

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos
Trópicos

JESSIKA MARIA DE MOURA NEVES

**FILOGEOGRAFIA DE *Entomacrodus vomerinus* (VALENCIENNES, 1836)
(TELEOSTEI: BLENNIIDAE) NA PROVÍNCIA ATLÂNTICO SUDOESTE TROPICAL:
EXISTE CONECTIVIDADE ENTRE HABITATS OCEÂNICOS E CONTINENTAIS?**

MACEIÓ - ALAGOAS
Fevereiro/2015

JESSIKA MARIA DE MOURA NEVES

**FILOGEOGRAFIA DE *Entomacrodus vomerinus* (VALENCIENNES, 1836)
(TELEOSTEI: BLENNIIDAE) NA PROVÍNCIA ATLÂNTICO SUDOESTE TROPICAL:
EXISTE CONECTIVIDADE ENTRE HABITATS OCEÂNICOS E CONTINENTAIS?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Conservação da Biodiversidade Tropical.

Orientadora: Profa. Dra. Tamí Mott

**Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Augusto
Torres**

**MACEIÓ - ALAGOAS
Fevereiro/2015**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário: Valter dos Santos Andrade

N518f Neves, Jessika Maria de Moura.
 Filogeografia de *Entomacrodus vomerinus* (Valenciennes, 1836)
 (Teleostei: Blenniidae) na província Atlântico Sudoeste Tropical: existe
 conectividade entre habitats oceânicos e continentais?/ Jessika Maria de
 Moura Neves. – 2015.
 75 f. : il.

 Orientadora: Tamí Mott.
 Coorientador: Rodrigo Augusto Torres.
 Dissertação (mestrado em Diversidade Biológica e Conservação
 nos Trópicos) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de
 Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em
 Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos. Maceió, 2015.

 Inclui Bibliografia.
 Apêndices: f. 69-75.

 1. Peixe recifal - Brasil. 2. Bleniídeo. I. Título.

CDU: 597.586.2

Folha de aprovação

Jessika Maria de Moura Neves

FILOGEOGRAFIA E CONECTIVIDADE DE HABITATS INSULARES E CONTINENTAIS DE *Entomacrodus vomerinus* (VALENCIENNES, 1836) (TELEOSTEI: BLENNIIDAE)

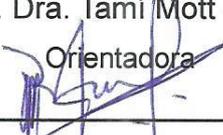
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Conservação da Biodiversidade Tropical.

Dissertação aprovada em 27 de fevereiro de 2015.



Profa. Dra. Tamí Mott - UFAL

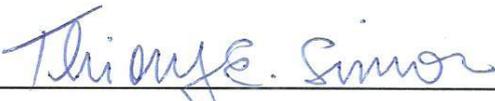
Orientadora



Prof. Dr. Rodrigo Augusto Torres
(Co-orientador)



Prof. Dr. Uedson Pereira Jacobina/UFPE
(membro titular)



Prof. Dr. Thiony Emanuel Simon/UFPE
(membro titular)



Prof. Dr. Cláudio Luis Santos Sampaio/UFAL
(membro titular)

MACEIÓ - AL
Fevereiro / 2015

*Aos meus pais e irmãos,
por tudo, sempre!*

AGRADECIMENTOS

Ao programa de pós-graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos e à Universidade Federal de Alagoas, pela oportunidade em dar mais um passo rumo ao futuro;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

À minha orientadora Prof^a Dr^a Tamí Mott, por todo o carinho, dedicação, amizade e puxões de orelha que me transformaram em uma pessoa melhor, proporcionando grande crescimento pessoal e profissional;

Ao Prof. Dr. Sergio Lima e à Prof^a Dr^a Liana Mendes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, por me confiarem este projeto;

Ao Prof. Dr. Rodrigo Torres, pela coorientação e amizade;

À equipe do Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental (LAGEA) da Universidade Federal de Pernambuco: Caio Falcão, Danielle Maia, Emilly Benevides, Flávia Andrade, Gabriela Defavari, Melina Genú, Tainá e Uedson Jacobina, e à Heidi Lacerda da Plataforma de Sequenciamento, por toda a ajuda;

Ao Prof. Dr. Ronaldo Angelini, MSc. Waldir Berbel e Luciano Neto da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pelo apoio;

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva, Dr^a Iede e MSc. Gustavo Reis do Laboratório de DNA Forense, por todo apoio durante o processamento molecular;

Aos Profs. Drs. Cláudio Sampaio, Vandick Batista, Richard Ladle, Ana Malhado, Nídia Fabr e e Thiony Simon pelas valiosas contribui es;

Aos companheiros de laboratório: Giovana, Larissa e João, por todos os ensinamentos e companheirismo, e especialmente   Gesika Matias, por toda cumplicidade;

Aos amigos de curso:  lvaro, Andr e, Anyelet, Flávia, Gabriela, Gustavo, John, Rafael, Rodolfo e Uoxitu;

À amiga Poliana Gabriele e sua colega Mariana Winandy, por me receberem com muito carinho em sua casa em Natal;

Ao meu xuxuzinho, Yumi Asakura, por tanto amor e amizade, além de todo o suporte logístico em Recife, e aos seus amigos por se fazerem meus, principalmente Samara Rodrigues e Anderson Lino;

Às minhas ocitocinas: Bekazovyskis (Rebeka Feitosa) e Bruguela Maria (Olga Carolyne), por trazerem mais sorrisos aos meus dias;

Ao meu companheiro, Rafael Torres que, apesar da saudade, compreendeu minha ausência e meu estresse, sempre me dando apoio;

Aos meus amores de quatro patas, Funny e Myke, pelas lambidas nos intervalos;

Aos meus pais, Augusto e Áurea, meus irmãos Augusto e Kaius, minhas cunhadas, Amanda e Juliana, meu sobrinho Gabriel e minha avó Hilda, por todo amor e incentivo;

A Deus, por estar sempre ao meu lado e não me deixar cair;

MUITO OBRIGADA!

“São as nossas escolhas que revelam o que realmente somos,
muito mais do que as nossas qualidades.”

Alvo Dumbledore

RESUMO

Entomacrodus vomerinus (Valenciennes, 1836) é um peixe demersal endêmico da província Atlântico Sudoeste Tropical, habitando poças de maré em ambientes recifais continentais e oceânicos. Por apresentar pequena área de vida (cerca de 4 m²) e ovos adesivos, uma baixa conectividade populacional é esperada na ausência de larvas pelágicas. O objetivo deste estudo foi avaliar a conectividade genética da espécie, através de uma abordagem filogeográfica, fornecendo um arcabouço para estudos de conservação apontando unidades evolutivas significantes (ESU) utilizando três marcadores moleculares. Oitenta e cinco indivíduos amostrados entre 2011 e 2014, pertencentes a quatro ecorregiões foram incluídos, sendo duas compostas por ilhas oceânicas – Ilhas de São Pedro e São Paulo (SS), e Fernando de Noronha (FE) e Atol das Rocas (AR) - e duas do continente – Nordeste do Brasil (costa do Rio Grande do Norte [RN]) e Leste do Brasil (costa da Bahia [BA]). As análises de variância molecular (AMOVA) para os genes mitocondriais Citocromo C Oxidase subunidade I (COI) e Citocromo B (CYTB) revelaram três haplogrupos (SS / FE + AR / RN + BA). A análise Bayesiana de estruturação populacional (BAPS) recuperou um cenário similar, indicando três grupos genéticos em COI e CYTB e quatro grupos para o gene nuclear Rodopsina (RHOD), indicando maiores índices de conectividade genética ao nível desse marcador, uma vez que dois grupos ocorrem em todas as localidades. O F_{ST} pareado para os três marcadores indicou que o fluxo gênico entre os habitats insulares e continentais é restrito, especialmente entre a SS e as demais localidades. O teste de Mantel refutou um cenário de isolamento por distância. A história natural da *E. vomerinus* aponta três ESUs, compatíveis com as subdivisões biogeográficas. A estrutura genética recuperada pode ser atribuída à dispersão larval passiva durante os períodos interglaciais Pleistocênicos e através de correntes oceânicas, seguido pelo isolamento das populações insulares. O fluxo gênico pode ser atualmente reduzido devido a características ecológicas específicas de cada ecorregião que impedem a chegada e assentamento das larvas em outras localidades, além de retenção larval em SS.

Palavras-chave: Conservação, fluxo gênico, biogeografia.

ABSTRACT

Entomacrodus vomerinus (Valenciennes, 1836) is a demersal fish endemic to the Tropical Southwestern Atlantic province, inhabiting tide pools at continental and oceanic reef environments. Because of the small home range (about 4m²) and adhesive eggs, low population connectivity is expected in the absence of pelagic larvae. The objective of this study was to evaluate the genetic connectivity of the species using three molecular markers and a phylogeographic approach, providing a framework for conservation studies by determining evolutionary significant units (ESU). Eighty-five individuals from four ecoregions sampled from 2011 to 2014 were included, two composed of oceanic islands – Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), and Fernando de Noronha (FE) and Atoll das Rocas (AR) - and two of the continent - Northeastern Brazil (coast of Rio Grande do Norte [RN]) and Eastern Brazil (Bahia coast [BA]). The analysis of molecular variance (AMOVA) for mitochondrial genes Cytochrome C Oxidase subunit I (COI) and Cytochrome b (CYTB) revealed three haplogroups (SS / FE + AR / RN + BA). The Bayesian analysis of population structure (BAPS) recovered a similar scenario, indicating three genetic groups in COI and CYTB and four groups for the nuclear rhodopsin gene (RHOD), indicating higher rates of genetic connectivity on this marker as two groups occur in all localities. The F_{ST} paired for the three markers indicated that gene flow between the island and mainland habitats is restricted, especially between the SS and all the other locations. The Mantel test refuted an isolation by distance scenario. The natural history of *E. vomerinus* revealed three ESUs, that agrees with biogeographic subdivisions. The recovered genetic structure can be attributed to passive larval dispersal during Pleistocene interglacial periods and by ocean currents, followed by isolation of individuals in the islands. Gene flow can currently be reduced due to specific ecological characteristics of each ecoregion that prevent the arrival and settlement of larvae in other locations, and larval retention in SS.

Keywords: Conservation, gene flow, biogeography.

LISTA DE FIGURAS

Seção 2

Figura 1 - Regiões tropicais e suas províncias. Em amarelo está destacada a Região Atlântica (Leste e Oeste), as barras verticais indicam a Província Brasileira (BRIGGS; BOWEN, 2012).....25

Figura 2 - Províncias e sua ecorregiões. Província 14 (destacada no retângulo vermelho): Atlântico Sudoeste Tropical; Ecorregião 1: Ilhas de São Pedro e São Paulo; Ecorregião 2: Fernando de Noronha e Atol das Rocas; Ecorregião3: Nordeste do Brasil; Ecorregião 4: Leste do Brasil; Ecorregião 5: Ilhas de Trindade e Martin Vaz. (SPALDING et al., 2007).....25

Seção 3

Figure 1 - Ecoregions sampled and the total number of individuals of *Entomacrodus vomerinus* included in this study. In the right map, gray color represents the Tropical Atlantic realm and the Tropical Southwestern Atlantic province is highlighted in the rectangle (red outline). In the left map, the ecoregions sampled are highlighted, showing the geographical locations of collecting and the total number of individuals per locality.....51

Figure 2 – a Haplotype Networks of *Entomacrodus vomerinus* from Tropical Southwestern Atlantic province. Black numbers inside the circles shows the number of individuals per haplotype, each color represents a locality. b Graphic representation of haplotypes' geographical distribution. Each color represents an haplotype. I COI haplotypes. II CYTB haplotypes. III RHOD haplotypes (phased). Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).....57

Figure 3 - Genetic structure analysis recovered by BAPS of *Entomacrodus vomerinus* from Tropical Southwestern Atlantic province. a COI haplotypes. b CYTB haplotypes. c RHOD haplotypes (phased). Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).....58

LISTA DE TABELAS

Table 1 - Molecular parameters obtained for *Entomacrodus vomerinus*. Cytochrome Oxidase subunit I (COI), Cytochrome b (CYTB) and Rhodopsin (RHOD). Total number of individuals analyzed in each location (N), number of haplotypes (N_H), percentage of exclusive haplotypes (% H_e), number of polymorphic sites (S), haplotype diversity (H), nucleotide diversity (π), F_u , F_s and Tajima's D neutrality tests (significant P values are marked with *). Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).....55

Table 2 - Fixation paired indices of F_{ST} between sampled localities of *Entomacrodus vomerinus* based on fragments of Cytochrome Oxidase subunit I (COI), Cytochrome b (CYTB) and Rhodopsin (RHOD) genes. F_{ST} between 0.05 and 0 = low genetic differentiation, F_{ST} between 0.05 and 0.25 = moderate genetic differentiation, F_{ST} greater than 0.25 = high genetic differentiation. F_{ST} negative can be considered zero. Significant P values are marked with *. Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).....56

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	15
	REFERÊNCIAS	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Filogeografia.....	17
2.1.1	Histórico	17
2.1.2	Marcadores moleculares	17
2.1.2.1	Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI)	20
2.1.2.2	Citocromo B (CYTB).....	21
2.1.2.3	Rodopsina (RHOD)	22
2.1.3	Organismos marinhos e seu habitat	23
2.1.3.1	Classificação biogeográfica marinha	23
2.1.3.2	Filogeografia de peixes marinhos.....	25
2.1.3.3	Ilhas oceânicas brasileiras e padrões de colonização	28
2.2	Peixes.....	31
2.2.1	Diversidade e ecologia	31
2.2.2	Peixes neríticos	32
2.2.2.1	Peixes neríticos e padrões filogeográficos	33
2.2.3	Blenniiformes, Blenniidae e <i>Entomacrodus</i>	35
	REFERÊNCIAS	37
3	Phylogeography of <i>Entomacrodus vomerinus</i> (Teleostei:Blenniidae) in the Tropical Southwestern Atlantic province: is there connectivity between continental and insular habitats?	48
3.1	Introduction.....	49
3.2	Materials and Methods	51
3.2.1	Sampling Design	51
3.2.2	Laboratory Protocol	52
3.2.3	Data Analysis	53
3.3	Results	54

3.4	Discussion	58
3.5	Acknowledgements	62
	REFERENCES	62
4	CONCLUSÕES	68
	APPENDIX	69
	A-Specimens included in this study and the sampled location	69
	B-Anaysis of Molecular Variance (AMOVA)	73

1 APRESENTAÇÃO

Estudos filogeográficos visam determinar a distribuição geográfica das linhagens genealógicas de uma ou mais espécies relacionadas, integrando estudos de genética de populações e filogenia (AVISE et al., 1987). Dessa maneira é possível descrever os padrões biogeográficos e os fatores que determinam a distribuição das espécies em uma região e sua conectividade genética (VERA et al., 2011).

Estudos dessa natureza são importantes para fins conservacionistas, pois a elaboração de planos de manejo deve levar em conta a distribuição da diversidade genética de uma espécie para garantir a manutenção da variabilidade gênica e, conseqüentemente, a adaptabilidade e sobrevivência da espécie (McMAHON et al., 2014).

Entomacrodus vomerinus (Valenciennes, 1836) é um peixe marinho que vive associado a ambientes recifais, habitando poças de maré. Possui comportamento gregário, com pequena área de vida (aproximadamente 4m²), ovos adesivos (MENDES, 2006) e larva pelágica de duração desconhecida. Apesar de não ser considerada ameaçada ou vulnerável pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN), a espécie pode ser afetada por ações antropogênicas como a poluição do litoral, devido aos seus hábitos de vida (WILLIAMS; CRAIG, 2014).

Neste trabalho, o nível de conectividade genética deste peixe recifal foi avaliado através de uma abordagem filogeográfica ao longo de sua distribuição na província Atlântico Sudoeste Tropical. O objetivo geral foi mapear a distribuição genética da espécie e fornecer um arcabouço para estudos de conservação, através da determinação de Unidades Evolutivamente Significativas (ESUs) da espécie.

A presente dissertação se inicia com uma revisão de literatura introduzindo as bases teóricas das temáticas utilizadas. A seguir, o artigo intitulado “Phylogeography of *Entomacrodus vomerinus* (Teleostei: Blenniidae) in the Tropical Southwestern Atlantic province: is there connectivity between continental and insular habitats?” inclui a parte metodológica, os principais resultados encontrados discutindo-os frente as literaturas pertinentes. A parte final é composta por uma conclusão geral, que visa responder aos objetivos delineados.

REFERÊNCIAS

AVISE, J.C. et al. Intraspecific Phylogeography : The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics** v.18, p.489-522, 1987.

McMAHON, B. J.; TELLING, E. C.; HÖGLUND, J. How and why should we implement genomics into conservation? **Evolutionary Applications** v. 7, p. 999-1007, 2014.

MENDES, L. F. História natural dos amborés e peixes-macaco (Actinopterygii, Blennioidei, Gobioidae) do Parque Nacional Marinho do Arquipélago de Fernando de Noronha, sob um enfoque comportamental. **Revista Brasileira de Zoologia** v. 23, n. 3, p. 817–823, 2006.

VERA, M. et al. Phylogeography, genetic structure, and conservation of the endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877), from Iran. **Hydrobiologia** v. 664, p. 51-67, 2011.

WILLIAMS, J. T.; CRAIG, M. T. *Entomacrodus vomerinus*. **The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3**. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 31 mar. 2015.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Filogeografia

2.1.1 Histórico

A filogeografia como disciplina foi proposta em 1987 por J. C. Avise e colaboradores, visando integrar estudos de genética de populações e de filogenia em um contexto biogeográfico. Sendo assim, estudos filogeográficos descrevem os princípios e processos históricos que gerenciam a distribuição geográfica das linhagens genéticas, principalmente dentro e entre as espécies intimamente relacionadas (AVISE, 2000). Com a inclusão de indivíduos coletados ao longo da distribuição geográfica de uma espécie, as forças históricas e contemporâneas que moldam essa distribuição populacional podem ser reveladas (AVISE, 2009).

A distribuição da diversidade genética de uma espécie vem sendo utilizada em estudos sobre biologia da conservação, ecologia e evolução (BEHEREGARAY, 2008), pois os processos evolutivos e ecológicos que geram e mantêm a diversidade biológica atuam tanto ao nível de genes, quanto de espécies e ecossistemas (SPALDING et al., 2007). Em consequência disso, tem havido um aumento no número de artigos publicados envolvendo estudos filogeográficos (BEHEREGARAY, 2008), pois essa disciplina tem se tornado a mais integrativa dentro da biologia evolutiva (HICKERSON et al., 2010). Com o aumento quantitativo, houve também um aumento qualitativo desses estudos, pois a complexidade das hipóteses filogeográficas se desenvolveu e foi necessário incrementar o poder analítico das ferramentas utilizadas (BRITO; EDWARDS, 2009; HICKERSON et al., 2010).

Com análises de múltiplas espécies codistribuídas, originou-se a filogeografia comparada, o que permitiu elucidar a história evolutiva de regiões (MORITZ; FAITH, 1998), determinando como o clima, a geologia e as interações ecológicas atuam na composição e evolução das comunidades (HICKERSON et al., 2010). E ainda, com a adição de dados geoespaciais e das ferramentas de modelagem de distribuição, novas perspectivas para as análises filogeográficas puderam ser alcançadas (CHAN et al., 2011).

Beheregaray (2008) revisou os artigos filogeográficos publicados entre 1987 e 2006 e revelou que as pesquisas envolvendo animais terrestres lideram (65%), os estudos para ambientes marinhos são a minoria, com 17%. Quanto aos grupos taxonômicos, os mamíferos são a maioria (21% dos artigos publicados), enquanto os peixes ficam em segundo lugar com 16%. Além disso, esse levantamento ressaltou que a América do Sul é o segundo continente com menos publicações no tema, perdendo apenas para Antártica (BEHEREGARAY, 2008). Em uma revisão sobre estudos filogeográficos realizados com organismos da América do Sul entre 1987 e 2011, Turchetto-Zolet et al. (2013) revelaram que apenas 28 estudos (13% dos 214 analisados) foram realizados com peixes, mesmo este grupo taxonômico sendo o mais especioso dentre os vertebrados.

Estudos filogeográficos têm grande importância para a conservação das espécies (e.g., FRATINI et al., 2005; SABATINO; ROUTMAN, 2009; VERA et al., 2011; KODANDARAMAIAH et al., 2012; DUFRESNES et al., 2013), pois os planos de manejo devem levar em consideração as Unidades Evolutivamente Significativas (ESU). Essas unidades são definidas com base nas linhagens divergentes dentro de uma espécie e para garantir a variabilidade genética e a manutenção de uma espécie é recomendado preservar a maior diversidade genética possível, isto é, suas ESUs (MORITZ et al. 1994).

2.1.2 Marcadores moleculares

Qualquer parte do genoma de um organismo pode fornecer informações importantes para estudos moleculares (TAUTZ et al., 2003; PLEINES et al., 2009). Entretanto, genomas de organelas são mais utilizados, pois apresentam vantagens sobre o genoma nuclear (PLEINES et al., 2009). Por exemplo, o genoma mitocondrial (DNAm) dos metazoários é bem menor que o genoma nuclear (DNAn) (em humanos por exemplo, DNAm tem cerca de 16 mil pb enquanto que o DNAn tem cerca de 3 bilhões pb, BALLARD; WHITLOCK, 2004). Possui estrutura genética simples quando comparado ao genoma nuclear, que apresenta DNA repetitivo, transposons, pseudogenes e íntrons (AVISE et al., 1987). DNAm é uma molécula circular fechada composta por 37 genes (13 genes codificadores de proteínas, 22 de

RNA transportadores e dois de RNA ribossômicos, ARIAS et al., 2003) apresentando transmissão matrilineal direta, isso é, sem recombinação. Adicionalmente o DNAm evolui em um ritmo rápido de tal forma que novos estados do caráter podem ser observados dentro do tempo de vida de uma espécie (AVISE et al., 1987). E finalmente, a existência de *primers* universais facilitam a amplificação dos genes mitocondriais de interesse (ZHANG; HEWITT, 1996; AVISE, 2009; NEAR; KECK, 2013).

Por ser de origem uniparental, os genótipos de DNAm são ditos haplótipos, diferindo um do outro por mutações acumuladas desde que o último ancestral feminino que foi compartilhado (AVISE, 2009). Por essa mesma razão, DNAm possui um tamanho populacional efetivo quatro vezes menor que o DNAn, coalescendo em uma taxa quatro vezes mais rápida (BIRKY et al., 1989).

Por tudo o que foi exposto e por apresentar considerável variação entre os indivíduos dentro e entre populações, DNAm vem sendo, então, extensivamente utilizado em estudos de evolução e demografia histórica de espécies e populações (HARRISON, 1989; BALLARD; WHITLOCK, 2004; AVISE, 2009) e também em estudos filogeográficos (e.g., MUSS et al., 2001; VOGLER et al., 2013; HOFMANN et al., 2014).

Entretanto, devem ser considerados alguns problemas relacionados à utilização de apenas DNAm em uma análise filogeográfica. Dados mitocondriais caracterizam uma história uniparental, a sequência pode conter heteroplasmia, e as linhagens são rapidamente separáveis devido à alta taxa de variabilidade (ZHANG; HEWITT, 1996). A alta variabilidade traz também o problema da saturação (substituições múltiplas em um único sítio), que pode ser minimizado através da escolha do modelo de substituição nucleotídica adequado (ARBOGAST et al. 2002).

Bowen et al. (2014) sugeriram que um único marcador mitocondrial geralmente é capaz de fornecer uma boa avaliação preliminar dos padrões filogeográficos. Entretanto, é recomendado incrementar o poder analítico das análises através do uso combinado de marcadores mitocondriais com nucleares (TOEWS; BRELSFORD, 2012), pois a integração de informação de diferentes genomas é importante como um controle filogenético interno para validar as sequências obtidas de um grande número de amostras (SEVILLA et al., 2007). Mas, muitos

pesquisadores não utilizam genes nucleares em estudos filogeográficos justamente porque as regiões codificadoras de proteínas (éxons) possuem baixo número de sítios variáveis em relação ao DNAm (NEAR; KECK, 2013).

Uma alternativa a essa questão tem sido a utilização das regiões de DNA nuclear não-codificantes (íntrons), por evoluírem geralmente em taxas mais aceleradas do que seus éxons adjacentes codificadores de proteínas (AVISE, 2009). A estratégia chamada EPIC (exon-primer intron-crossing) consiste em utilizar as regiões flangeadoras altamente conservadas de éxons para desenvolver *primers* para o sequenciamento de íntrons, essa técnica vem sendo utilizada de forma crescente (CRAIG et al., 2009; SILVA-OLIVEIRA et al., 2013).

No entanto, a maioria dos estudos filogeográficos vem sendo realizada com dados apenas de DNAm (cerca de 72% dos artigos filogeográficos publicados no mundo até 2006 utilizaram apenas o DNAm), apesar do uso de marcadores nucleares estar crescendo (BEHEREGARAY, 2008).

Diferenças no padrão de dispersão entre machos e fêmeas, diferenças nas taxas evolutivas e tempo de coalescência entre os marcadores mitocondriais e nucleares, e hibridização introgressiva de marcadores das organelas provocaram discordância entre os padrões obtidos com genes mitocondriais e nucleares em 28% dos estudos filogeográficos (17 de 61) realizados com organismos da América do Sul (TURCHETTO-ZOLET et al., 2013).

2.1.2.1 Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI)

Hebert et al. (2003) propuseram a utilização do gene mitocondrial codificador de proteína Citocromo C Oxidase subunidade I (COI) como um sistema global de bioidentificação (WARD et al., 2005). O argumento de Hebert et al. (2003) para utilizar o COI como o código de barras (DNA *barcode*) é que este marcador parece possuir uma maior amplitude de sinais filogenéticos do que qualquer outro gene mitocondrial. Em comum com outros genes codificadores de proteína, o nucleotídeo da terceira posição do códon exibe maior taxa de substituição de base. Além disso, a evolução desse gene é rápida o suficiente para permitir a discriminação de

espécies intimamente relacionadas, bem como grupos filogeográficos dentro de uma mesma espécie.

A meta inicial do projeto DNA *barcode* foi a criação de uma biblioteca de referência de sequências *barcode* para todas as espécies conhecidas. *The Barcode of Life Data System* (BOLD – <http://www.barcodinglife.org>) é um depósito para os registros de sequências *barcode*, fornecendo um veículo que facilita a colaboração entre a comunidade científica (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007), já tendo sido depositadas sequências de 158.083 espécies animais.

Para animais, a pesquisa com DNA *barcode* utiliza um fragmento de ~650 pb do COI, o qual pode ser prontamente recuperado para diversas espécies com um conjunto limitado de *primers* (KERR et al., 2007). Em geral, pesquisadores têm utilizado um limite de 2% de divergência como valor de corte para a delimitação das espécies. Este limite é baseado na distribuição dos valores de distância genética intra e inter-específica utilizando o modelo de substituição de nucleotídeos Kimura-2-parâmetros (K2P) nas espécies da biblioteca *barcode* (PEREIRA et al., 2013).

A importância econômica e desafios na identificação de peixes levaram ao lançamento de uma iniciativa internacional com o objetivo de identificar, através do *barcode*, todas as espécies de peixes, denominada *Fish Barcoding of Life* (FISH-BOL - <http://www.fishbol.org/>) (HUBERT et al., 2008). Esse projeto tem feito grandes progressos, sequenciando quase 108 mil espécimes representantes de quase 11 mil espécies atuais. No BOLD existe registro de sequências *barcode* para 15.451 espécies de Actinopterygii.

2.1.2.2 Citocromo B (CYTB)

Entre os genes mitocondriais, o CYTB tem sido amplamente utilizado em peixes para estudos de genética de populações e relações filogenéticas (QI et al., 2006), padrões biogeográficos (MUSS et al., 2001; ÓLAFSDÓTTIR et al., 2014; WANG et al., 2014) e taxonomia (PARSON et al., 2000), permitindo a resolução das relações entre táxons intimamente relacionados, bem como a determinação de relações taxonômicas em níveis hierárquicos superiores (TAUTZ et al., 2003).

A taxa evolutiva do CYTB é apropriada para investigar eventos que ocorreram nos últimos 20 milhões de anos (QI et al., 2006). Entretanto, Guo e Chen (2010) e Cantatore et al. (1994) argumentaram que o CYTB não parece adequado para estudos de inferências filogenéticas em nível de família e ordem, pois os padrões de substituição nucleotídica não são homogêneos, ocorrendo mutações em regiões intercaladas curtas e deixando o restante do gene praticamente invariável.

Entretanto, já foi demonstrado que o desempenho filogenético do CYTB é comparável com o do COI (ZARDOYA; MEYER, 1996). Estes genes são mais conservados, apresentam taxas evolutivas lentas ao nível de aminoácidos, ou seja, na primeira e segunda posição do códon, e acumulam mutações neutras na terceira posição. Isso faz do CYTB um bom marcador molecular, com variabilidade genética necessária para detecção de fluxo gênico (ZUÑIGÁ-VEJA et al., 2014).

De fato, o CYTB foi utilizado em uma análise filogeográfica incluindo 130 indivíduos de *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae) provenientes de 12 localidades na costa da América do Sul. Este marcador revelou estruturação genética entre habitats tropicais e subtropicais (SANTOS et al., 2006). Posteriormente foi reconhecido que se tratam de duas espécies: *M. ancylodon* e *M. atricauda* (CARVALHO-FILHO et al., 2010; CARDOSO et al., 2012). Já para os 1.151 indivíduos de *Eleutheronema tetradactylum* (Polynemidae) provenientes de quatro localidades do leste e do sul da China, diferenças regionais em larga escala não foram encontradas utilizando este marcador, embora uma diversidade genética significativa entre as localidades tenha sido detectada (WANG et al., 2014). Esses estudos demonstram a sensibilidade do marcador para análises filogeográficas.

Devido a sua ampla utilização em estudos intra e inter-específicos, o CYTB vem sendo utilizado na identificação de espécies de peixes para fins forenses com uma metodologia semelhante a do DNA *barcode* (PARSON et al., 2000; SEVILLA et al., 2007).

2.1.2.3 Rodopsina (RHOD)

Rodopsina é um pigmento visual que medeia a visão na penumbra. Esse pigmento é interessante de ser estudado em peixes porque a visão desses animais evoluiu em resposta a ambientes fóticos específicos (YOKOYAMA et al., 1995).

Embora o gene nuclear que codifica essa proteína não possua íntrons em peixes ósseos (YOKOYAMA et al., 1995) e já tenha sido usado em estudos filogenéticos (CHEN et al. 2003; SEVILLA et al., 2007), Larmuseau et al. (2010) e Roje et al. (2014) sugeriram que a rodopsina não deve ser utilizado como marcador neutro em análises filogenéticas justamente por estar sob seleção positiva no ambiente aquático, tendo sido demonstrado que as filogenias de espécies de gobiídeos com gene mitocondrial e com rodopsina não foram congruentes (LARMUSEAU et al., 2010). Além disso, o gênero *Elacatinus* (Gobiidae) se mostrou polifilético quando analisado por esse gene (LARMUSEAU et al., 2011).

Entretanto, em um estudo filogeográfico de dois peixes interditaes da África do Sul (*Clinus superciliosus* e *Muraenoclinus dorsalis*, Clinidae), RHOD apresentou variabilidade genética suficiente para detectar quebras filogeográficas assim como os genes mitocondriais, e os resultados obtidos com estes diferentes marcadores foram concordantes (VON DER HEYDEN et al., 2011).

2.1.3 Organismos marinhos e seu habitat

2.1.3.1 Classificação biogeográfica marinha

O ambiente marinho é o maior da Terra, cobrindo 70% da área do planeta (WORM et al., 2003). Dispersão e conectividade nesse ambiente são determinantes primários da estabilidade evolutiva, distribuição espacial e persistência das espécies e comunidades (BRADBURY et al., 2008). A maioria dos peixes marinhos habita a zona nerítica (junto à costa) que engloba toda a área da plataforma continental (ASTARLOA, 2010), incluindo a porção submersa do continente, apresentando pequena declividade em direção ao mar aberto. A mudança acentuada na declividade define a quebra da plataforma e a passagem para o talude continental (TESSLER; MAHIQUES, 2000), onde se inicia a zona oceânica.

Várias subdivisões biogeográficas já foram propostas para as áreas de costa e de plataforma continental dos ambientes marinhos do mundo. Briggs (1974) se baseou no número de espécies endêmicas para definir províncias biogeográficas. Nesse trabalho foi descrita a Província Brasileira, que após sugestões de outros pesquisadores (FLOETER et al., 2001; FLOETER et al., 2008) teve sua área geográfica ampliada. Em um trabalho recente, Briggs e Bowen (2012) redescreveram a Província Brasileira, agora incluindo além da área desde a boca do rio Amazonas até o estado de Santa Catarina, as ilhas oceânicas Arquipélago de Fernando de Noronha, Atol das Rocas, Arquipélago de São Pedro e São Paulo e Ilha da Trindade (Fig. 1).

Spalding et al. (2007) propuseram uma classificação muito semelhante a proposta de Briggs e Bowen (2012) (Fig. 2), exceto pela subdivisão das províncias em ecorregiões que visou facilitar os esforços conservacionistas. Nessa classificação três níveis hierárquicos foram propostos: 1) domínio: regiões que compartilham uma única história evolutiva, com altas taxas de endemismo, sendo a temperatura da água e o isolamento histórico os fatores que gerenciam essa biota única; 2) província: áreas dentro dos domínios, definidas pela presença de biotas distintas com alguma coesão dentro de um período de tempo evolutivo, com certo grau de endemismo principalmente no nível de espécie. Características geomorfológicas, geoquímicas e hidrográficas exercem grande influência nessa biota; 3) ecorregião: menor unidade desse sistema de classificação, sendo a composição das espécies homogênea e claramente distinta das áreas adjacentes. No total foram definidos 12 domínios, 62 províncias e 232 ecorregiões no ambiente marinho.

A costa do Brasil segundo proposta de Spalding e colaboradores (2007) está incluída em dois domínios e três províncias, sendo a província Atlântico Sudoeste Tropical a única inteiramente brasileira. Essa província está inserida no domínio Atlântico Tropical e está dividida em cinco ecorregiões: 1) Ilhas de São Pedro e São Paulo, 2) Fernando de Noronha e Atol das Rocas, 3) Nordeste do Brasil, 4) Leste do Brasil e 5) Ilhas de Trindade e Martin Vaz.

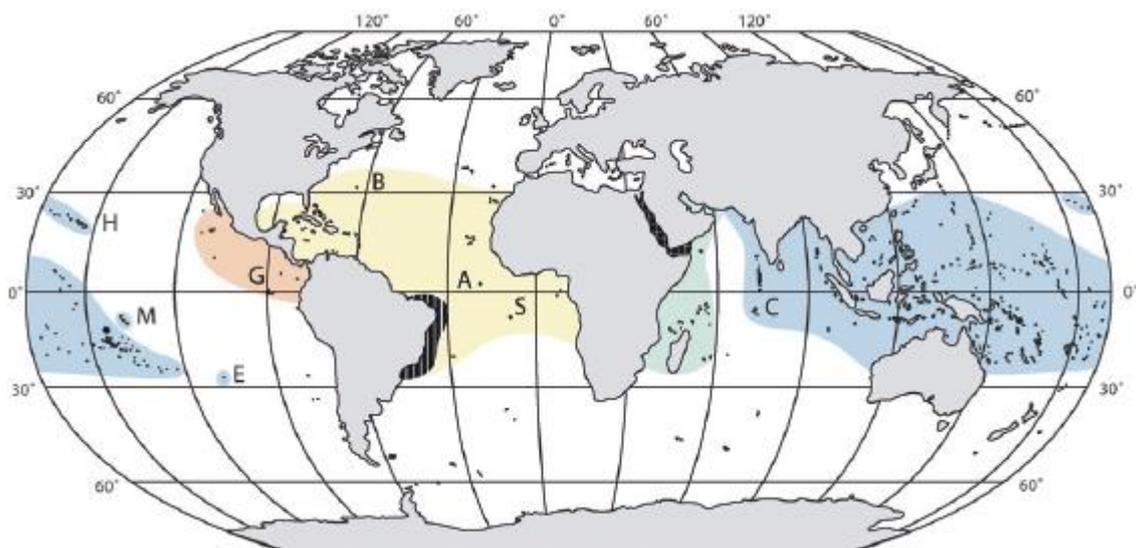


Fig. 1 - Regiões tropicais e suas províncias. Em amarelo está destacada a Região Atlântica (Leste e Oeste), as barras verticais indicam a Província Brasileira (BRIGGS; BOWEN, 2012).

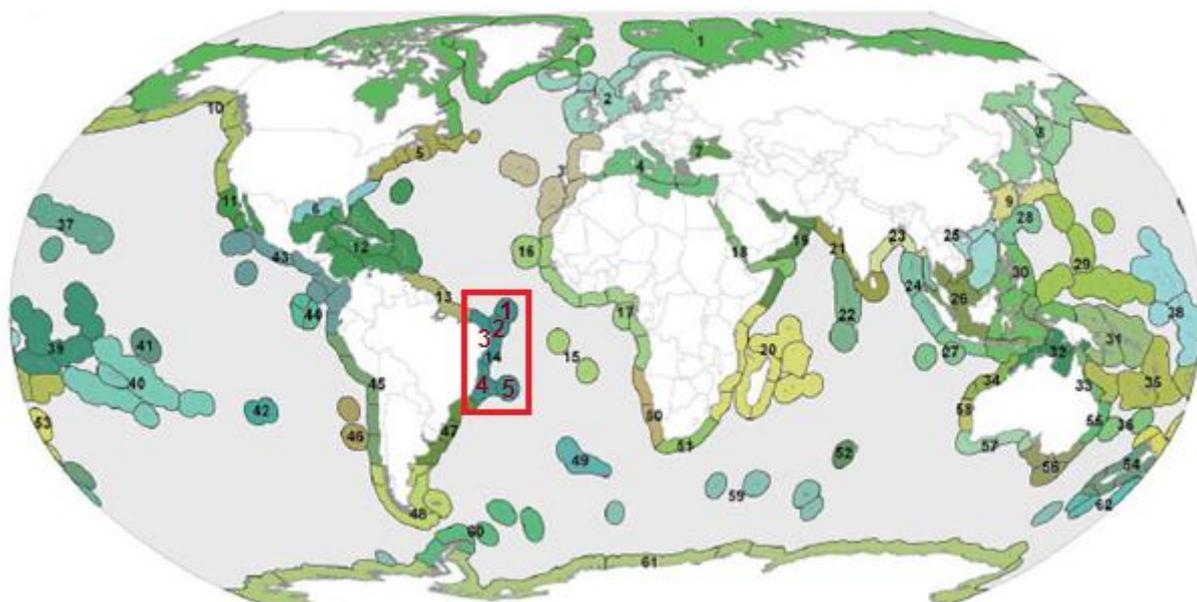


Fig. 2 - Províncias e sua ecorregiões. Província 14 (destacada no retângulo vermelho): Atlântico Sudoeste Tropical; Ecorregião 1: Ilhas de São Pedro e São Paulo; Ecorregião 2: Fernando de Noronha e Atol das Rocas; Ecorregião 3: Nordeste do Brasil; Ecorregião 4: Leste do Brasil; Ecorregião 5: Ilhas de Trindade e Martin Vaz. (SPALDING et al., 2007).

2.1.3.2 Filogeografia de peixes marinhos

Um desafio em pesquisar a conectividade entre populações em um habitat semi-contínuo como o oceano encontra-se em definir o que constitui uma população, subpopulação ou mancha populacional (KOOL et al., 2013). Nesse ambiente, as causas de diferenciação genética algumas vezes não são evidentes e barreiras

geográficas ou físico-químicas muitas vezes não são tão notáveis (LESSIOS et al., 2001). Por isso, antes se acreditava que o acúmulo de divergências genéticas poderia ser retardado em peixes marinhos com amplo potencial de dispersão (BOWEN; GRANT, 1997; AVISE, 2000; BOWEN et al., 2001). Como resultado, as populações marinhas foram por muito tempo vistas como demograficamente abertas, com isolamento genético difícil de ser encontrado, mesmo em longo prazo (HELLBERG, 2009).

No entanto, hoje é consenso que várias características específicas, como sistema de acasalamento e fertilização, biologia larval, tamanho populacional e ecologia, além de aspectos hidrodinâmicos, podem moldar os padrões genéticos encontrados nas populações (ROCHA et al., 2002; COWEN et al., 2007; BOWEN et al., 2014). Dessa forma, a conectividade entre populações pode variar muito, dependendo não somente da abundância e densidade de indivíduos, mas também das características do habitat e das escalas espaciais e temporais utilizadas (KOOL et al., 2013).

No entanto, há exceções e não se pode fazer generalizações, pois em muitos casos o comprimento do estágio larval pelágico, ou mesmo o modo reprodutivo, é fracamente correlacionado com a subdivisão genética (revisado por WEERSING; TOONEN, 2009). Essa subdivisão pode, no entanto, ser atribuída a diferenças ecológicas (ROCHA et al., 2005), onde a especificidade de hábitat tem um impacto maior na diferenciação populacional de uma espécie do que a sua história de vida (HELLBERG, 2009), uma vez que tem se evidenciado que mesmo em pequena escala, os indivíduos podem ser geneticamente isolados em diferentes populações (COWEN et al., 2007).

As forças biogeográficas dominantes variam de local para local (SPALDING et al., 2007) e, por esse motivo, o conjunto de fatores envolvido nos padrões genéticos de uma população pode não ser o mesmo para outra população da mesma espécie, já que podem estar sujeitas a regimes diferentes (JENSEN et al., 2013). As variações das condições oceanográficas (fatores como salinidade, temperatura, correntes marítimas, ventos e descarga de rios, por exemplo), também influenciam o comportamento dos animais (migração, desova, acasalamento), afetando a distribuição espacial das espécies (BARLETTA et al., 2010; LUIZ et al., 2013). A

velocidade das correntes oceânicas por exemplo pode facilitar a dispersão de centenas ou mesmo milhares de quilômetros de propágulos e larvas de animais marinhos em uma única geração (HELLBERG, 2009).

Espécies de peixe marinho com ampla distribuição (em vários domínios ou várias províncias) geralmente possuem níveis elevados de fluxo gênico (e.g., GAITHER et al., 2010; HORNE; VAN HERWERDEN, 2013); e espécies com distribuição restrita (geralmente ocorrem em poucas ecorregiões), cujos adultos são geralmente habitat-especialistas (baixa vagilidade), são menos adaptados às mudanças ambientais e, conseqüentemente, altos níveis de estruturação genética são observados (e.g., HOFFMAN et al., 2005; EBLE et al., 2009; CRAIG et al., 2010; DIBATTISTA et al., 2013). De fato, para *Pterapogon kauderni* (Apogonidae) (endêmico da província Triângulo de Corais do Ocidente), cujo macho adulto incuba os ovos na boca e não possui estágio larval pelágico, Hoffman et al. (2005) encontraram altos níveis de estruturação populacional, correspondente ao padrão filogeográfico esperado. No entanto, para algumas espécies cujos adultos têm pequena área de vida (piscinas de maré, por exemplo), as larvas pelágicas podem permitir a conectividade entre habitats, um padrão encontrado, por exemplo, no blenniídeo *Lipophrys pholis* na província Lusitana (FRANCISCO et al., 2011).

Para o Atlântico Sul, a estruturação populacional de *Mugil liza* (Mugilidae) obtida através de microssatélites revelou duas linhagens, uma na costa do Brasil e a outra na Argentina, e estes resultados embasaram o desenvolvimento de planos de manejo para a espécie (MAI et al., 2014). Outro estudo de genética de população revelou a presença de uma nova espécie de *Centropomus* (Centropomidae) no norte do Brasil, com base em três genes mitocondriais e um nuclear (OLIVEIRA et al., 2014). Um estudo filogeográfico do gênero *Brevoortia* (Clupeidae) utilizando o gene CYTB, apontou a existência de uma única espécie em todo Atlântico Sudoeste (GARCÍA et al., 2008).

Outras pesquisas realizadas no Atlântico Sudoeste avaliam o efeito das glaciações na filogeografia e história demográfica das espécies. Para *Cephalopholis fulva* (Epinephelidae), espécie que vive associada a ambientes recifais, ocorrendo em profundidades entre um e 150m (FROESE; PAULY, 2014), análises da região controle do DNAm de indivíduos da costa do Brasil, do Arquipélago de Fernando de

Noronha e do Atol das Rocas revelaram fluxo gênico entre essas regiões e uma expansão populacional provavelmente durante as variações do nível do mar no Pleistoceno (SOUZA et al., 2015). Um padrão semelhante foi encontrado no peixe pelágico *Cynoscion guatucupa* (Sciaenidae) da costa do Brasil e da Argentina utilizando o mesmo marcador; ausência de estruturação genética e expansão populacional concordante com um período de expansão de habitat durante períodos interglaciais (IRIARTE et al., 2011).

Em outro estudo de genética de populações com o peixe recifal *Chromis multilineata* (Pomacentridae) coletados na costa do Brasil e ilhas oceânicas (nos estados da Bahia [BA] e Rio Grande no Norte [RN], no Arquipélago de São Pedro e São Paulo [SS] e Arquipélago de Fernando de Noronha [FE]) utilizando a região controle do DNAm três populações foram reveladas: SS, BA e FE+RN. Segundo os autores, o padrão genético encontrado é típico de populações alopátricas que passaram por uma redução de fluxo gênico recentemente, possivelmente devido às oscilações do nível do mar durante os períodos glaciais e interglaciais no Pleistoceno. Esse padrão é mantido atualmente devido à distância geográfica, ao regime de correntes e retenção larval em SS (CUNHA et al., 2014). Mas, um estudo realizado no oceano Pacífico, aponta que 50% das espécies de peixes que vivem associadas a pedras, em ambientes rasos, mantiveram um tamanho populacional estável durante os períodos glaciais e interglaciais (MARKO et al., 2010).

Além dos exemplos apresentados, estudos filogeográficos de peixes marinhos no oceano Atlântico focam também na distribuição transatlântica das espécies (ROBERTSON et al., 2006; FLOETER et al., 2008; BOEHM et al., 2013), na dispersão de espécies entre o Caribe e o Brasil, analisando a influência da vazão dos rios Amazonas e Orinoco como barreira (ROCHA et al., 2002; ROCHA, 2003; ROCHA, 2004; ROCHA et al., 2005; ROBERTSON et al., 2006; FLOETER et al., 2008; LUIZ et al., 2013), e nos padrões de colonização das ilhas Atlânticas (ROCHA et al., 2002; ROCHA, 2003; FLOETER et al., 2008) e têm encontrado que o padrão filogeográfico das espécies está profundamente relacionado com a sua biologia.

2.1.3.3 Ilhas oceânicas brasileiras e padrões de colonização

Ilhas oceânicas são formadas sobre as placas oceânicas e nunca tiveram contato com o continente (ALMEIDA, 2006). A colonização dessas ilhas se dá por dispersão aérea ou aquática, uma vez que esta não possui nenhuma ligação atual ou pretérita com massas de terra continentais. Essa dispersão pode ser ativa, quando um organismo tem um gasto energético para alcançar a ilha, ou passiva, quando o organismo é levado pela correnteza ou pelo vento, ou ainda quando é transportado por outro animal. Em decorrência desse fato, a especiação em ilhas oceânicas é afetada pelo efeito fundador (WHITTAKER; FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2007).

Ilhas oceânicas possuem tamanho geográfico pequeno, limites bem estabelecidos, diversidade de habitats, dinâmica geológica pretérita e contemporânea e o fluxo gênico pode ser reduzido entre os indivíduos do continente e de diferentes ilhas, resultando desse modo, em altas taxas de endemismos (EMERSON, 2002). Assim, o padrão encontrado para organismos marinhos habitantes de ilhas pode ser diferente daquele do ambiente costeiro, pois o ambiente insular é considerado um sistema naturalmente fragmentado (JENSEN et al., 2013).

Na província Atlântico Sudoeste Tropical, três ecorregiões são formadas exclusivamente por ilhas oceânicas: 1) Fernando de Noronha (FE) e Atol das Rocas (AR), 2) Ilhas de São Pedro e São Paulo (SS) e 3) Ilhas da Trindade e Martin Vaz (TR). FE e AR fazem parte de uma cadeia de montes submarinos que se estende desde a costa do estado do Ceará, sendo composta por 21 ilhas, ilhotas e rochedos (CASTRO, 2009). A idade da cadeia é incerta (sendo estimada entre 29 e 55 milhões de anos, ALMEIDA, 2006). FE dista 360km da costa do Rio Grande do Norte (RN) e AR dista 145km de FE (ALMEIDA, 2006). SS está situada em uma área com 2.000 a 4.000 metros de profundidade, sem a presença de montes submarinos nas suas proximidades, estando isolado de outros ambientes rasos (MORAES, 2011) sendo composta por quatro pequenas ilhas com idade incerta (estimada entre 35 e 110 milhões de anos, CAMPOS et al., 2009). Dista cerca de 1.010km da costa de RN (ALMEIDA, 2006), cerca de 628km de FE e 726km de AR. TR é a única parte emersa de uma série de montes submarinos denominada Cadeia Vitória-Trindade (SIMON et al., 2013) que se inicia no talude continental em frente ao estado do Espírito Santo, a 175km da costa (ALMEIDA, 2006), estando TR a 1.140km da costa

(CASTRO, 2009). A idade dos bancos submarinos é decrescente em relação a distância da costa (MORAES, 2011), sendo a idade máxima de TR estimada em 3,6 milhões de anos (CORDANI, 1970).

Na fase adulta, peixes recifais não possuem habilidade de dispersão por longas distâncias (ROCHA et al., 2002; FLOETER et al., 2008), e a colonização das ilhas supracitadas deve ter ocorrido por dispersão passiva de ovos e larvas. As correntes marítimas que conectam as ilhas oceânicas à costa brasileira podem promover o transporte passivo das espécies (ROCHA et al., 2008). As principais correntes que fluem para oeste na porção equatorial do Atlântico são a corrente Norte Equatorial (NEC) e a Corrente Sul-Equatorial (SEC) (ARAUJO; CINTRA, 2009), sendo que esta última se bifurca na Corrente do Brasil e Corrente Norte do Brasil na ponta do nordeste brasileiro (MUSS et al., 2001), tendo variação sazonal (RODRIGUES et al., 2007). SEC interage na topografia de SS com a Subcorrente Equatorial (EUC), que flui no sentido oposto, causando diminuição na velocidade à montante da água, gerando um vórtice que acarreta retenção de organismos e de nutrientes em SS (ARAUJO; CINTRA, 2009).

Sabe-se que a EUC tem papel importante no transporte de massa de água, sendo a mais rápida das correntes equatoriais, atingindo até mais de 3,6km/h (CAMPOS et al., 2009). Ocorre numa profundidade entre 60 e 100m e tem mais força durante o outono e primavera, com grande variação sazonal (HAZELEGER et al., 2003). A presença do vórtice de Macau na costa de RN (MARIN, 2009), pode contribuir com a dispersão de larvas da costa do Brasil através da EUC. A zoogeografia (distribuição geográfica dos animais) de SS implica que sua fauna é proveniente da costa do Brasil e de FE através de eventuais dispersões das larvas dos peixes recifais pela EUC (FEITOZA et al., 2003).

De acordo com sua zoogeografia, é esperado que SS receba migrantes de ambos os lados do Atlântico e que seja uma alpondra potencial (*stepping-stone*) para espécies que atravessam o Atlântico nas duas direções (EDWARDS; LUBBOCK, 1989). Feitoza et al. (2003), no entanto, afirmam que a fauna de peixes recifais de SS é muito semelhante a de FE e da costa do Brasil, com 80% da sua fauna ocorrendo na Província Brasileira. Segundo os autores, essa migração seria resultado de eventuais dispersões das larvas dos peixes recifais pela EUC. Joyeux

et al. (2001) sugeriram que SS poderia ser considerado uma “caricatura improvisada” de FE, pois depende de sua ictiofauna para colonizá-lo. E uma vez que FE é o ponto mais próximo geograficamente de SS poderia apoiar uma colonização do tipo *stepping-stone* (CARLIN et al., 2003), que assume que uma população é subdividida em colônias e a migração dos indivíduos em cada geração é restrita às colônias mais próximas e não ao acaso (KIMURA; WEISS, 1964).

A colonização de peixes recifais de TR já foi explicada pelo modelo *stepping-stone* mediado por montes submarinos entre o continente e as ilhas (GASPARINI; FLOETER, 2001; SIMON et al., 2013; MACIEIRA et al., 2015), os quais ficaram emersos durante o último período glacial no Pleistoceno, quando o nível do mar ao longo da costa brasileira estava cerca de 130m abaixo do atual (SUGUIO, 1999). Esses montes expostos representariam habitats intermediários entre a costa e as ilhas que possibilitariam o assentamento das larvas, reduzindo assim a distância de dispersão (GASPARINI; FLOETER, 2001). Com a elevação do nível do mar, essas populações intermediárias foram extintas, causando uma diferenciação alopátrica das populações insulares (MACIEIRA et al., 2015). Segundo Macieira et al. (2015), a colonização de FE por peixes recifais de ambientes rasos poderia ter ocorrido de maneira semelhante a de TR, onde os montes submarinos seriam utilizados como alpodras pelos indivíduos. No entanto, a resposta das espécies frente às oscilações do nível do mar durante o Pleistoceno está muito relacionada com as preferências de habitat (LUDT; ROCHA, 2015).

2.2 Peixes

2.2.1 Diversidade e ecologia

O termo “peixes” é utilizado por convenção, mas não representa um grupo natural, ou seja, não é um grupo monofilético (NELSON, 2006). Trata-se de um grupo parafilético, uma vez que seu ancestral comum é também compartilhado com todos os tetrápodes. O campo que estuda sistemática dos peixes é a ictiologia, o qual possui grandes desafios, apresentando aos ictiólogos frequentes oportunidades de descrever novas espécies e fazer questionamentos filogenéticos e biogeográficos

(NELSON, 2006). Atualmente existem 8 classes, 63 ordens e 2.625 famílias de peixes (VAN DER LAAN et al., 2014), totalizando 33.433 espécies válidas (ESCHMEYER; FONG, 2015), sendo 20.253 marinhas (FROESE; PAULY, 2014).

Quatro divisões ecológicas são reconhecidas para os peixes marinhos: os peixes epipelágicos habitam a zona oceânica, a partir da quebra da plataforma até a profundidade de 200m; os peixes pelágicos são divididos em mesopelágicos (habitando entre 200m e 1.000m) e batipelágicos em maiores profundidades; os peixes bentônicos vivem associados ao fundo em qualquer profundidade; e os peixes litorâneos ou de plataforma continental (também chamados neríticos) habitam a costa e a área de plataforma, sendo os mais diversos (HELFMAN et al., 2009).

2.2.2 Peixes neríticos

A zona oceânica possui habitats relativamente uniformes, coberto principalmente de sedimento macio; a zona nerítica, no entanto, inclui recifes de corais, mangues, pradarias, áreas rochosas, estuários, fundos lamosos, entre outros (GRAY, 2001). Além disso, a zona nerítica possui subdivisões: a primeira é a supralitoral, acima da linha da água, é uma área de transição entre a terra e a água; a segunda é o litoral ou área intertidal, que fica submersa durante a maré alta e emersa durante a maré baixa; a terceira é a área infralitoral ou subtidal que fica submersa mesmo durante a maré baixa e se estende até a quebra da plataforma continental (LALLI; PARSON, 1997).

Devido à grande diversidade de habitats, os peixes neríticos apresentam adaptações ecológicas específicas, uma vez que as condições ambientais nessa zona variam muito de um habitat para outro. A baixa profundidade e a proximidade com o ambiente terrestre acentuam as variações da temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, turbidez e nutrientes (ASTARLOA, 2010).

Os padrões que regem a riqueza de espécies são pouco conhecidos, principalmente em diferentes escalas espaciais e nas regiões tropicais, mas não é de se admirar que a zona nerítica tenha uma maior riqueza de espécies do que a zona oceânica devido a tal heterogeneidade de habitats (GRAY, 2001), embora a zona oceânica possua maior abundância específica (GRAY, 2002).

2.2.2.1 Peixes neríticos e padrões filogeográficos

Os peixes neríticos, incluindo os recifais, geralmente possuem mais subdivisões populacionais geográficas do que espécies oceânicas, provavelmente por causa de seu habitat costeiro, curtas distâncias de migração e vulnerabilidade a flutuações climáticas (McMILLEN-JACKSON et al., 2005). A distribuição da maioria dos peixes recifais depende da dispersão de seus ovos e larvas pelas correntes oceânicas, uma vez que esses animais no estágio adulto são relativamente sedentários (FLOETER et al., 2008). Barreiras à dispersão dessas espécies podem incluir descontinuidade de habitats e, talvez, isolamento por distância (McMILLEN-JACKSON et al., 2005).

Muss et al. (2001) avaliaram a estruturação genética de dois peixes recifais do gênero *Ophioblennius* (Blenniidae) que apresentam período larval de aproximadamente 50 dias (LABELLE; NURSALL, 1992 *apud* MUSS et al., 2001): *O. atlanticus* do Atlântico e *O. steindachneri* do Pacífico utilizando um fragmento do gene CYTB. Em *O. atlanticus*, a dispersão larval foi suficiente para evitar fortes divisões genéticas dentro da mesma província. Entretanto, entre Caribe, Brasil, Ilhas de Ascensão e Santa Helena, Golfo da Guiné e Azores/Cabo Verde uma divergência de 5,2-12,7% foi encontrada. A linhagem da costa do Brasil se mostrou distinta da caribenha e similar a da Ilha de Trindade, passando a ser denominada *O. trinitatis* (FEITOZA et al., 2003). Para *O. steindachneri*, entretanto, as populações foram menos estruturadas, não tendo sido encontrada estruturação populacional entre províncias biogeográficas.

Rocha et al. (2002) compararam a estruturação genética de três peixes recifais do Atlântico: *Acanthurus bahianus*, *A. chirurgus* e *A. coeruleus* (Acanthuridae) utilizando um fragmento do gene CYTB visando verificar se as distâncias oceânicas podem atuar como uma barreira geográfica no Atlântico. Essas espécies têm histórias de vida semelhantes, mas diferentes preferências de habitat na vida adulta. Os dados revelaram diferentes níveis de estruturação populacional entre o Brasil e as ilhas Atlânticas, indicando que a distância geográfica é facilmente percorrida pela fase larval pelágica dependendo das características espécie-específicas. Em um estudo posterior (BERNAL; ROCHA, 2011) sugeriu-se com base em dados

genéticos e morfológicos, que a espécie do Caribe é na verdade *A. tractus*, que havia sido sinonimizada com *A. bahianus*.

Para *Chromis multilineata* (Pomacentridae), no entanto, não foi encontrada divergência genética significativa entre indivíduos provenientes de diferentes províncias (Brasil e ilhas do Atlântico Sul) separadas por 2.200km. Esse padrão é esperado em espécies com longo período larval pelágico, mas como o estágio larval dessa espécie dura 27 dias, sugere-se que os indivíduos juvenis são transportados por fortes correntes, mantendo assim o fluxo gênico (ROCHA et al., 2008). Dessa maneira, além do período larval, características oceanográficas também possuem um papel importante na estruturação genética das populações.

Outro exemplo é o par de espécies *Halichoeres cyanocephalus/dimidiatus* e *H. maculipinna/penrosei* (Labridae), o qual possui estágio larval pelágico entre 25 e 30 dias, ocorrem no Brasil e no Caribe, respectivamente, e são separadas pela barreira amazônica. A divergência para o gene CYTB entre as linhagens do Brasil e Caribe chegou a 2,3% em *H. cyanocephalus* e 6,5% em *H. maculipinna*. Uma possível explicação para a alta divergência encontrada foi a acentuada preferência de habitat das espécies, que pode estar levando a especiação, pois já são evidentes caracteres diagnósticos na coloração entre as diferentes linhagens (ROCHA, 2004).

Espécies com diferentes ecologias do gênero *Elacatinus* (Gobiidae) foram analisadas e constatou-se que as espécies possuem estruturação populacional correspondente a três quebras biogeográficas no Caribe baseadas principalmente nas correntes marítimas. Esse padrão foi corroborado por um gene mitocondrial e um nuclear (TAYLOR; HELLBERG, 2006). D'aloia et al. (2014) estudaram *E. lori*, também no Caribe, e confirmaram que descontinuidade de habitat é um fator importante na estruturação populacional da espécie.

O fluxo gênico entre populações pode ser reduzido também por barreiras geográficas pretéritas, como encontrado na espécie *Naso vlamingii* (Acanthuridae) no oceano Índico (KLANTEN et al., 2007). Segundo os autores, as oscilações do nível do mar entre o Mioceno e o Pleistoceno levaram à perda de habitat e isolamento populacional, resultando em uma alta diversidade genética com ausência de estruturação geográfica. A estruturação de *Dascyllus aruanus* (Pomacentridae)

entre o oceano Pacífico e o Índico também foi interpretada como resultado de isolamento durante os períodos glaciais (LIU et al., 2014).

2.2.3 Blenniiformes, Blenniidae e *Entomacrodus*

A ordem Perciformes contém 21 subordens (VAN DER LAAN et al., 2014). A subordem Blennioidei inclui 151 gêneros e aproximadamente 900 espécies (LIN; HASTING, 2013), sendo constituída exclusivamente por peixes neríticos. Seis famílias são alocadas nesta subordem sendo duas delas globalmente distribuídas (Tripterygiidae e Blenniidae), uma restrita a região temperada (Clinidae) e três neotropicais (Labrisomidae, Chaenopsidae e Dactyloscopidae) (LIN; HASTING, 2013). A hipótese filogenética da subordem foi reconstruída utilizando o gene mitocondrial COI e quatro genes nucleares (o gene codificador da proteína *titin-like* [TMO-4C4], o gene ativador de recombinação 1 [RAG1], Rodopsina [RHOD], e Histona H3) e vários critérios de otimização (inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Máxima Parcimônia). Nesse estudo, foram inclusas 150 espécies das seis famílias da subordem (incluindo representante do gênero *Entomacrodus*) e representantes dos grupos externos: famílias Opistognathidae e Grammatidae (ordem Perciformes, subordem Percoidei) e família Gobiesocidae (ordem Gobiesociformes). Os resultados apontaram o monofiletismo da subordem Blennioidei assim como o monofiletismo das famílias Tripterygiidae, Blenniidae, Clinidae e Dactyloscopidae. Tripterygiidae revelou ser grupo irmão de todas as outras famílias e dentro de Blenniidae, todas as relações foram bem resolvidas (LIN; HASTING, 2013).

A família Blenniidae é constituída por 56 gêneros e 391 espécies (RANGEL; MENDES, 2009), que vivem em habitats subtidais, intertidais e supralitorais (HUNDT et al., 2014). São subdivididos em duas subfamílias, Blenniinae e Salariinae (VAN DER LAAN et al., 2014). Além disso, a família é dividida em seis grupos tradicionais reconhecidos com base em caracteres morfológicos: Blenniini, Nemophini, Omobranchini, Phenablenniini, Parablenniini e Salariini (HUNDT et al., 2014). Para determinar a validade desses grupos, um estudo filogenético da família foi realizado incluindo 102 espécies representantes de 41 gêneros e utilizando quatro genes

nucleares (o gene codificador da proteína *Ectoderm-neural cortex 1* [ENC1], o gene codificador da proteína da sexta cadeia pesada da miosina [myh6], o gene codificador de protease [ptr] e o gene codificador da proteína *T-box brain 1* [trb1]) através das análises de Bayesiana e Máxima Verosimilhança. Os resultados apontaram que dentre os seis grupos já propostos, apenas Nemophini é monofilético e o gênero *Entomacrodus* revelou ser parafilético (HUNDT et al., 2014).

Na costa leste do Brasil são conhecidas 11 espécies de blenniídeos (RANGEL; GUIMARÃES, 2010; PINHEIRO et al., 2013), sendo apenas uma do gênero *Entomacrodus* (RANGEL; GUIMARÃES, 2010). *Entomacrodus vomerinus* (Valenciennes, 1836) é endêmico da Província Atlântico Sudoeste Tropical (sensu SPALDING et al., 2007), distribuído desde a costa norte do Brasil (Parcel Manuel Luiz no estado do Maranhão) até o sul Bahia, sua localidade tipo, e também em todas as ilhas oceânicas brasileiras, embora os indivíduos de Trindade possam pertencer a uma nova espécie (RANGEL; GUIMARÃES, 2010). Os adultos apresentam uma incisão marcada entre as porções espinhosa e mole da nadadeira dorsal, coloração do corpo marrom-clara com seis a sete pares de bandas verticais marrom-escuras ao longo do corpo; cabeça com coloração variável, geralmente escurecida e com uma ou duas faixas escuras do lábio superior até a órbita e continuando dorso-posteriormente; nadadeiras dorsal, anal e caudal com padrão reticulado e nadadeiras peitorais e ventrais hialinas; e lábios claros com sete faixas marrom-escuras verticais, sendo a faixa central alinhada do lábio superior para o inferior (RANGEL; GUIMARÃES, 2010). Possui hábitos demersais, pequeno porte (comprimento total máximo de 72mm) e vive associada a ambientes recifais. Os adultos vivem em poças de maré, sendo intertidais, com pequena área domiciliar (cerca de 4m²) e comportamento gregário. Habitam as porções mais rasas dos recifes e possuem hábito anfíbio, tendo sido observados até 20 minutos fora da água (MENDES, 2006). Seus ovos são adesivos e as larvas são planctônicas com duração desconhecida (MENDES, comunicação pessoal).

De acordo com dados da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) não existem ameaças documentadas para *E. vomerinus*, sendo a espécie classificada como sem preocupação conservacionista (Least Concern). No entanto, por ser uma espécie intertidal, pode ser afetada pelo desenvolvimento costeiro e

pela poluição e seu status de conservação pode ser alterado frente a estas ameaças (WILLIAMS; CRAIG, 2014).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. F. M. Ilhas oceânicas brasileiras e suas relações com a tectônica atlântica. **Terrae Didactica** v. 2, n. 1, p. 3–18, 2006.

ARAUJO, M.; CINTRA, M. Modelagem matemática da circulação oceânica na região equatorial. In: VIANA, D. L. et al. (Orgs.) **O Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de Estação Científica**. Brasília: SECIRM, 2009. p. 106–113.

ARBOGAST, B. S. et al. Estimating divergence times from molecular data on phylogenetic and population genetic timescales. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** v. 33, p. 707–740, 2002.

ARIAS, M.C; Francisco F. O.; SILVESTRE, D. O DNA mitocondrial em estudos populacionais e evolutivos de meliponíneos. In: MELO, G. A. R.; ALVES-DOS-SANTOS, I. (Orgs.). **Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 Anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: UNESC, 2003. p. 305–309.

ASTAROLA, J. M. D. Ecología de peces marinos. In: COUSSEAU, M. B (Ed.). **Ictiologia - aspectos fundamentales, la vida de los peces Sudamericanos**. Mar del Plata: EUDEM, 2010. p. 589–638.

AVISE, J.C. et al. Intraspecific Phylogeography : The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics** v.18, p.489-522, 1987.

AVISE, J. C. Phylogeography : retrospect and prospect. **Journal of Biogeography** v. 36, p. 3–15, 2009.

AVISE, J. C. **Phylogeography: The History and Formation of Species**. 1. ed. Massachusetts: Harvard University Press, 2000. 447 p.

BALLARD, J. W. O.; WHITLOCK, M. C. The incomplete natural history of mitochondria. **Molecular Ecology** v. 13, p. 729–744, 2004.

BARLETTA, M. et al. Fish and aquatic habitat conservation in South America: a continental overview with emphasis on neotropical systems. **Journal of fish biology** v. 76, n. 9, p. 2118–76, 2010.

BEHEREGARAY, L. B. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. **Molecular ecology** v. 17, p. 3754–3774, 2008.

BERNAL, M. A.; ROCHA, L. A. *Acanthurus tractus* Poey, 1860, a valid western Atlantic species of surgeonfish (Teleostei, Acanthuridae), distinct from *Acanthurus bahianus* Castelnau, 1855. **Zootaxa** v. 2905, p. 63-68, 2011.

BIRKY, C. W.; FUERST, P.; MARUYAMA, T. Organelle gene diversity under migration, mutation, and drift: Equilibrium expectations, approach to equilibrium, effects of heteroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. **Genetics** v. 121, p. 613–627, 1989.

BOEHM, J. T. et al. Marine dispersal and barriers drive Atlantic seahorse diversification. **Journal of Biogeography** v. 40, p. 1839–1849, 2013.

BOWEN, B. W.; GRANT, W. S. Phylogeography of the Sardines (*Sardinops* spp.): Assessing Biogeographic Models and Population Histories in Temperate Upwelling Zones. **Evolution** v. 51, n. 5, p. 1601–1610, 1997.

BOWEN, B. W. et al. Phylogeography unplugged: comparative surveys in the genomic era. **Bulletin of Marine Science** v. 90, n. 1, p. 13–46, 2014.

BOWEN, B. W. et al. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. **Evolution** v. 55, n. 5, p. 1029–1039, 2001.

BRADBURY, I. R. et al. Global patterns in marine dispersal estimates: the influence of geography, taxonomic category and life history. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** v. 275, p. 1803–1809, 2008.

BRIGGS, J. C. **Marine zoogeography**. New York: McGraw-Hill, 1974. 475p.

BRIGGS, J. C.; BOWEN, B. W. A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. **Journal of Biogeography** v. 39, p. 12–30, 2012.

BRITO, P. H.; EDWARDS, S. V. Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. **Genetica** v. 135, p. 439–455, 2009.

CAMPOS, T. F. G. et al. Estado da Arte da Geologia do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (Atlântico Norte Equatorial Brasileiro). In: MORH, L. V. et al. (Orgs.) **Ilhas Oceânicas Brasileiras: da Pesquisa ao Manejo, volume II**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, MMA, 2009. p. 55–80.

CANTATORE, P. et al. Evolutionary Analysis of Cytochrome b Sequences in Some Perciformes : Evidence for a Slower Rate of Evolution Than in Mammals. **Journal of molecular evolution** v. 39, p. 589–597, 1994.

CARDOSO, L. G.; SANTOS, S.; HAIMOVICI, M. Differences in the otoliths support the distinction of the genus *Macrodon* into two species in the south-western Atlantic Ocean. **Marine Biodiversity Records** v. 5, p. 1-4, 2012.

CARLIN, J. L.; ROBERTSON, D. R.; BOWEN, B. W. Ancient divergences and recent connections in two tropical Atlantic reef fishes *Epinephelus adscensionis* and *Rypticus saponaceus* (Percoidae: Serranidae). **Marine Biology** v. 143, n. 6, p. 1057–1069, 2003.

CARVALHO-FILHO, A.; SANTOS, S.; SAMPAIO, I. *Macrodon atricauda* (Günther, 1880) (Perciformes: Sciaenidae), a valid species from the southwestern Atlantic, with comments on its conservation. **Zootaxa** v. 2519, p. 48-58, 2010.

CASTRO, J. W. A. Geologia Ambiental das Ilhas Oceânicas de Trindade e Fernando de Noronha, Brasil. In: MORH, L. V. et al. (Orgs.) **Ilhas Oceânicas Brasileiras: da Pesquisa ao Manejo, volume II**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, MMA, 2009. p. 33–54.

CHAN, L. M.; BROWN, J. L.; YODER, A. D. Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 59, p. 523–537, 2011.

CHEN, W. J.; BONILLO, C.; LECOINTRE, G. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 26, n. 2, p. 262–288, 2003.

CORDANI, U. G. Idade do vulcanismo no Oceano Atlântico Sul. **Boletim do Instituto de Geociências e Astronomia** v. 1, p. 9–75, 1970.

COWEN, R. K. Population Connectivity in Marine Systems. **Oceanography** v. 20, n. 3, p. 14–21, 2007.

CRAIG, M. T.; EBLE, J. A.; BOWEN, B. W. Origins, ages and population histories: comparative phylogeography of endemic Hawaiian butterflyfishes (genus *Chaetodon*). **Journal of Biogeography** v. 37, p. 2125–2136, 2010.

CRAIG, M. T. et al. How many species of goliath grouper are there? Cryptic genetic divergence in a threatened marine fish and the resurrection of a geopolitical species. **Endangered Species Research** v. 7, p. 167-174, 2009.

CUNHA, I. M. C. et al. Genetic Multipartitions Based on D-Loop Sequences and Chromosomal Patterns in Brown Chromis, *Chromis multilineata* (Pomacentridae), in the Western Atlantic. **BioMed Research International** v. 2014, p. 1–14, 2014.

D'ALOIA, C. C. D. et al. Seascape continuity plays an important role in determining patterns of spatial genetic structure in a coral reef fish. **Molecular Ecology** v. 23, p. 2902-2913, 2014.

DIBATTISTA, J. D. et al. After continents divide: comparative phylogeography of reef fishes from the Red Sea and Indian Ocean. **Journal of Biogeography** v. 40, p. 1170–1181, 2013.

DUFRESNES, C. et al. Conservation phylogeography: Does historical diversity contribute to regional vulnerability in European tree frogs (*Hyla arborea*)? **Molecular Ecology** v. 22, p. 5669–5684, 2013.

EBLE, J.A.; TOONEN, R. J.; BOWEN, B. W. Endemism and dispersal: comparative phylogeography of three surgeonfishes across the Hawaiian Archipelago. **Marine Biology** v. 156, p. 689–698, 2009.

ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. **Catalog of fishes**. Disponível em: <<http://www.calacademy.org/scientists/projects/catalog-of-fishes>> Acesso em: 21 abr. 2015.

EDWARDS, A.; LUBBOCK, R. Marine zoogeography of St Paul's Rocks. **Journal of Biogeography** v. 10, p. 65-72, 1989.

EMERSON, B C. Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic. **Molecular Ecology** v. 11, p. 951–966, 2002.

FEITOZA, B. M. et al. Reef fishes of St. Paul ' s Rocks : new records and notes on biology and zoogeography. **Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology** v. 7, n. 2, p. 61–82 , 2003.

FLOETER, S. R. et al. Geographic variation in reef-fish assemblages along the Brazilian coast. **Global Ecology & Biogeography** v. 10, p. 423-431, 2001.

FLOETER, S. R. et al. Atlantic reef fish biogeography and evolution. **Journal of Biogeography** v. 35, p. 22–47 , 2008.

FRANCISCO, S. M. et al. Phylogeography of the shanny *Lipophrys pholis* (Pisces: Blenniidae) in the NE Atlantic records signs of major expansion event older than the last glaciation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v. 403, p. 14–20, 2011.

FRATINI, S. et al. Phylogeography of the threatened crayfish (genus *Austropotamobius*) in Italy: implications for its taxonomy and conservation. **Heredity** v. 94, p. 108–118, 2005.

FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) **Fish Base - World Wide Web electronic publication version (11/2014)**. Disponível em: <www.fishbase.org> Acesso em: 15 nov. 2014.

GAITHER, M. R. et al. Genetic evaluation of marine biogeographical barriers: perspectives from two widespread Indo-Pacific snappers (*Lutjanus kasmira* and *Lutjanus fulvus*). **Journal of Biogeography** v. 37, p. 133-147, 2010.

GARCÍA, G.; VERGARA, J.; GUTIÉRREZ, V. Phylogeography of the Southwestern Atlantic menhaden genus *Brevoortia* (Clupeidae, Alosinae). **Marine Biology** v. 115, p. 325-336, 2008.

GASPARINI, J. L.; FLOETER, S. R. The shore fishes of Trindade Island, western South Atlantic. **Journal of Natural History** v. 35, p. 1639–1656, 2001.

GRAY, J. S. Marine diversity : the paradigms in patterns of species richness examined. **Scientia Marina** v. 65, p. 41–56, 2001.

GRAY, J. S. Species richness of marine soft sediments. **Marine Ecology Progress Series** v. 244, p. 285–297, 2002.

GUO, X.; CHEN, D. Comparative evolution of the mitochondrial cytochrome b gene and nuclear S7 ribosomal protein gene intron 1 in sinipercid fishes and their relatives. **Hydrobiologia** v. 649, p. 139–156, 2010.

HARRISON, R. G. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. **Trends in ecology & evolution (Personal edition)** v. 4, n. 7, p. 6–11, 1989.

HAZELEGER, W.; DE VRIES, P.; FRIOCOURT, Y. Sources of the Equatorial Undercurrent in the Atlantic in a High-Resolution Ocean Model. **Journal of Physical Oceanography** v. 33, n. 4, p. 677-693, 2003.

HEBERT, P. D. N. et al. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** v. 270, p. 313–321, 2003.

HELFMAN, G. S. et al. **The Diversity of Fishes**. 2. ed. Oxford: John Wiley; Sons, 2009. 720 p.

HELLBERG, M. E. Gene Flow and Isolation among Populations of Marine Animals. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** v. 40, n. 1, p. 291–310, 2009.

HICKERSON, M. J. et al. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. **Molecular phylogenetics and evolution** v. 54, p. 291–301, 2010.

HOFFMAN, E. A. et al. Genetic structure in the coral-reef-associated Banggai cardinalfish, *Pterapogon kauderni*. **Molecular Ecology** v. 14, p. 1367-1375, 2005.

HOFMANN, S. et al. Effects of Pleistocene climatic fluctuations on the phylogeography, demography and population structure of a high-elevation snake species, *Thermophis baileyi*, on the Tibetan Plateau. **Journal of Biogeography** v. 41, p. 2162–2172, 2014.

HORNE, J. B.; VAN HERWERDEN, L. Long-term panmixia in a cosmopolitan Indo-Pacific coral reef fish and a nebulous genetic boundary with its broadly sympatric sister species. **Journal of Evolutionary Biology** v. 26, p. 783-799, 2013.

HUBERT, N. et al. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. **PLoS ONE** v. 3, n. 6, 2008.

HUNDT, P. J. et al. Molecular Phylogenetics and Evolution A multilocus molecular phylogeny of combtooth blennies (Percomorpha:Blennioidei:Blenniidae): Multiple invasions of intertidal habitats. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 70, p. 47–56, 2014.

IRIARTE, P. J. F. et al. Phylogeography of weakfish *Cynoscion guatucupa* (Perciformes: Sciaenidae) from the southwestern Atlantic. **Scientia Marina** v. 75, n. 4, p.701-706, 2011.

JENSEN, H. et al. Genetic variation and structure of house sparrow populations: is there an island effect? **Molecular ecology** v. 22, n. 7, p. 1792–805, 2013.

JOYEUX, J. C. et al. Biogeography of tropical reef fishes : the South Atlantic puzzle. **Journal of Biogeography** v. 28, p. 831–841, 2001.

KERR, K. C. R. et al. Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. **Molecular Ecology Notes** v. 7, p. 535–543, 2007.

KIMURA, M.; WEISS, G. H. The Stepping Stone Model of Population Structure and the Decrease of Genetic Correlation with Distance. **Genetics** v. 49, p. 561–576, 1964.

KLANTEN, O. S.; CHOAT, J. H.; VAN HERWERDEN, L. Extreme genetic diversity and temporal rather than spatial partitioning in a widely distributed coral reef fish. **Marine Biology** v. 150, n. 4, p. 659–670, 2006.

KODANDARAMAIAH, U. et al. Phylogeography of the threatened butterfly , the woodland brown *Lopinga achine* (Nymphalidae:Satyrinae): implications for conservation. **Journal of Insect Conservation** v. 16, p. 305–313, 2012.

KOOL, J. T.; MOILANEN, A.; TREML, E. A. Population connectivity: recent advances and new perspectives. **Landscape Ecology** v. 28, n. 2, p. 165–185, 2012.

LALLI, C. M.; PARSON, T. R. **Biological Oceanography An Introduction**. 2. ed. Oxford: Elsevier, 1997.314 p.

LARMUSEAU, M. H. D. et al. High molecular diversity in the rhodopsin gene in closely related goby fishes: A role for visual pigments in adaptive speciation? **Molecular phylogenetics and evolution** v. 55, n. 2, p. 689–98, 2010.

LARMUSEAU, M. H. D. et al. Signature of selection on the rhodopsin gene in the marine radiation of American seven-spined gobies (Gobiidae, Gobiosomatini). **Journal Of Evolutionary Biology** v. 24, p. 1618-1625, 2011.

LESSIOS, H. A.; KESSING, B. D.; PEARSE, J. S. Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. **Evolution** v. 55, n. 5, p. 955–975, 2001.

LIN, H. C.; HASTINGS, P. A. Phylogeny and biogeography of a shallow water fish clade (Teleostei:Blenniiformes). **BMC evolutionary biology** v. 13, n. 210, p. 1–18, 2013.

LIU, S. Y. V. et al. Phylogeography of the humbug damselfish, *Dascyllus aruanus* (Linnaeus, 1758): evidence of Indo-Pacific vicariance and genetic differentiation of peripheral populations. **Biological Journal of the Linnean Society** v. 113, p. 931–942, 2014.

LUDT, W. B.; ROCHA, L. A. Shifting seas: the impacts of Pleistocene sea-level fluctuations on the evolution of tropical marine taxa. **Journal of Biogeography** v. 42, p. 25–38, 2015.

LUIZ, O. Jr. et al. Adult and larval traits as determinants of geographic range size among tropical reef fishes. **PNAS** v. 110, n. 41, p. 16498–16502, 2013.

MACIEIRA, R. M. et al. Isolation and speciation of tidepool fishes as a consequence of Quaternary sea-level fluctuations. **Environmental Biology of Fishes** v. 98, n. 1, p. 385–393, 2015.

MAI, A. C. G. et al. Microsatellite variation and genetic structuring in *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) populations from Argentina and Brazil. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 77, p. 275–280, 2014.

MARIN, F. O. **A subcorrente Norte do Brasil ao largo da costa nordeste**. 2009. 115 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009.

MARKO, P. B. et al. The 'Expansion–Contraction' model of Pleistocene biogeography: rocky shores suffer a sea change? **Molecular Ecology** v. 19, p. 146–169, 2010.

McMILLEN-JACKSON, A. L. et al. Molecular genetic variation in tarpon (*Megalops atlanticus* Valenciennes) in the northern Atlantic Ocean. **Marine Biology** v. 146, n. 2, p. 253–261, 2004.

MENDES, L. F. História natural dos amborés e peixes-macaco (Actinopterygii, Blennioidei, Gobioidae) do Parque Nacional Marinho do Arquipélago de Fernando de Noronha, sob um enfoque comportamental. **Revista Brasileira de Zoologia** v. 23, n. 3, p. 817–823, 2006.

- MORAES, F. C. **Esponjas das Ilhas Oceânicas Brasileiras**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2011. 252 p.
- MORITZ, C. Defining “ Evolutionarily Significant Units ” for conservation. **TREE** v. 9, n. 10, p. 373–375, 1994.
- MORITZ, C.; FAITH, D. P. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. **Molecular ecology** v. 7, p. 419–429, 1998.
- MUSS, A. et al. Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. **Evolution** v. 55, n. 3, p. 561–572, 2001.
- NEAR, T. J.; KECK, B. P. Free from mitochondrial DNA : Nuclear genes and the inference of species trees among closely related darter lineages (Teleostei: Percidae: Etheostomatinae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 66, n. 3, p. 868–876, 2013.
- NELSON, J. S. **Fishes of the world**. 4th. ed. New Jersey: John Wiley; Sons, 2006. 601 p.
- ÓLAFSDÓTTIR, G. Á. et al. Historical DNA reveals the demographic history of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in medieval and early modern Iceland. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** v. 281, p. 1–8, 2014.
- OLIVEIRA, J. N. et al. Molecular data indicate the presence of a novel species of *Centropomus* (Centropomidae – Perciformes) in the Western Atlantic. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 77, p. 275–280, 2014.
- PARSON, W. et al. Species identification by means of the cytochrome b gene. **International Journal of Legal Medicine** v. 114, p. 23–28, 2000.
- PEREIRA, L. H. G. et al. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **BMC genetics** v. 14, n. 20, p. 1–14, 2013.
- PINHEIRO, H. T.; GASPARINI, J. L., RANGEL, C. A. A new species of the genus *Hypleurochilus* (Teleostei: Blenniidae) from Trindade Island and Martin Vaz Archipelago, Brazil. **Zootaxa** v. 3709, n. 1, p. 95-100, 2013.
- PLEINES, T.; JAKOB, S. S.; BLATTNER, F. R. Application of non-coding DNA regions in intraspecific analyses. **Plant Systematics and Evolution** v. 282, p. 281–294, 2009.
- QI, D. et al. Mitochondrial cytochrome b sequence variation and phylogenetics of the highly specialized Schizothoracine fishes (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibet plateau. **Biochemical genetics** v. 44, n. 5-6, p. 270–85, 2006.

RANGEL, C. A.; GUIMARÃES, R. Z. P. Taxonomia e distribuição da família Blenniidae (Teleostei:Blennioidei) na costa leste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoociências** v. 12, n. 1, p. 17–41, 2010.

RANGEL, C. A.; MENDES, L. F. Review of Blenniid fishes from Fernando de Noronha Archipelago, Brazil, with description of a new species of *Scartella* (Teleostei:Blenniidae). **Zootaxa** v. 2006, p. 51–61, 2009.

RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes** v. 7, p. 355–364, 2007.

ROBERTSON, D. R. et al. Mechanisms of speciation and faunal enrichment in Atlantic parrotfishes. **Molecular phylogenetics and evolution** v. 40, n. 3, p. 795–807, 2006.

ROCHA, L. A. et al. Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei:Acanthuridae). **Molecular ecology** v. 11, p. 243–252, 2002.

ROCHA, L. A. et al. Comparative phylogeography of Atlantic reef fishes indicates both origin and accumulation of diversity in the Caribbean. **BMC evolutionary biology** v. 8, p. 157, 2008.

ROCHA, L. A. et al. Ecological speciation in tropical reef fishes. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences** v. 272, p. 573–579, 2005.

ROCHA, L. A. Patterns of distribution and precess of speciation in Brazilian reef fishes. **Journal of Biogeography** v. 30, p. 1161–1171, 2003.

ROCHA, L. A. Mitochondrial DNA and Color Pattern Variation in Three Western Atlantic *Halichoeres* (Labridae), with the Revalidation of Two Species. **Copeia** v. 4, p. 770–782, 2004.

RODRIGUES, R. R.; ROTHSTEIN, L. M.; WIMBUSH, M. Seasonal Variability of the South Equatorial Current Bifurcation in the Atlantic Ocean: A Numerical Study. **Journal of Physical Oceanography** v. 37, p. 16-30, 2007.

ROJE, D. M. Evaluating the effects of non-neutral molecular markers on phylogeny inference. **PloS one** v. 9, n. 2, p. e87428, 2014.

SABATINO, S. J.; ROUTMAN, E. J. Phylogeography and conservation genetics of the hellbender salamander (*Cryptobranchus alleganiensis*). **Conservation Genetics** v. 10, p. 1235–1246, 2009.

SANTOS, S. et al. Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic

- divergence without morphological change. **Molecular ecology** v. 15, n. 14, p. 4361–73, 2006.
- SEVILLA, R. G. et al. Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial Cytochrome b and nuclear rhodopsin genes. **Molecular Ecology Notes** v. 7, p. 730–734, 2011.
- SIMON, T.; MACIEIRA, R. M.; JOYEUX, J. -C. The shore fishes of the Trindade–Martin Vaz insular complex: an update. **Journal of Fish Biology** v. 82, p. 2113–2127, 2013.
- SILVA-OLIVEIRA, G. C. et al. New nuclear primers for molecular studies of Epinephelidae fishes. **Conservation Genetics Resources** v. 5, p. 165–168, 2013.
- SOUZA, A. S. et al. Wide-range genetic connectivity of Coney, *Cephalopholis fulva* (Epinephelidae), through oceanic islands and continental Brazilian coast. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 87, n. 1, p. 121–136, 2015.
- SPALDING, M. D. et al. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. **BioScience** v. 57, n. 7, p. 573, 2007.
- SUGUIO, K. Recent progress in Quaternary geology of Brazil. **Episodes** v. 22, n. 3, p. 217–220, 1999.
- TAUTZ, D. et al. A plea for DNA taxonomy. **Trends in Ecology and Evolution** v. 18, n. 2, p. 70–74, 2003.
- TAYLOR, M. S.; HELLBERG, M. E. Comparative phylogeography in a genus of coral reef fishes : biogeographic and genetic concordance in the Caribbean. **Molecular ecology** v. 15, p. 695–707, 2006.
- TESSLER, M. G.; MAHIQUES, M. M. Processos oceânicos e a fisografia dos fundos. In: TEIXEIRA, W. et al. (Orgs.) **Decifrando a Terra**. 1. ed. São Paulo: Oficina de textos, 2000. p. 261–284.
- TOEWS, D. P.; BRELSFORD, A. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. **Molecular ecology** v. 21, p. 3907–3930, 2012.
- TURCHETTO-ZOLET, A. C. et al. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular ecology** v. 22, p. 1193–1213, 2013.
- VAR DER LAAN, R.; ESCHMEYER, W. N.; FRICKE, R. Family-group names of Recent fishes. **Zootaxa** v. 3882, n. 2, p. 1–230, 2014.
- VERA, M. et al. Phylogeography, genetic structure , and conservation of the endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877), from Iran. **Hydrobiologia** v. 664, p. 51–67, 2011.

- VOGLER, C. et al. Phylogeography of the crown-of-thorns starfish: genetic structure within the Pacific species. **Coral Reefs** v. 32, n. 2, p. 515–525, 2013.
- VON DER HEYDEN, S. et al. Phylogeographic patterns and cryptic speciation across oceanographic barriers in South African intertidal fishes. **Journal of evolutionary biology** v. 24, p. 2505–2519, 2011.
- WANG, J.; SUN, P.; YIN, F. Low mtDNA Cytb diversity and shallow population structure of *Eleutheronema tetradactylum* in the East China Sea and the South China Sea. **Biochemical Systematics and Ecology** v. 55, p. 268–274, 2014.
- WARD, R. D. et al. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences** v. 360, p. 1847–1857, 2005.
- WEERSING, K.; TOONEN, R. J. Population genetics , larval dispersal, and connectivity in marine systems. **Marine Ecology Progress Series** v. 393, p. 1–12, 2009.
- WHITTAKER, R. J.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, J. M. **Island Biogeography: Ecology, Evolution, and Conservation**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 2007. 416 p.
- WILLIAMS, J. T.; CRAIG, M. T. *Entomacrodus vomerinus*. **The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3**. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 31 mar. 2015.
- WORM, B.; LOTZE, H. K.; MYERS, R. A. Predator diversity hotspots in the blue ocean. **PNAS** v. 100, n. 17, p. 9884–9888, 2003.
- YOKOYAMA, R.; KNOX, B. E.; YOKOYAMA, S. Rhodopsin from the fish, *Astyanax*: Role of tyrosine 261 in the red shift. **Investigative Ophthalmology and Visual Science** v. 36, n. 5, p. 939–945, 1995.
- ZARDOYA, R.; MEYER, A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. **Molecular Biology and Evolution** v. 13, n. 7, p. 933–942, 1996.
- ZHANG, D. X.; HEWITT, G. M. Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. **TREE** v. 11, n. 6, p. 247–251, 1996.
- ZÚÑIGA-VEGA, J. J. et al. Do freshwater ecoregions and continental shelf width predict patterns of historical gene flow in the freshwater fish *Poecilia butleri*? **Biological Journal of the Linnean Society** v. 112, p. 399–416, 2014.

3. Phylogeography of *Entomacrodus vomerinus* (Teleostei: Blenniidae) in the Tropical Southwestern Atlantic province: is there connectivity between continental and insular habitats?

Jessika M. M. Neves^{1*}; Sergio M. Q. Lima²; Liana F. Mendes³; Rodrigo A. Torres⁴; Tamí Mott¹

¹Laboratório de Diversidade Molecular, Setor de Biodiversidade, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL 57072-970, Brazil.

²Laboratório de Ictiologia Sistemática e Evolutiva, Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN 59078-970, Brazil.

³Laboratório do Oceano, Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN 59078-970, Brazil.

⁴Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE 50670-901, Brazil.

* Corresponding author. E-mail: neves.jmm@gmail.com Phone: +55 82 9604-2316

Abstract

Entomacrodus vomerinus (Valenciennes 1836) is a demersal fish endemic to the Tropical Southwestern Atlantic province, inhabiting tidal pools in continental and oceanic reef environments. It has a small home range (about 4 m²) and adhesive eggs, which can suggest low population connectivity in the absence of pelagic larvae. In this paper, we evaluated the population structure and genetic diversity of *E. vomerinus* with three molecular markers using a phylogeographic approach. Eighty-five individuals sampled from 2011 to 2014 were included. Forty six from oceanic islands - Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS) (0°55'N, 29°20'W), Fernando de Noronha (FE) (3°52'S, 32°26'W) and Atoll das Rocas (AR) (3°51'S, 33°48'W) - and 39 from the continent - states of Rio Grande do Norte (RN) (6°11'S, 35°4'W) and Bahia (BA) (12°59'S, 38°33'W). The analysis of molecular variance for mitochondrial genes Cytochrome C Oxidase subunit I (COI) and Cytochrome B (CYTB) revealed the presence of three haplogroups (SS / FE + AR / RN + BA). The Bayesian analysis of population structure (BAPS) recovered a similar scenario, pointing three haplogroups in COI and CYTB and four groups for the nuclear rhodopsin gene (RHOD), indicating higher rates of genetic connectivity at this marker level as two of groups occur in all localities. The F_{ST} paired for the three markers indicated reduced gene flow between the insular and mainland sites, especially between SS and all other localities. The Mantel test refuted isolation by distance scenario. The natural history of *E. vomerinus*

suggests three genetic groups, that agrees with biogeographic subdivisions. The recovered genetic structure can be attributed to passive larval dispersal during interglacial periods in the Pleistocene favored by ocean currents. Nowadays individuals are isolated in the ecoregions, and the gene flow can currently be reduced due to specific ecological characteristics of each ecoregion that prevent the arrival and settlement of larvae in other locations, as well as larval retention in SS.

Keywords: Conservation, gene flow, biogeography.

3.1 Introduction

Biodiversity is unevenly distributed and assessing which factors shape the organism distribution has challenged ecologists and biogeographers for centuries (Gaston 2000). Micro and macro-evolutionary forces influence the distribution of a species and can be revealed using a phylogeographic approach, which integrate population genetics, systematics and biogeography (Avice 1987). With this framework, historical processes that influence the actual geographical distribution of genetic lineages may be attained (Avice 2000, 2009), as well as the delimitation of Evolutionarily Significant Units (ESU) for management and conservation purposes (Moritz 1994).

The delimitation of protected areas based on political barriers may be flawed (Hannah et al. 2002) and it should be based on a biogeographic classification that represents ecological systems (Spalding et al. 2007). For areas of coast and continental shelf of marine environments in the world, for example, several biogeographic divisions have been proposed. Briggs (1974) used the number of endemic species to define biogeographic provinces. Briggs and Bowen (2012) reviewed previous classification and redefined the Brazilian Province, following suggestions from other researchers (Floeter et al. 2001, 2008). This Province now includes the area from the mouth of the Amazon River to the state of Santa Catarina and the oceanic islands, Fernando de Noronha, Atoll das Rocas, Sao Pedro and Sao Paulo Islands and Trindade Island (Briggs and Bowen 2012). This province has 471 reef fish species, being 118 (25.1%) endemic (Floeter et al. 2008).

However, Spalding et al. (2007) proposed a classification of coast and continental shelf areas using geomorphological characteristics, temperature, distribution discontinuity, dominant habitats and currents, among others. In this classification, three hierarchical levels were proposed (realms, provinces and ecoregions). The Brazilian province is then named Tropical Southwestern Atlantic province, which is part of Tropical Atlantic realm and is subdivided in five ecoregions. Two of them are in the continental habitat: 1) Northeastern Brazil, bounded on north in Piauí state, and 2) Eastern Brazil, bounded on south in Rio de Janeiro state. The other three are in insular habitat: 1) Sao Pedro and Sao Paulo Islands, 2) Fernando de Noronha and Atoll das Rocas, and 3) Trindade and Martin Vaz Islands. Trindade is the furthest island from the Brazilian coast, located 1,160 km apart from Espírito Santo state. Sao Pedro and Sao Paulo Islands are 1,010 km further from its closest continental location at Rio Grande do Norte, and 628 km from Fernando de Noronha, its closest terrestrial habitat.

The reef-associated blenny *Entomacrodus vomerinus* (Valenciennes 1836) is endemic to the Tropical Southwestern Atlantic province (sensu Spalding et al. 2007), inhabitant of five ecoregions (Rangel and Mendes 2009). It has pelagic larvae with unknown duration and the adult has a small home range (approximately 4 m²) and a gregarious behavior, being restricted to tidal pools (Rangel and Mendes 2009). Moreover, adults have amphibious habits, being observed up to 20 minutes out of the water (Mendes 2006). This species is considered as Least Concern by the International Union for Conservation of Nature (IUCN), nevertheless, because its adult stage is restricted to tidal pools, it can be easily affected by anthropogenic activities such as pollution of the coastline (Williams and Craig 2014).

Due to *E. vomerinus* biology and distribution, this species is an ideal model to assess how a reef species responds to local forces imposed on each of the ecoregions proposed by Spalding et al. (2007) (such as isolation, nutrients availability, sediment type, ocean currents and fresh water flow). Specifically, our main goals are twofold: 1) to assess the levels of genetic connectivity of *E. vomerinus* throughout the Tropical Southwestern Atlantic province using a phylogeographic approach 2) to define possible ESUs for conservation and management.

3.2 Materials and methods

3.2.1 Sampling Design

Eighty-five individuals of *Entomacrodus vomerinus* from four ecoregions of the Tropical Southwestern Atlantic province were analyzed: 46 from insular environments (16 from the ecoregion Sao Pedro and Sao Paulo Islands [SS], and 30 from Fernando de Noronha [FE] and Atoll das Rocas [AR] ecoregion [20 from FE and 10 from AR]); and 39 from continental environments (18 from Northeastern Brazil ecoregion (represented by Tibau do Sul municipality, south of Rio Grande do Norte [RN]), and 21 from Eastern Brazil (represented by Salvador municipality, Bahia [BA], the edge between the two ecoregions and species' type locality) (Fig. 1). All specimens were deposited in the Coleção Ictiológica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). DNA sequences were deposited at GenBank (Appendix).

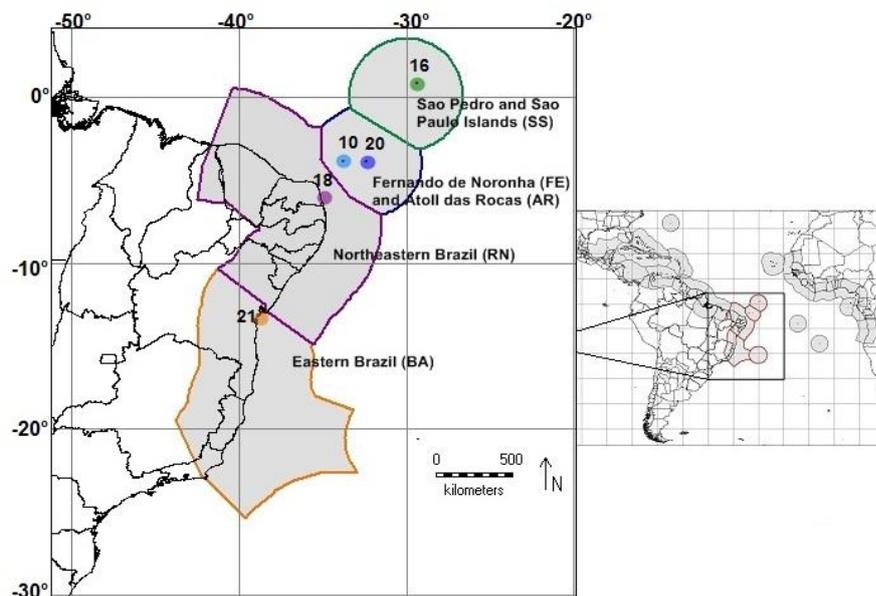


Figure 1 Ecoregions sampled and the total number of individuals of *Entomacrodus vomerinus* included in this study. In the right map, gray color represents the Tropical Atlantic realm and the Tropical Southwestern Atlantic province is highlighted in the rectangle (red outline). In the left map, the ecoregions sampled are highlighted, showing the geographical locations of collecting and the total number of individuals per locality.

3.2.2 Laboratory Protocol

Total genomic DNA extraction followed the phenol/chloroform method (Sambrook et al. 1989). Fragments of two mitochondrial genes (Cytochrome C Oxidase subunit I [COI] and Cytochrome B [CYTB]) and a nuclear gene (the exon Rhodopsin [RHOD]) were amplified by polymerase chain reactions (PCR).

The COI and RHOD fragments were amplified using the primers FISH-BCL (Baldwin et al. 2009) and FISH-BCH (Ward 2012), and F2w-Rod, Rod-R4n (Sevilla et al. 2007) respectively. For both genes, each 25 µl PCR included 0.8-2 µl of genomic DNA (20-80ng/µl), 12.5 µl of PCR Master Mix (Promega®), 1 µL of each primer (10 mM), 0.5 µl of 1U Taq Polymerase and ultrapure water. The amplification followed an initial DNA denaturation at 95° C for 5 min, then 35 cycles of denaturation at 94° C for 30 s, annealing at 52° C for 35 s, extension at 72° C for 1 min, followed by a final extension at 72° C for 7 min and 20°C for 2 min.

A fragment of CYTB was amplified with the primers L14725 (CGAAACTAATGACTTGAAAAACCACCGTTG) (Sampaio, unpubl data) and HMVZ16 (Smith and Patton 1993). Each 25 µl PCR included 1 µL of genomic DNA (20-80ng/µl), 12.5 µl Taq Master Mix (Vivantis®), 0.5 µl of each primer (10 mM), 0.3 µl de MgCl₂ (3 mM) and 10.2 µl of ultrapure water. Amplification cycles in the thermocycler consisted of an initial DNA denaturation at 94° C for 3 min, followed by 30 cycles of denaturation at 94° C for 1 min, annealing at 45° C for 45 s and extension at 72° C for 90 s, followed by a final extension at 72° C for 7 min (Santos et al. 2006).

All PCR reactions with amplicons were purified by the isopropanol method: add 72 µl of isopropanol 65%, mix by vortexing and rest for 20 min. Then, centrifuge at 14,500 rpm for 15 min, discard the supernatant, add 250 µl of ethanol 60% and rest for 5 min. Following, centrifuge at 14,500 rpm for 5 min, discard the supernatant and dry the tubes at 96° C in a thermoblock. Resuspension in 15 µl of H₂Oqsp.

After purification, the amplicons were sequenced using forward primers in the Plataforma de Sequenciamento at Laboratório Central from Universidade Federal de Pernambuco. RHOD sequences that had heterozygous sites were sequenced in reverse way to avoid editing errors.

3.2.3 Data analysis

All DNA sequences were edited and aligned using Bioedit 7.2 (Hall 1999) and subjected to blastn algorithm (Zhang et al. 2000) for the certification of amplified regions. Subsequently codons were translated into amino acids at MEGA6 (Tamura et al. 2013) to verify the absence of editing errors and stop codons.

Characterization of molecular diversity (haplotype and nucleotide diversities), Mantel test (a test for isolation by distance, correlating genetic distance with geographical distance), and the tests of neutrality Fu's F_s (Fu 1997) and Tajima's D (Tajima 1989) (that are able to estimate changes in current population size) were performed in Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer 2010). According to Ramos-Onsins and Rozas (2002), the Fu's F_s is the most effective test to detect expansion events. However, by being more sensitive, this test can give false negatives, so to overcome this caveat, herein, only the congruence results between the two tests were considered.

Haplotypes of the diploid marker RHOD were reconstructed by Bayesian method based on coalescence through the tool PHASE 2.1 on DNAsp 5.10.1 with default settings (Rozas 2009). The chosen algorithms were described by Stephens et al. (2001). Haplotypes with probability >70% were included in the analysis, following Stephens et al. (2004) recommendation.

The genetic structure and the differences among localities were assessed separately for each gene through the paired fixation index F_{ST} in Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer 2010). The population genetic structuring was inferred based on the significance of the P value ($P < 0.05$, Knowles and Maddison 2002)

Levels of genetic variation among sampled localities were assessed for each gene employing two grouping scenarios through hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) in Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer 2010). For the ecoregion scenario, the structuring among ecoregions (SS / FE+AR / RN / BA) was tested. For the habitat scenario, the structuring between insular and continental environments (SS+FE+AR / RN+BA) was assessed. Moreover, SAMOVA 1.0 (Dupanloup et al. 2002) was carried out using the geographical coordinates of each location and their haplotypes and consequently the best grouping scenario by AMOVA was indicated.

Genetic structure was also investigated using the software Bayesian Analysis of Population Structure - BAPS 6 (Corander et al. 2008). This analysis makes a Bayesian inference of genetic population structure based on different allelic frequencies, using population as sampling units instead of individuals (Rosetti and Remis 2012). Firstly, a mixture analysis was done, as recommended by Corander and Marttinen (2006). The sequences of COI and CYTB, and the haplotypes recovered by Phase tool for RHOD were used in the option "Genetic mixture analysis with sequences or linked loci". Then a population admixture analysis based on mixture clustering was made.

Haplotype networks were made for each gene in the Network 4.6 (Bandelt et al. 1999) in order to express the genetic diversity of sampled locations in a network of potential evolutionary paths.

3.3 Results

For COI, 544 bp from 72 individuals of *Entomacrodus vomerinus* were obtained, 15 sites were polymorphic (seven parsimony informative), consisting in 13 transitions and two transversions, and resulting in 12 haplotypes. For CYTB, 580 bp from 71 individuals were obtained, 17 sites were polymorphic (ten parsimony informative), being 16 transitions and one transversion, resulting in 15 haplotypes. A 441bp fragment of RHOD was sequenced for 83 individuals and eight polymorphic sites were found. PHASE analysis recovered 162 sequences of 81 individuals, being nine haplotypes with six polymorphic sites (five parsimoniously informative) characterizing five transitions and one transversion. Two individuals from BA were removed from the analysis because their haplotypes probability was < 70%.

The majority of haplotypes (67%) recovered for the two mitochondrial genes was exclusive of a certain locality. Only one from 12 haplotypes of COI and one from 15 haplotypes of CYTB were shared among all localities. Moreover, two haplotypes of each mitochondrial marker were found in all localities except SS. In RHOD the haplotype diversity was lower, there were two haplotypes shared among all localities, three shared by continental specimens and four exclusive for a certain locality.

Based on island biogeography theory, we should observe a higher genetic diversity in the continent, but this pattern just occurred for COI data. For CYTB the diversity is very similar on both habitats, and for RHOD this index is higher in the insular habitat, contrary to the expectation (Table 1).

Table 1 Molecular parameters obtained for *Entomacrodus vomerinus*. Cytochrome Oxidase subunit I (COI), Cytochrome b (CYTB) and Rhodopsin (RHOD). Total number of individuals analyzed in each location (N), number of haplotypes (N_h), percentage of exclusive haplotypes (% He), number of polymorphic sites (S), haplotype diversity (H), nucleotide diversity (π), Fu' Fs and Tajima's D neutrality tests (significant P values are marked with *). Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).

	Location	N	N_h	%He	S	H	π	Fu's Fs	Tajima's D
COI	Total	72	12	67%	15	0.7531	0.0033	-0.68777	-1.20037
	SS	11	3	67%	4	0.6182	0.0031	1.75743	0.92078
	FE	19	4	25%	4	0.2982	0.0007	-2.00529 *	-1.86122 *
	AR	10	3	0	2	0.5111	0.0010	-0.59381	-0.69098
	RN	16	7	43%	7	0.8333	0.0036	-1.74088	-0.21083
	BA	16	6	33%	6	0.7750	0.0032	-1.02583	-0.07861
	Islands	40	6	50%	8	0.5256	0.0023	-0.55634	-0.91380
Continent	32	9	67%	9	0.7903	0.0033	-2.36299	-0.54287	
CYTB	Total	71	15	67%	17	0.8394	0.0038	-4.86989 *	-1.07872
	SS	14	3	67%	6	0.6044	0.0041	3.15311	0.96824
	FE	16	6	33%	7	0.6833	0.0020	-2.12196 *	-1.51923
	AR	10	5	20%	6	0.8667	0.0028	-1.02075	-0.88604
	RN	15	6	33%	6	0.7143	0.0031	-1.09110	-0.06781
	BA	16	7	43%	7	0.8250	0.0030	-2.14864	-0.61449
	Islands	40	9	67%	12	0.7615	0.0038	-1.14203	-0.63476
Continent	31	9	67%	9	0.7656	0.0030	-2.63748	-0.68777	
RHOD	Total	162	9	44%	6	0.4402	0.0013	-4.99193	-0.93415
	SS	28	3	33%	2	0.6481	0.0017	0.95215	1.08475
	FE	40	3	33%	2	0.3372	0.0007	-0.47471	-0.49812
	AR	20	3	33%	2	0.3526	0.0008	-0.77460	-0.81235
	RN	36	6	17%	4	0.3937	0.0012	-3.21774 *	-1.00243
	BA	38	5	0%	4	0.2475	0.0008	-3.23881 *	-1.51059 *
	Islands	88	5	60%	3	0.5099	0.0013	-1.00005	0.05204
Continent	72	6	67%	4	0.3169	0.0010	-3.16175 *	-0.92834	

The Mantel test showed no correlation between geographic and genetic distances (measured through F_{ST}) for COI, CYTB and RHOD ($r = 0.400$, $P = 0.263$; $r = 0.183$, $P = 0.239$; $r = 0.450$, $P = 0.215$, respectively).

The tests of neutrality (Fu's Fs and Tajima's D) for all three markers showed negative values either when all individuals were considered together or for all locations individually, except for SS. For COI, the two tests were negative and significant only for FE. RHOD suggested an expansion on the coast with negative significant Fu's Fs values for RN and BA and Tajima's D just for BA (Table 1). The

agreement between Fu's F_s and Tajima's D suggested a recent expansion event in FE (obtained by COI), and BA (indicated by RHOD).

Table 2 Fixation paired indices of F_{ST} between sampled localities of *Entomacrodus vomerinus* based on fragments of Cytochrome Oxidase subunit I (COI), Cytochrome b (CYTB) and Rhodopsin (RHOD) genes. F_{ST} between 0.05 and 0 = low genetic differentiation, F_{ST} between 0.05 and 0.25 = moderate genetic differentiation, F_{ST} greater than 0.25 = high genetic differentiation. F_{ST} negative can be considered zero. Significant P values are marked with *. Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).

		SS	FE	AR	RN
COI	SS				
	FE	0.57064 *			
	AR	0.49989 *	-0.01316		
	RN	0.46823 *	0.29939 *	0.21759 *	
	BA	0.48412 *	0.31377 *	0.24579 *	-0.03896
CYTB	SS				
	FE	0.38922 *			
	AR	0.33529 *	-0.01793		
	RN	0.22396 *	0.32309 *	0.25474 *	
	BA	0.22800 *	0.33475 *	0.28090 *	-0.02678
RHOD	SS				
	FE	0.31015 *			
	AR	0.34830 *	0.06728		
	RN	0.38662 *	0.07784 *	0.05915 *	
	BA	0.43061 *	0.06245 *	0.04998 *	-0.01576

The two scenarios of AMOVA for both mitochondrial genes performed separately were not significant (Appendix). However, the AMOVA test closest to a significant P value was recovered by the AMOVA analyses performed on SAMOVA (COI: F_{CT} = 0.4246, P = 0.068; CYTB: F_{CT} = 0.3229, P = 0.068). The test revealed the presence of three genetic groups, one insular (FE + AR), one continental (RN + BA), and one composed exclusively by SS. For RHOD, the scenario that showed greater variation among groups was also recovered by SAMOVA (Appendix), the presence of two groups were recovered, one made up exclusively of SS and the other with all remaining localities, however the P value was not significant (F_{CT} = 0.4002, P = 0.201). The F_{ST} for the three markers indicated restricted gene flow between all populations, except between FE and AR and between RN and BA, corroborating the three groups recovered by AMOVA of mitochondrial markers (Table 2). The structure was stronger between SS and all other localities.

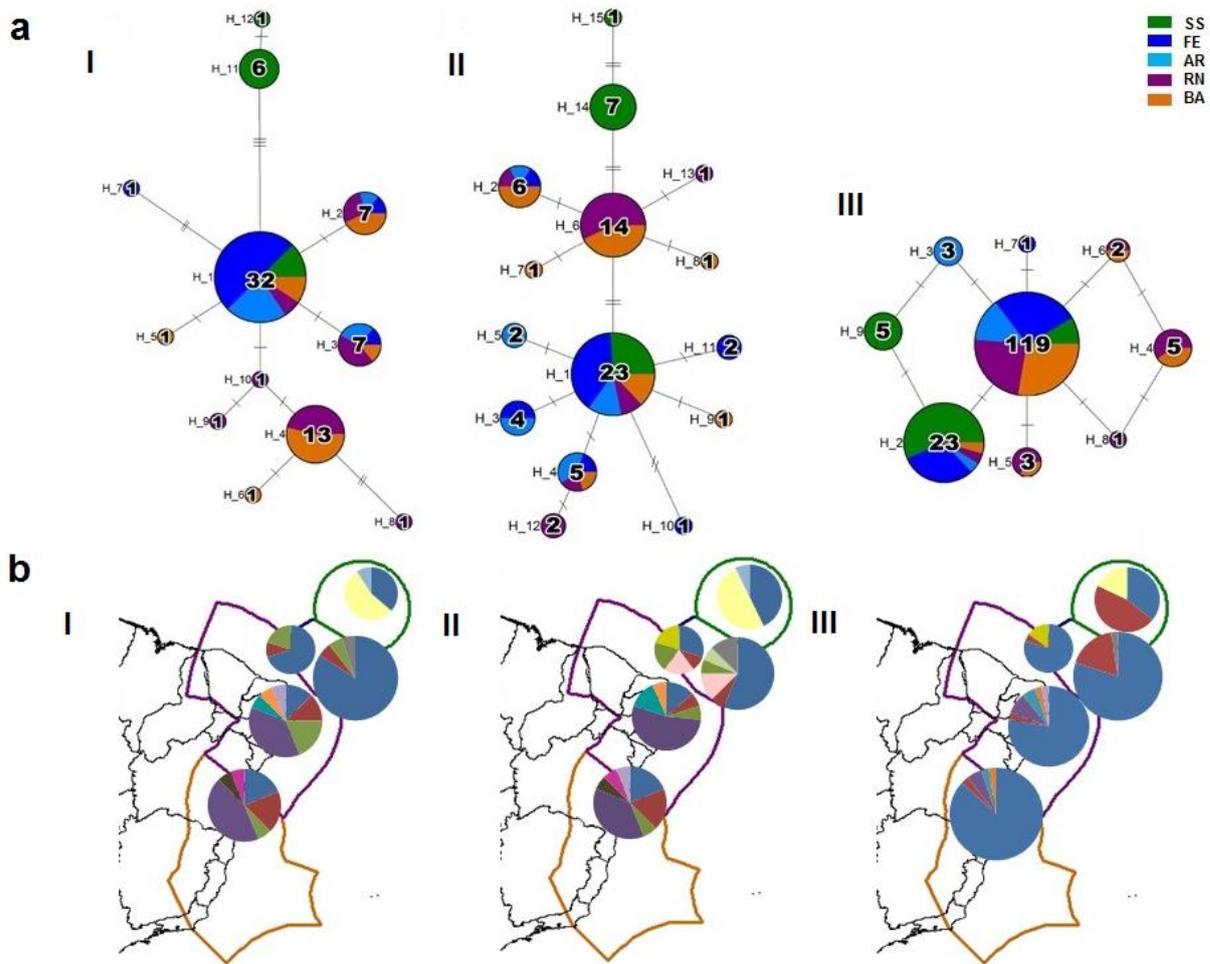


Fig. 2 a Haplotype Networks of *Entomacrodus vomerinus* from Tropical Southwestern Atlantic province. Black numbers inside the circles shows the number of individuals per haplotype, each color represents a locality. **b** Graphic representation of haplotypes' geographical distribution. Each color represents an haplotype. I COI haplotypes. II CYTB haplotypes. III RHOD haplotypes (phased). Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).

BAPS results revealed three genetic groups for mitochondrial markers, one consisting of individuals from all sampled localities, but mainly from FE and AR (red), one exclusively from SS (blue) and another predominantly from continental habitats (green) (Fig. 3). Four groups were recovered from RHOD data, one group (yellow) is composed by specimens from all localities but SS individuals are prevailing, a second group (green) also occur in every location, there is one group (blue) consisting of individuals from all localities except SS, and one (red) exclusive from continental individuals.

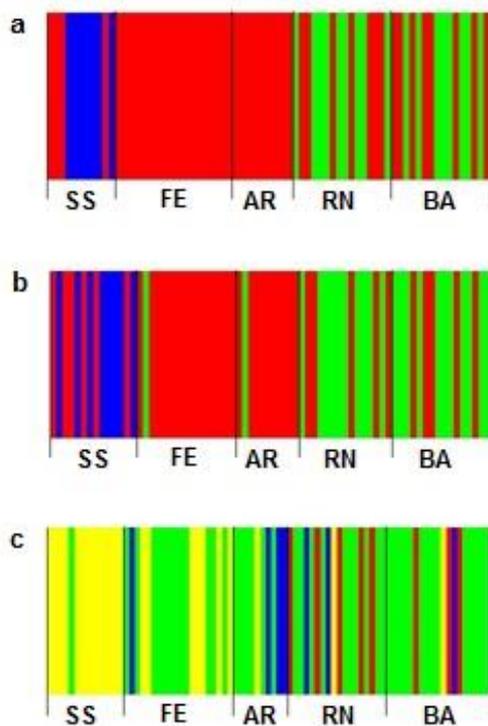


Fig. 3 Genetic structure analysis recovered by BAPS of *Entomacrodus vomerinus* from Tropical Southwestern Atlantic province. a COI haplotypes. b CYTB haplotypes. c RHOD haplotypes (phased). Sao Pedro and Sao Paulo Islands (SS), Fernando de Noronha Archipelago (FE), Atoll das Rocas (AR), Rio Grande do Norte (RN) and Bahia (BA).

3.4 Discussion

Phylogeographic analysis of *Entomacrodus vomerinus* (AMOVA, F_{ST} indices and BAPS) were congruent for both mitochondrial markers, recovering three groups: one continental (RN and BA), one insular (FE and AR) and one made up exclusively of SS individuals. This scenario was also corroborated by F_{ST} indices for the nuclear gene, although AMOVA was not significant and BAPS have showed higher levels of genetic connectivity, because two of the four groups occur in all localities. This may be because the protein coding region in the nuclear genome (exon) is less variable than the mitochondrial genome, and mitochondrial markers can provide information about recent diversification (Near and Keck 2013), which means that the structure among the three genetic groups is probably due to a recent event.

Both genomes agreed that *E. vomerinus* from SS represents a divergent evolutionary lineage, where is evident in BAPS the reduced gene flow between SS and the other localities. In fact, Rangel and Guimarães (2010) study based on meristic variation of fin and vertebrae elements of 153 individuals of *E. vomerinus* found differences in these characters among SS, FE and eastern Brazil individuals.

Moreover, Cunha et al. (2014) found a divergent lineage in SS when analyzed the control region of a reef fish *Chromis multilineata* (Pomacentridae) sampled in the same range as *E. vomerinus*. And recently, Jacobina et al. (2014) verified morphological and karyotypic differentiation in *Caranx lugubris* (Carangidae) in SS, indicating differential adaptive characteristics.

Spalding et al. (2007) classification assumes that different ecoregions are submitted to different forces that affect the faunal distribution, such as geographic isolation, temperature, habitats, currents and others. In fact, SS is an ecoregion and *E. vomerinus* individuals from there have low connectivity with all other localities. FE and AR constitute another ecoregion and are genetically structured too. Although the two coastal localities RN and BA are allocated in different ecoregions (Northeastern Brazil and Eastern Brazil respectively), there was a genetic homogeneity among *E. vomerinus* individuals collected in these two localities ($F_{ST} < 0$). It may be because the sampled point in BA was situated very close to the border between these ecoregions and, therefore, would still be subject to the same environmental characteristics.

In regard to environmental differences, it is known that, for example, the Brazilian continental margin consists of terrigenous sediment supplied by the constant fresh water flow (Arz et al. 1999). FE and AR are part of a volcanic chain with predominance of calcareous, derived from algae and corals (Mohr et al. 2009). SS, on the other hand, has unique features, it is made up of plutonic rocks with a small sedimentary layer and is also one of the Atlantic areas with higher rainfall and therefore has the lowest levels of surface salinity (Mohr et al. 2009). Thereby, it is possible that genetic structure found on *E. vomerinus* may be mediated by environmental aspects (Bowen et al. 2013), as seen in a pair of reef-associated fish (*Halichoeres radiatus* and *H. brasiliensis*, Labridae) from the Atlantic (Rocha et al. 2005), where natural selection acts on environmental gradients overlapping the gene flow and leading to isolation by the environment (Rocha and Bowen 2008). Environmental shifts had also been the explanation for the genetic structure found in the clown fish *Amphiprion bicinctus* (Pomacentridae). In this case, habitat changes prevented the settlement of larvae and immigrants survival causing larval retention on the natal habitat (Nanninga et al. 2014).

As reef fish are sedentary when adults and their dispersal occur mainly by larval transport (Rocha et al. 2002), the larval retention can cause genetic structure by the decrease of gene flow. Although the duration of the larval period in *Entomacrodus* is unknown, genetic connectivity levels are maintained through larval dispersal in other species in the Blenniidae family. *Ophioblennius atlanticus* has benthic egg and long pelagic larvae (50 days) and genetic connectivity using CYTB was found throughout several provinces in the Atlantic Ocean (about 1,800 km apart, including SS and FE localities) (Muss et al. 2001). *Lipophrys pholis* has a 29-day-long pelagic larvae, which is relatively short (Rocha et al. 2008), but can justify the absence of genetic structuring throughout Europe (Lusitanian province), since the adults live in tidal pools and do not disperse over long distances (Francisco et al. 2011). So, predicting the genetic connectivity of a species, pelagic larval duration is not the only relevant feature but understanding the biology and ecology of the larva and the adult is also essential (Joyeux et al. 2001; Rocha 2003; Kelly and Palumbi 2010). Also, generalizations of patterns and processes governing the distribution of biodiversity should be avoided, since species of the same family may respond differently to environmental characteristics within the same biogeographic province.

Although SS fauna is shared with both sides of the Atlantic ocean and with Ascension and St. Helena Islands (belonging to another province with the same name), 80% of 58 reef fish from SS also occur on Brazilian coast, being seven endemic to Brazilian coast and one endemic to FE (Feitoza et al. 2003). This fauna was probably derived by eventually dispersal through Equatorial undercurrent (EUC) (Edwards and Lubbock 1983; Feitoza et al. 2003). This current flows eastward at 40-150m deep with a mean speed of 2.5 kmh^{-1} , and animal larvae can passively be carried from Brazilian coast to SS in approximately three weeks (Edwards and Lubbock 1983). Furthermore, the presence of Macau eddy in RN coast (Marin 2009), may contribute to larvae dispersal from the coast of Brazil through the EUC. Thus, Feitoza et al. (2003) suggested that SS is an outpost from Brazilian province, while Joyeux et al. (2001) recommended that SS should be considered a FE "impoverished caricature", depending on its fish fauna to be colonized.

Is fact, FE is the closest locality to SS and could support a stepping-stone colonization (Carlin et al. 2003), which assumes that a population is subdivided into

colonies and the migration of individuals in each generation is restricted to the colonies closer together (Kimura and Weiss 1964). This model explains the colonization of reef fish from the continent to Trindade Island, where seamounts would be used as intermediate colonies during interglacial periods in the last Pleistocene glaciation (Gasparini and Floeter 2001; Macieira et al. 2015), when the sea level was 130 m below the present (Suguio 1999). The same thought can justify FE colonization by continental individuals of *E. vomerinus*, because this archipelago is part of a seamount chains that extends from the coast of Ceará state, where AR is also situated (Macieira et al. 2015). It is corroborated by the presence of shared haplotypes between the coastal habitats with FE and AR.

However, SS is situated in an area with 2,000 to 4,000 m of depth, without the presence of seamounts in its vicinity (Moraes 2011), and the pattern of currents in the Atlantic can inhibit gene flow and lead to a genetic isolation between the Brazilian coast and SS, because the South-Equatorial current (SEC) splits in the Brazil and North Brazil currents on the horn of Northeastern Brazil (Muss et al. 2001), with a seasonal variation (Rodrigues et al. 2007). Moreover, the interaction between EUC and SEC in the SS topography cause a decrease in upstream speeds, generating a sub-surface vortex system, which leads to organisms and nutrient retention (Araujo and Cintra 2009), which can explain why the genetic diversity of SS is not shared with the other sampled localities, as should be expected.

There were no haplotypes shared between FE and SS except the ancestral one, which could corroborate the stepping-stone colonization scenario followed by isolation and diversification. Nevertheless, the incomplete lineage sorting leads us to think that recent events (Pleistocene) may also have shaped the genetic structure of this blenny. Thus we proposed that larval dispersal of *E. vomerinus* was from the Brazilian coast to AR e FE through the seamounts, which could be facilitated in the Pleistocene interglacial periods, and to SS by the EUC. The subsequent isolation during the last Pleistocene glacial period, led to loss of habitat, reduced gene flow and population genetic structure (reviewed by Ludt and Rocha 2015). The actual gene flow may not be maintained due to larval retention in SS and ecological differences, which can result in an allopatric differentiation in SS ecoregion. Furthermore, the *E. vomerinus* habit (small home area, tidal pools inhabitants and

gregarious behavior, Rangel and Mendes 2009) can also justify the genetic divergence observed.

Evolutionarily Significant Unit (ESU) is a qualitative criteria based on the distribution of population genetic diversity used as basis for a species conservation efforts (Moritz 1994). *Entomacrodus vomerinus* showed genetic structuring among the insular and coastal environments, indicating three ESUs based on mitochondrial data, thus, for the conservation of the species three genetically structured areas must be given priority. Even if the species is not currently threatened, it is essential to conserve the habitats that are under different ecological pressures, ensuring the preservation of genetic variability from many species that depend on them.

3.5 Acknowledgements

We thank Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva, friends and collaborators of the Laboratório de DNA Forense (UFAL), Laboratório de Diversidade Molecular (UFAL), Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental (UFPE), Laboratório de Ictiologia Sistemática e Evolutiva (UFRN) and Laboratório do Oceano (UFRN), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) for the scholarship, Fundação Universitária de Desenvolvimento de Extensão e Pesquisa (Fundepes) and Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) for the financial aid (Subsídios para o desenvolvimento de indicadores do estado da pesca artesanal, ref. 1312/10)

REFERENCES

- Araujo M, Cintra M (2009) Modelagem matemática da circulação oceânica na região equatorial. In: Viana DL, Hazin FHV, Moraes FC, Soares J, Oliveira JEL, Freitas JC, Macedo SJ, Campos TFC (eds) O Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de Estação Científica. SECIRM, Brasília (DF), pp 106-113
- Arz HW, Pätzold J, Wefer G (1999) Climatic changes during the last deglaciation recorded in sediment cores from the northeastern Brazilian Continental Margin. *Geo-Marine Lett* 19:209–218
- Avice JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annu Rev Ecol Syst* 18:489-522

- Avise JC (2000) *Phylogeography: The History and Formation of Species*, 1st edn. Harvard University Press, Massachusetts
- Avise JC (2009) *Phylogeography : retrospect and prospect*. *J Biogeogr* 36:3–15. doi: 10.1111/j.1365-2699.2008.02032.x
- Baldwin CC, Mounts JH, Smith DG, Weigt LA (2009) Genetic identification and color descriptions of early life-history stages of Belizean *Phaeoptyx* and *Astrapogon* (Teleostei: Apogonidae) with Comments on identification of adult *Phaeoptyx*. *Zootaxa* 22:1–22
- Bandelt HJ, Foster P, Röhl A (1999) Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol Biol Evol* 16(1):37–48
- Bowen BW, Rocha LA, Toonen RJ, Karl SA, Laboratory T (2013) The origins of tropical marine biodiversity. *Trends Ecol Evol* 28(6):359-366
- Briggs JC (1974) *Marine zoogeography*. McGraw-Hill, New York
- Briggs JC, Bowen BW (2012) A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. *J Biogeogr* 39:12-30
- Carlin JL, Robertson DR, Bowen BW (2003) Ancient divergences and recent connections in two tropical Atlantic reef fishes *Epinephelus adscensionis* and *Rypticus saponaceous* (Percoidei: Serranidae). *Mar Biol* 143:1057–1069. doi: 10.1007/s00227-003-1151-3
- Corander J, Marttinen P (2006) Bayesian identification of admixture events using multilocus molecular markers. *Mol Ecol* 15:2833–2843
- Corander J, Marttinen P, Siren J, Tang J (2008) Enhanced Bayesian modeling in BAPS software for learning genetic structure of populations. *BMC Bioinformatics* 9: 539–552
- Cunha IMC, Souza AS, Dias Jr EA, Amorim KDJ, Soares RX, Costa GWWF, García-Machado E, Galetti Jr PM, Molina WF (2014) Genetic Multipartitions Based on D-Loop Sequences and Chromosomal Patterns in Brown Chromis , *Chromis multilineata* (Pomacentridae), in the Western Atlantic. *Biomed Res Int* 2014:1–11
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol Ecol* 11:571-2581
- Edwards A, Lubbock R (1983) Marine Zoogeography of St Paul's Rocks. *J Biogeogr* 10:65-72
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10:564–7. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x

- Feitoza BM, Rocha LA, Luiz-júnior OJ, Floeter SR, Gasparini JL (2003) Reef fishes of St. Paul's Rocks: new records and notes on biology and zoogeography. *Aqua, J Ichthyol Aquatic Biol* 7:61–82
- Floeter SR, Guimarães RZP, Rocha LA, Ferreira CEL, Rangel CA, Gasparini JL (2001) Geographic variation in reef-fish assemblages along the Brazilian coast. *Global Ecol Biogeogr* 10:423-431
- Floeter SR, Rocha LA, Robertson DR, Joyeux JC, Smith-Vaniz WF, Wirtz P, Edwards AJ, Barreiros JP, Ferreira CEL, Gasparini JL, Brito A, Falcón JM, Bowen BW, Bernardi G (2008) Atlantic reef fish biogeography and evolution. *J Biogeogr* 35:22–47
- Francisco SM, Faria C, Lengkeek W, Vieira MN, Velasco EM, Almada VC (2011) Phylogeography of the shanny *Lipophrys pholis* (Pisces: Blenniidae) in the NE Atlantic records signs of major expansion event older than the last glaciation. *J Exp Mar Bio Ecol* 403:14–20. doi: 10.1016/j.jembe.2011.03.020
- Fu YX (1997) Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics* 147:915-925
- Gasparini JL, Floeter SR (2001) The shore fishes of Trindade Island, western South Atlantic. *J Nat Hist* 35:1639–1656
- Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405:220–227. doi: 10.1038/35012228
- Hall TA (1999) BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41:95–98
- Hannah L, Midgley GF, Lovejoy T, Bond WJ, Bush M, Lovett JC, Scott D, Woodward FI (2002) Conservation of Biodiversity in a Changing Climate. *Conserv Biol* 16(1):264–268
- Jacobina UP, Martinez PA, Cioffi MB, Garcia Jr J, Bertollo LAC, Molina WF (2014) Morphological and karyotypic differentiation in *Caranx lugubris* (Perciformes: Carangidae) in the St. Peter and St. Paul Archipelago, mid-Atlantic Ridge. *Helgol Mar Res* 68:17-25
- Joyeux J, Floeter SR, Ferreira CEL, Gasparini JL (2001) Biogeography of tropical reef fishes: the South Atlantic puzzle. *J Biogeogr* 28:831–841
- Kelly RP, Palumbi SR (2010) Genetic structure among 50 species of the northeastern Pacific rocky intertidal community. *PLoS One* 5(1):e8594. doi: 10.1371/journal.pone.0008594
- Kimura M, Weiss GH (1964) The Stepping Stone Model Of Population Structure And The Decrease Of Genetic Correlation With Distance. *Genetics* 49:561-576

- Knowles LL, Maddison WP (2002) Statistical Phylogeography. *Mol Ecol* 11:2623-2635
- Ludt WB, Rocha LA (2015) Shifting seas: the impacts of Pleistocene sea-level fluctuations on the evolution of tropical marine taxa. *J Biogeogr* 42:25–38. doi: 10.1111/jbi.12416
- Macieira RM, Thyoni S, Pimentel CR, Joyeux JC (2015) Isolation and speciation of tidepool fishes as a consequence of Quaternary sea-level fluctuations. *Environ Biol Fish* 98(1):385–393
- Marin FO (2009) A Subcorrente Norte do Brasil ao Largo da Costa do Nordeste. Master thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo
- Mendes LF (2006) História natural dos amborés e peixe-macaco (Actinopterygii, Blennioidei, Gobioidae) do Parque Nacional Marinho do Arquipélago de Fernando de Noronha, sob um enfoque comportamental. *23(3):817–823*
- Mohr LV (2009) Ilhas Oceânicas brasileiras: da pesquisa ao manejo – volume II. MMA-Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Brasília
- Moraes FC (2011) Esponjas das Ilhas Oceânicas Brasileiras. Museu Nacional, Rio de Janeiro
- Moritz C (1994) Defining “ Evolutionarily Significant Units ” for conservation. *TREE* 9(10):373–375
- Muss A, Robertson DR, Stepien CA, Wirtz P, Bowen BW (2001) Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution* 55(3):561–572.
- Nanninga GB, Saenz-Agudelo P, Manica A, Berumen ML (2014) Environmental gradients predict the genetic population structure of a coral reef fish in the Red Sea. *Mol Ecol* 23:591–602. doi: 10.1111/mec.12623
- Near TJ, Keck BP (2013) Molecular Phylogenetics and Evolution Free from mitochondrial DNA: Nuclear genes and the inference of species trees among closely related darter lineages (Teleostei: Percidae: Etheostomatinae). *Mol Phylogenet Evol* 66:868–876. doi: 10.1016/j.ympev.2012.11.009
- Ramos-Onsins SE, Rozas J (2002) Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Mol Biol Evol* 19(12):2092–2100
- Rangel CA, Mendes LF (2009) Review of blennioid fishes from Fernando de Noronha Archipelago, Brazil, with description of a new species of *Scartella* (Teleostei: Blenniidae). *Zootaxa* 2006:51-61

- Rangel CA, Guimarães RZP (2010) Taxonomia e distribuição da família Blenniidae (Teleostei: Blennioidei) na costa leste do Brasil. *Rev Bras Zool* 12(1):17–41
- Rocha LA, Bass AL, Robertson DR, Bowen BW (2002) Adult habitat preferences, larval dispersal, and the comparative phylogeography of three Atlantic surgeonfishes (Teleostei: Acanthuridae). *Mol Ecol* 11:243–251. doi: 10.1046/j.0962-1083.2001.01431.x
- Rocha LA, Robertson DR, Roman J, Bowen BW (2005) Ecological speciation in tropical reef fishes. *Philos T Roy Soc B* 272:573–579
- Rocha LA (2003) Patterns of distribution and processes of speciation in Brazilian reef fishes. *J Biogeogr* 30:1161–1171
- Rocha LA, Bowen BW (2008) Speciation in coral-reef fishes. *J Fish Biol* 72:1101–1121. doi: 10.1111/j.1095-8649.2007.01770.x
- Rocha LA, Rocha CR, Robertson DR, Bowen BW (2008) Comparative phylogeography of Atlantic reef fishes indicates both origin and accumulation of diversity in the Caribbean. *BMC Evol Biol* 8(157). doi: 10.1186/1471-2148-8-157
- Rodrigues RR, Rothstein LM, Wimbush M (2007) Seasonal Variability of the South Equatorial Current Bifurcation in the Atlantic Ocean: A Numerical Study. *J Phys Oceanogr* 37:16-30
- Rosetti N, Remis MI (2012) Spatial Genetic Structure and Mitochondrial DNA Phylogeography of Argentinean Populations of the Grasshopper *Dichroplus elongatus*. *PLoS One* 7(7): e40807. doi:10.1371/journal.pone.0040807
- Rozas J (2009) Bioinformatics for DNA Sequence Analysis. In: David P (ed), *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis, Methods in Molecular Biology*. Humana Press, New Jersey, pp 337–350. doi: 10.1007/978-1-59745-251-9
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Santos S, Hrbek T, Farias IP, Schneider H, Sampaio I (2006) Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Mol Ecol* 15:4361-4373. doi: 10.1111/j.1365-294X.2006.03108.x
- Sevilla RG, Diez A, Norén M, Mouchel O, Jérôme M, Verrez-Bagnis V, Pelt HV, Favre-Krey L, Krey G, The Fishtrace Consortium, Bautista JM (2007) Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial Cytochrome b and nuclear rhodopsin genes. *Mol Ecol Notes* 7:730–734

- Smith MF, Patton JL (1993) The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the Akodontine tribe. *Biol J Linn Soc* 50:149–177
- 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 Coastal and Shelf Areas. *Bioscience* 57(7):573–583
- Stephens M, Smith NJ, Donnelly P (2001) A New Statistical Method for Haplotype Reconstruction from Population Data. *Am J Hum Genet* 68:978–989
- Stephens M, Smith NJ, Donnelly P (2004) Documentation for PHASE, version 2.1. <http://stephenslab.uchicago.edu/instruct2.1.pdf> Accessed 23 January 2015
- Sugio K (1999) Recent progress in Quaternary geology of Brazil. *Episodes* 22(3):217–220
- Tajima F (1989) The Effect of Change in Population Size on DNA Polymorphism. *Genetics* 523:597-601
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30(12):2725–2729. doi: 10.1093/molbev/mst197
- Ward RD (2012) FISH-BOL, A Case Study for DNA Barcodes. In: In: Kress WJ, Erickson DL (eds). *DNA Barcodes: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. LLC, Tennessee, pp 423–439. doi: 10.1007/978-1-61779-591-6
- Williams JT, Craig MT (2014) *Entomacrodus vomerinus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <http://www.iucnredlist.org>. Accessed 31 March 2015.
- Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W (2000) A Greedy Algorithm for Aligning DNA Sequences. *J Comput Bioogy* 7:203–214.

4. Conclusões

Os genes mitocondriais COI e CYTB recuperaram três haplogrupos de *Entomacrodus vomerinus* para todas as análises, indicando três ESUs. Dados provenientes do gene nuclear RHOD não apresentaram congruência entre todas as análises, porém, todas elas apontaram a redução de fluxo gênico entre SS e todas as localidades.

É possível sugerir que as larvas de *E. vomerinus* provenientes da costa se dispersaram até FE e AR, colonizando esses habitats por intermédio dos montes submarinos emersos durante os períodos interglaciais do Pleistoceno, e chegaram a SS (distante 1.010 km da costa brasileira e 628 km de FE), possivelmente pela EUC. No entanto, após o assentamento das larvas, as populações foram isoladas devido aos períodos glaciais do Pleistoceno. O fluxo gênico em *E. vomerinus* é atualmente reduzido devido às diferentes características ambientais da costa e das ilhas oceânicas brasileiras, onde a costa brasileira é constituída principalmente de sedimento terrígeno, FE e AR de sedimento calcário e SS de rocha plutônicas. Além disso, pode ocorrer retenção das larvas em SS devido à interação de EUC e SEC.

O padrão de estruturação genética encontrado em *E. vomerinus* corrobora a classificação biogeográfica sugerida por Spalding e colaboradores (2007), que sugere a redução da conectividade genética entre as diferentes ecorregiões.

No entanto, generalizações sobre os processos que regem a distribuição da biodiversidade devem ser evitadas, uma vez que espécies com a biologia similar, pertencentes à mesma família podem responder de forma diferente às características ambientais dentro da mesma província biogeográfica.

APPENDIX

A - Specimens included in this study and the sampled location. Acronym: UFRN= Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Registration number	Individual	Sampled date	Sampled location	GenBank accession number		
				COI	CYTB	RHOD
UFRN1289	SS1	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	-	KP714844	-
UFRN1289	SS2	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	-	KP714845	KP715031
UFRN1289	SS3	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714935	-	-
UFRN1289	SS4	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714936	KP714846	KP715032
UFRN1289	SS5	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714937	KP714847	KP715033
UFRN1289	SS6	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	-	KP714848	KP715034
UFRN1289	SS7	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	-	KP714849	KP715035
UFRN1289	SS8	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714938	KP714850	KP715036
UFRN1289	SS9	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714939	-	KP715037
UFRN1289	SS10	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	-	KP714851	KP715038
UFRN1289	SS11	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714940	KP714852	KP715039
UFRN1289	SS12	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714941	KP714853	KP715040
UFRN1289	SS13	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714942	KP714854	KP715041
UFRN1289	SS14	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714943	KP714855	KP715042
UFRN1289	SS15	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714944	KP714856	KP715043
UFRN1290	SS16	07/IV/2013	Piscina de maré, Ilha Belmonte, Arquipélago de São Pedro e São Paulo, PE, Brazil	KP714945	KP714857	KP715044
UFRN058	FE1	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714900	KP714813	KP714993
UFRN058	FE2	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714901	KP714814	KP714994
UFRN058	FE3	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714902	KP714815	KP714995

UFRN058	FE4	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714903	KP714816	KP714996
UFRN058	FE5	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714904	-	KP714997
UFRN058	FE6	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714905	KP714817	KP714998
UFRN058	FE7	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714906	KP714818	KP714999
UFRN058	FE8	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714907	-	KP715000
UFRN058	FE9	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714908	KP714819	KP715001
UFRN058	FE10	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714909	KP714820	KP715002
UFRN058	FE11	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714910	KP714821	KP715003
UFRN058	FE12	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	-	-	KP715004
UFRN058	FE13	09/VII/2011	Poças de maré na praia do Boldró, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714911	KP714822	KP715005
UFRN056	FE14	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714912	-	KP715006
UFRN056	FE15	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714913	KP714823	KP715007
UFRN056	FE16	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714914	KP714824	KP715008
UFRN056	FE17	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714915	KP714825	KP715009
UFRN056	FE18	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714916	KP714826	KP715010
UFRN056	FE19	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714917	KP714827	KP715011
UFRN056	FE20	12/VII/2011	Atalaia, Fernando de Noronha, PE, Brazil	KP714918	KP714828	KP715012
UFRN1387	AR11	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714874	KP714787	KP714962
UFRN1387	AR12	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714875	KP714788	KP714963
UFRN1387	AR13	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714876	KP714789	KP714964
UFRN1387	AR14	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714877	KP714790	KP714965
UFRN1387	AR15	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714878	KP714791	KP714966
UFRN1387	AR16	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714879	KP714792	KP714967
UFRN1387	AR17	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714880	KP714793	KP714968
UFRN1387	AR18	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714881	KP714794	KP714969
UFRN1387	AR19	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714882	KP714795	KP714970
UFRN1387	AR20	06/V/2013	Falsa Barreta, Atol das Rocas, RN, Brazil	KP714883	KP714796	KP714971
UFRN441	RN1	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714919	KP714829	KP715013

UFRN441	RN2	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714920	KP714830	KP715014
UFRN441	RN3	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	-	-	KP715015
UFRN441	RN5	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714921	KP714831	KP715016
UFRN441	RN6	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714922	KP714832	KP715017
UFRN441	RN7	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714923	KP714833	KP715018
UFRN441	RN8	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714924	KP714834	KP715019
UFRN441	RN9	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714925	-	KP715020
UFRN441	RN10	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714926	KP714835	KP715021
UFRN441	RN11	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714927	KP714836	KP715022
UFRN441	RN12	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714928	KP714837	KP715023
UFRN441	RN13	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714929	KP714838	KP715024
UFRN441	RN14	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714930	KP714839	KP715025
UFRN441	RN15	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	-	KP714840	KP715026
UFRN441	RN16	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714931	KP714841	KP715027
UFRN441	RN17	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714932	KP714842	KP715028
UFRN441	RN18	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714933	KP714843	KP715029
UFRN441	RN19	02/IX/2012	Pedras entre a praia de Pipa e a praia do Amor, Tibau do Sul, RN, Brazil	KP714934	-	KP715030
UFRN078	BA1	08/III/2012	Costão da Praia de Ondina, Salvador, Bahia, Brazil	-	-	KP714972
UFRN078	BA2	08/III/2012	Costão da Praia de Ondina, Salvador, Bahia, Brazil	-	-	KP714973
UFRN078	BA3	08/III/2012	Costão da Praia de Ondina, Salvador, Bahia, Brazil	-	-	KP714974
UFRN079	BA4	08/III/2012	Costão da Praia de Ondina, Salvador, Bahia, Brazil	-	-	KP714975
UFRN079	BA5	08/III/2012	Costão da Praia de Ondina, Salvador, Bahia, Brazil	KP714884	KP714797	KP714976
UFRN2519	BA6	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	-	-	KP714977
UFRN2519	BA7	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714885	KP714798	KP714978
UFRN2519	BA8	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714886	KP714799	KP714979
UFRN2519	BA9	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714887	KP714800	KP714980
UFRN2519	BA10	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714888	KP714801	KP714981
UFRN2519	BA11	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714889	KP714802	KP714982

UFRN2519	BA12	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714890	KP714803	KP714983
UFRN2519	BA13	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714891	KP714804	KP714984
UFRN2519	BA14	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714892	KP714805	KP714985
UFRN2519	BA15	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714893	KP714806	KP714986
UFRN2519	BA16	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714894	KP714807	KP714987
UFRN2519	BA17	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714895	KP714808	KP714988
UFRN2519	BA18	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714896	KP714809	KP714989
UFRN2519	BA19	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714897	KP714810	KP714990
UFRN2519	BA20	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714898	KP714811	KP714991
UFRN2519	BA21	14/III/2014	Pier do Forte de Santa Maria, Praia do Porto da Barra, Salvador, Bahia, Brazil	KP714899	KP714812	KP714992

B - Analysis of Molecular Variance (AMOVA)

COI gene

1 Performed on Arlequin 3.5 based on Insular x Continental hypotheses (SS+FE+AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	19.11%	$F_{CT} = 0.19110$	0.10166±0.01075
Among populations within groups	19.37%	$F_{SC} = 0.24322$	0.00000±0.00000
Within populations	61.22%	$F_{ST} = 0.38784$	0.00000±0.00000
2 Performed on Arlequin 3.5 based on Ecoregion hypotheses (SS / FE+AR / RN / BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	39.90%	$F_{CT} = 0.39899$	0.09971±0.00797
Among populations within groups	-3.38%	$F_{SC} = -0.05631$	0.65396±0.01708
Within populations	63.49%	$F_{ST} = 0.36514$	0.00000±0.00000
3 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 2 groups (SS / FE+AR+RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	42.00%	$F_{CT} = 0.42005$	0.20039±0.01424
Among populations within groups	10.67%	$F_{SC} = 0.18402$	0.00000±0.00000
Within populations	47.32%	$F_{ST} = 0.52677$	0.00000±0.00000
4 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 3 groups (SS / FE+AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	42.47%	$F_{CT} = 0.42466$	0.06354±0.00602
Among populations within groups	-2.29%	$F_{SC} = -0.03979$	0.00000±0.00000
Within populations	59.82%	$F_{ST} = 0.40177$	0.00000±0.00000
5 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 4 groups (SS / FE+AR / RN / BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	39.90%	$F_{CT} = 0.39899$	0.12317±0.00767
Among populations within groups	-3.38%	$F_{SC} = -0.05631$	0.00000±0.00000
Within populations	63.49%	$F_{ST} = 0.36514$	0.00000±0.00000

CYTB gene

1 Performed on Arlequin 3.5 based on Insular x Continental hypotheses (SS+FE+AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	9.56%	$F_{CT} = 0.09564$	0.19759±0.01415
Among populations within groups	18.68%	$F_{SC} = 0.20659$	0.00000±0.00000
Within populations	71.75%	$F_{ST} = 0.28247$	0.00000±0.00000
2 Performed on Arlequin 3.5 based on Ecoregion hypotheses (SS / FE+AR / RN / BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	29.56%	$F_{CT} = 0.29565$	0.17889±0.01046
Among populations within groups	-2.28%	$F_{SC} = -0.03230$	0.62366±0.01317
Within populations	72.71%	$F_{ST} = 0.27290$	0.00000±0.00000
3 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 2 groups (SS / FE+AR+RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	15.64%	$F_{CT} = 0.15642$	0.20821±0.00000
Among populations within groups	16.90%	$F_{SC} = 0.20033$	0.00000±0.00000
Within populations	67.46%	$F_{ST} = 0.32542$	0.00000±0.00000
4 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 3 groups (SS / FE+AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	32.29%	$F_{CT} = 0.32290$	0.06843±0.00000
Among populations within groups	-1.96%	$F_{SC} = -0.02892$	0.00000±0.00000
Within populations	69.67%	$F_{ST} = 0.30331$	0.00000±0.00000
5 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 4 groups (SS / FE / AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	30.05%	$F_{CT} = 0.30048$	0.10459±0.00000
Among populations within groups	-1.84%	$F_{SC} = -0.02625$	0.00000±0.00000
Within populations	71.79%	$F_{ST} = 0.28211$	0.00000±0.00000

RHOD gene

1 Performed on Arlequin 3.5 based on Insular x Continental hypotheses (SS+FE+AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	6.97%	$F_{CT} = 0.06972$	0.30792±0.01406
Among populations within groups	17.59%	$F_{SC} = 0.18950$	0.00000±0.00000
Within populations	75.44%	$F_{ST} = 0.24559$	0.00000±0.00000
2 Performed on Arlequin 3.5 based on Ecoregion hypotheses (SS / FE+AR / RN / BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	20.43%	$F_{CT} = 0.20428$	0.41056±0.01714
Among populations within groups	3.35%	$F_{SC} = 0.04207$	0.05474±0.00603
Within populations	76.23%	$F_{ST} = 0.23775$	0.00000±0.00000
3 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 2 groups (SS / FE+AR+RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	40.02%	$F_{CT} = 0.40024$	0.20137±0.01111
Among populations within groups	2.30%	$F_{SC} = 0.03836$	0.00489±0.00247
Within populations	57.68%	$F_{ST} = 0.42324$	0.00000±0.00000
4 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 3 groups (SS / AR / FE+RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	29.72%	$F_{CT} = 0.29718$	0.10459±0.00829
Among populations within groups	2.45%	$F_{SC} = 0.03486$	0.02248±0.00444
Within populations	67.83%	$F_{ST} = 0.32168$	0.00000±0.00000
5 Performed on SAMOVA 1.0 indicating 4 groups (SS / FE / AR / RN+BA)			
	Percentage of variation	Fixation indices	Significance tests P value
Among groups	26.45%	$F_{CT} = 0.26445$	0.10264±0.00000
Among populations within groups	-1.19%	$F_{SC} = -0.01614$	0.18866±0.01182
Within populations	74.74%	$F_{ST} = 0.25258$	0.00000±0.00000