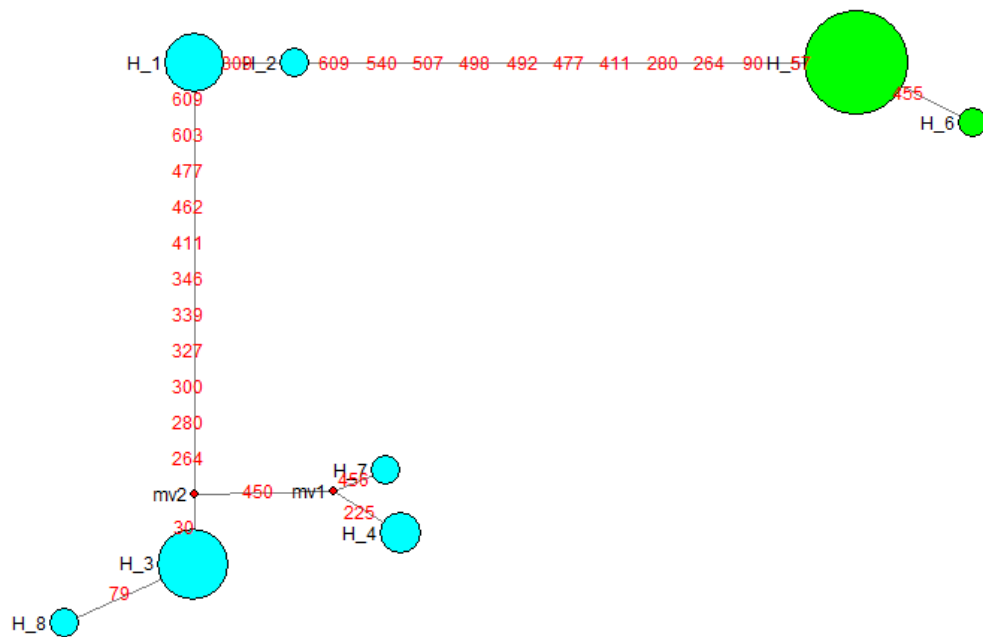


Figura S2. Rede de haplótipos dos espécimes de *Achirus lineatus* coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo (H_) e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números em vermelho indicam a posição da mutação e os círculos indicam haplótipos perdidos ou não amostrados.

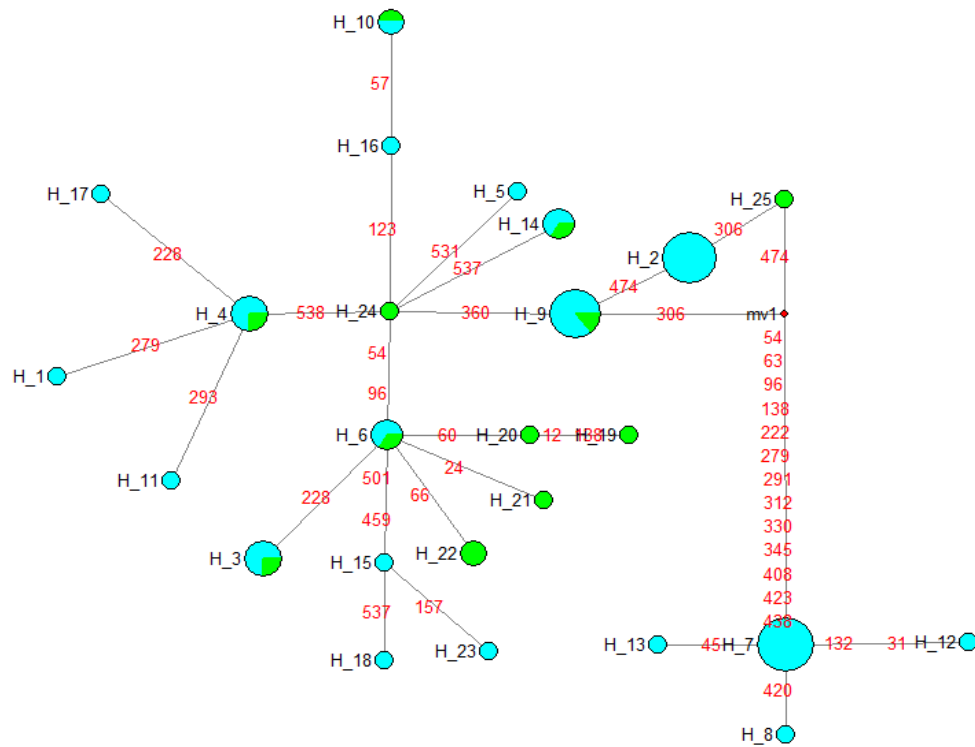


Figura S3. Rede de haplótipos dos espécimes de *Bathygobius soporator* coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo (H_) e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números em vermelho indicam a posição da mutação e os círculos indicam haplótipos perdidos ou não amostrados.

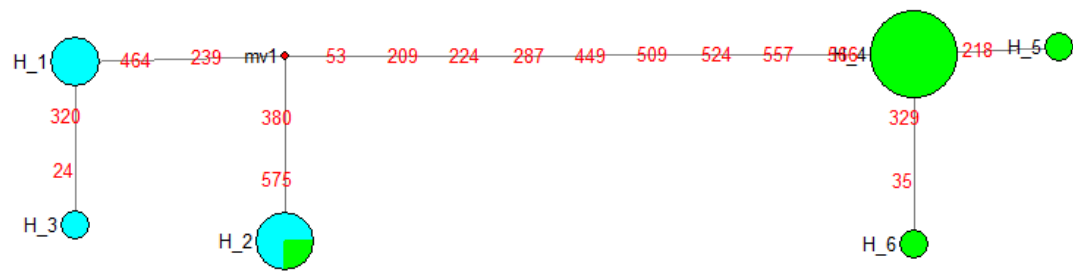


Figura S4. Rede de haplótipos dos espécimes de *Chloroscombrus chrysurus* coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo (H_) e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números em vermelho indicam a posição da mutação e os círculos indicam haplótipos perdidos ou não amostrados.

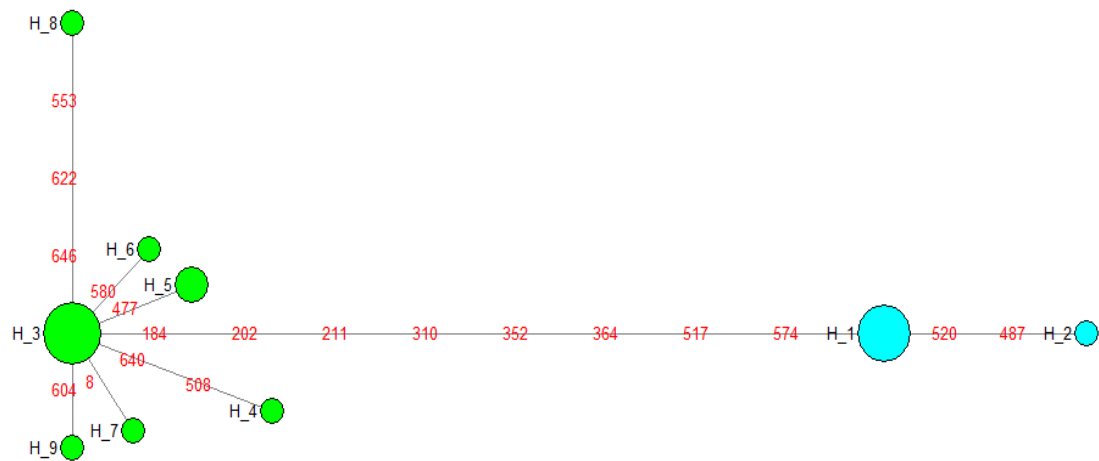


Figura S5. Rede de haplótipos dos espécimes de *Citharichthys spilopterus* coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo (H_) e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números em vermelho indicam a posição da mutação e os círculos indicam haplótipos perdidos ou não amostrados.

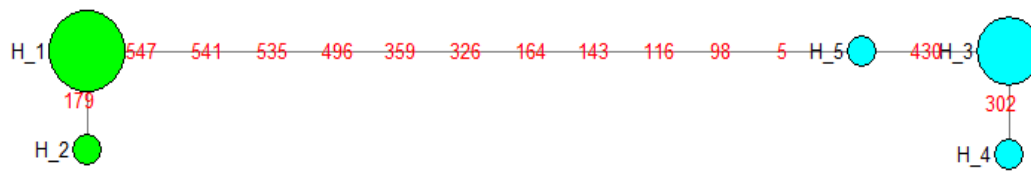


Figura S8. Rede de haplótipos dos espécimes de *Polydactylus virginicus* coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo (H_) e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números em vermelho indicam a posição da mutação e os círculos indicam haplótipos perdidos ou não amostrados.

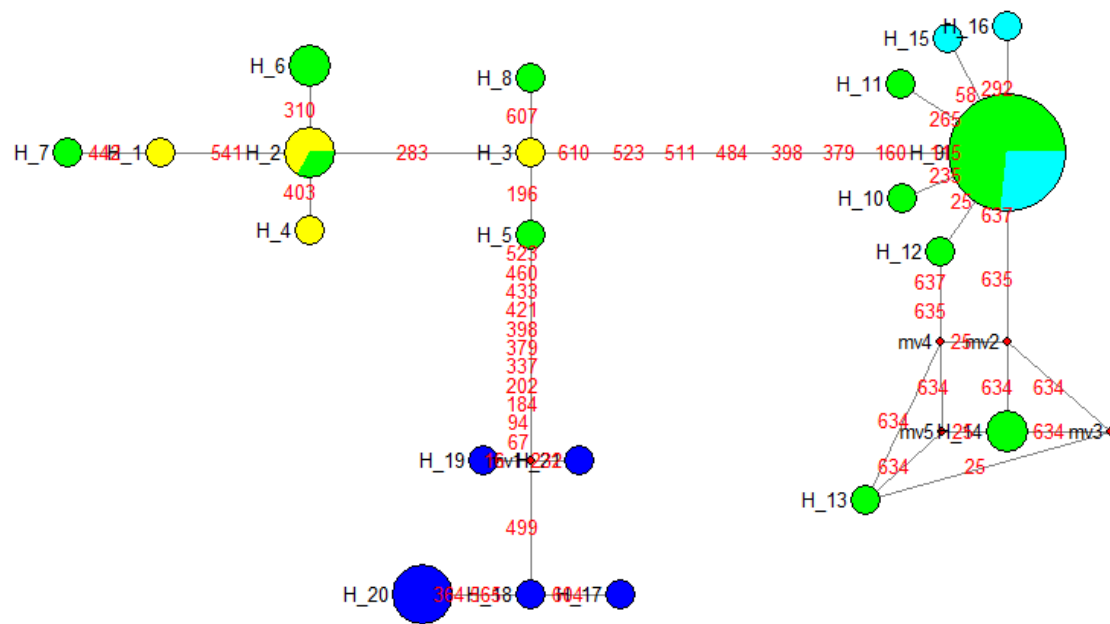


Figura S9. Rede de haplótipos dos espécimes de *Pomatomus saltatrix* coletados ao longo de províncias biogeográficas do Atlântico Ocidental. Cada círculo representa um haplótipo (H_) e o tamanho da circunferência representa a frequência do haplótipo na população estudada. As cores indicam onde o haplótipo foi coletado. Azul escuro: província da Carolina; Azul turquesa: província do Caribe; Verde: Brasil; Amarelo: província da Argentina. Os números em vermelho indicam a posição da mutação e os círculos indicam haplótipos perdidos ou não amostrados (mv).

