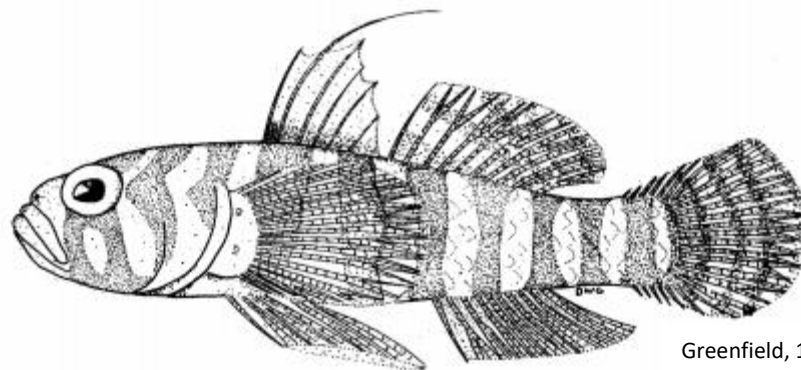


UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA AMBIENTAL

História Evolutiva do Gênero *Priolepis* (Pisces: Gobiidae) no Atlântico



Greenfield, 1989

Thais Lemos Quintão

Vitória, 2019

História Evolutiva do Gênero *Priolepis* (Pisces: Gobiidae) no Atlântico

Thais Lemos Quintão

Orientador: **Dr. Jean-Christophe Joyeux**

Coorientadora: **Dr^a. Ana Carolina Loss**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Ambiental, da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Oceanografia Ambiental.

Vitória

2019

Dedico este trabalho às pessoas que, assim como as estrelas, continuam a nos iluminar com seu brilho mesmo depois de deixarem de existir: meus avós Djalma e Giovanne e meu orientador Thiony. Também o dedico ao meu filho, cujo amor me serve de inspiração diária, e aos meus pais e irmão por serem meu alicerce, lar e exemplo.

Agradecimento

Cada página deste trabalho carrega um pouco de todas as pessoas que admiro e me inspiram de alguma forma. Em primeiro lugar, agradeço à minha família e, principalmente, aos meus pais por serem minha referência de garra, dedicação e amor. Tenho certeza que ao longo destes 26 anos precisaram abdicar de suas próprias prioridades para dar a mim a oportunidade de chegar mais longe. Agradeço também ao meu filho por aguentar tantos finais de semana que precisei passar trabalhando e por me fazer enxergar o mundo com novos olhos. Também agradeço ao meu companheiro Flávio por ser meu parceiro e amigo ao longo de mais esta etapa.

Agradeço imensamente ao Jean e Thiony, que moldaram a maneira como enxergo a ciência. Similar ao relato de Degrasse ao conhecer Sagan, posso dizer que desde a graduação *já sabia o que eu gostaria de ser, mas desde quando os conheci, eu decidi a pessoa que eu gostaria de me tornar*. Agradeço ao Jean pela generosidade de tempos, pela confiança, pelas discussões inspiradoras e por ser a alegria do laboratório. Mais uma vez, agradeço ao Thiony pelas conversas entre os intervalos de trabalho em que me ensinou sobre ética, ciência e sobre a pessoa/cientista que deveria me tornar. Continuo a seguir o caminho que me indicou. A ausência de seus exemplos ao longo de mais este trabalho foi preenchida por sua presença em cada um dos amigos que deixou.

Agradeço ao Ryan por me inspirar em nossos debates sobre a ciência e por ser exemplo de amor à pesquisa. Seu incentivo foi fundamental para o final desta etapa e início de tantas outras. Agradeço ao Macieira por ser inspiração desde as aulas de ictiologia, por me confiar este trabalho e por ser exemplo de entusiasmo e garra. Agradeço ao Hudson por ser minha referência mais próxima e por despertar em mim e tantas outras pessoas a vontade de fazer ciência. Obrigada pelas ideias esclarecedoras ao longo deste trabalho.

Também agradeço aos Baianos pela maravilhosa companhia, por serem meu exemplo de disciplina, pelas broncas, comidas (Lay) e pelos dias de frio (Gabriel). Agradeço ao Caio pelos esforços de coleta, por ser exemplo de compromisso e, até mesmo, pelas discussões. Agradeço ao Ciro por ser exemplo de serenidade, pelos conselhos e também pelas cervejas não pagas. Agradeço ao Gabiroba por ser meu exemplo de sonhador e à Cris e Maik por serem exemplo de alegria.

Esta jornada se tornou mais leve graças a companhia e amizade das meninas que estão percorrendo o mesmo caminho que eu: Rebs, Thay, Fran, Jenifer, Júlia e Kathy. Obrigada a todas pelos risos e amizade.

Agradeço à minha co-orientadora, Carol Loss, por ser uma linda referência para todas nós mulheres que estamos começando na ciência e, além disso, por construir comigo esse trabalho e pela paciência durante os ensinamentos.

A conclusão deste trabalho não seria possível sem o grande apoio do professor Yuri Leite e do Núcleo de Genética Aplicada a Conservação que disponibilizaram a infraestrutura e equipamentos necessários para que nossas análises fossem realizadas. As metodologias aqui usadas foram debatidas por professores e amigos da *Red de Genética para la Conservación*, por quem guardo grande admiração. Obrigada a todos.

Por fim, todas as amostras usadas foram cedidas pela Coleção Ictiológica da UFES (CIUFES), pelo *Smithsonian Institute* e pelo pesquisador Benjamin Victor e, por isso, agradeço a todos envolvidos nas coletas assim como os curadores das coleções. Agradeço aos apoios financeiros recebidos pela CAPES e ProTrindade que possibilitaram a realização deste trabalho.

“O mistério da vida me causa a mais forte emoção. É o sentimento que suscita a beleza e a verdade, cria a arte e a ciência. Se alguém não conhece esta sensação ou não pode mais experimentar espanto ou surpresa, já é um morto-vivo e seus olhos se cegaram”

Einstein

RESUMO

Priolepis (Valenciennes 1837) é um gênero de pequenos peixes bentônicos, da família Gobiidae, associado principalmente a ambientes recifais e distribuído em diferentes gradientes de profundidade. Grande parte da sua biodiversidade concentra-se no Indo Pacífico (32 espécies), com exceção das espécies *Priolepis hipoliti*, *P. dawsoni*, *P. ascensionis* e *P. robinsi*, presentes no Atlântico. Estas espécies, exceto *P. robinsi*, têm sua distribuição limitada por barreiras biogeográficas indicando assim, origem por especiação alopátrica. Neste estudo, buscamos pela primeira vez compreender a história evolutiva do gênero *Priolepis* no Atlântico utilizando marcadores moleculares e sequenciamento Sanger. Testamos as hipóteses de i) divergência entre as linhagens do Caribe e Brasil por vicariância e ii) formação da linhagem de Ascensão por especiação peripátrica. Análises de filogenia, usando os genes COI, Citb, 12s, ND2, e S7, foram integradas às de filogeografia, com os genes COI e Citb (em *P. dawsoni*), a fim de gerar melhor compreensão sobre a evolução do grupo estudado. Análises filogenéticas de distância-p, Inferência Bayesiana e Relógio Molecular foram realizadas para determinar a proximidade evolutiva entre as espécies do Grupo *Priolepis* bem como inferir se o tempo de divergência entre elas está associado a processos históricos evolutivos. Para compreender a história demográfica das populações utilizamos índices de diversidade genética (haplotípica e nucleotídica), testes de neutralidade e o método de Coalescência Bayesiana *Skyline Plot* para avaliar as flutuações populacionais ao longo do tempo. Por último, verificamos a relação hierárquica entre os haplótipos de cada espécie e testamos as evidências de estruturação encontradas em *Priolepis dawsoni* usando o índice F_{st} e análises de variância molecular (SAMOVA e AMOVA) para o Citb. Nossos resultados mostraram grande correlação entre as divergências encontradas em *Priolepis* e eventos geológicos e climáticos. Sua história evolutiva se inicia com o fechamento da passagem de Tethys resultando no isolamento e origem do Clado Atlântico (~13 Ma). Apenas dois milhões de anos depois (~10,5 Ma), a formação da barreira do Amazonas dividiu as linhagens do Atlântico norte e sul, corroborando nossa hipótese inicial de especiação alopátrica por vicariância. A hipótese de especiação alopátrica peripátrica para Ascensão também foi corroborada e o melhor cenário para explicar a origem de *P. ascensionis* é a dispersão a partir do Brasil incluindo a CVT como fonte. As análises filogeográficas e demográficas apontam grande diversidade genética em todas as espécies e também sugerem que a história evolutiva das populações estudadas foi influenciada pelas variações climáticas do Pleistoceno e que o hábito generalista destas pode facilitar a dispersão entre regiões distantes

e ambientes diferentes. Por último, a comprovação molecular de espécimes de *P. dawsoni* no Caribe indicam que seu status de endêmico do Brasil deve ser reavaliado.

SUMÁRIO

Introdução.....	1
O gênero <i>Priolepis</i> (Gobiidae).....	1
<i>Priolepis</i> no Atlântico.....	3
Especiação alopátrica em <i>Priolepis</i> ?.....	5
Objetivos.....	9
Metodologia	10
Aquisição de amostras.....	9
Extração do DNA, Amplificação e Sequenciamento.....	9
Análises Filogenéticas	12
Relógio Molecular.....	13
Demografia e Filogeografia.....	14
Resultados.....	16
Filogenia.....	16
Filogeografia e Demografia.....	21
Estruturação em <i>Priolepis dawsoni</i> ?.....	27
Discussão.....	29
Topologia.....	29
Do grupo ao gênero <i>Priolepis</i>	29
A formação do Clado Atlântico.....	30
Divergências dentro do Atlântico.....	31

<i>Priolepis hipoliti</i>	32
<i>Priolepis dawsoni</i>	33
<i>Priolepis ascensionis</i>	35
Conclusões	37
Referências	38
Apêndice I.....	46
Apêndice II.....	50
Apêndice III.....	57
Apêndice IV.....	58

INTRODUÇÃO

Há pouco menos de 20 anos o entendimento sobre a história evolutiva dos peixes recifais¹ ganhou importante desenvolvimento com o avanço e popularização das técnicas moleculares, das técnicas de mergulho e, ainda mais recente, com o descobrimento da enorme biodiversidade representada pelos peixes recifais criptobentônicos (Mora, 2017; Brandl et al., 2018). Esta fauna, ainda subestimada, passou a ser reconhecida após a aplicação de métodos de coleta que considerem seu hábito críptico como, por exemplo, o uso de anestésicos. Concomitante a este avanço, o sequenciamento do DNA (de Sanger e Nova Geração) permitiu o reconhecimento de espécies crípticas, bem como a identificação de barreiras ao fluxo gênico e casos de especiações ecológicas. Posteriormente, a exploração recente de recifes mesofóticos (40-150 m) usando técnicas de mergulho autônomo com circuito fechado, permitiram a identificação de novas linhagens e espécies (Pyle, 1999, 2000; Tornabene et al., 2016b). Atualmente, estima-se que o número de criptobentônicos ultrapasse o de peixes recifais maiores até 2031 (Brandl et al., 2018).

Apesar de ainda pouco compreendida, a história evolutiva dentro deste grupo tem caracterizado suas espécies como bons marcadores ambientais e bons modelos evolutivos. Seu pequeno tamanho permite adaptações a microhabitats e, somado à baixa mobilidade e relativa menor fecundidade, justifica casos comuns de estruturação genética e altas taxas evolutivas, ampliando nossa compreensão sobre a atuação dos processos evolutivos em menor escala (Patzner, 2012). Grande parte do esforço atual para se compreender a evolução neste grupo está voltado para a família Gobiidae, a mais representativa em número de espécies (Brandl et al., 2018). Visando acrescentar conhecimento à evolução deste grupo no Atlântico, buscamos identificar os agentes históricos que influenciaram a evolução do gênero *Priolepis*.

O gênero Priolepis (Gobiidae)

Priolepis (Valenciennes, 1837) é um gênero de pequenos peixes bentônicos, da família Gobiidae, associado principalmente a ambientes recifais (com exceção de *P. goldshmidt*, *P. aithiops* e *P. sticta* encontrados em fundo de areia e lama) e distribuído em diferentes gradientes de profundidades (desde poças de maré até 400 m) (Nogawa & Endo, 2007). Está presente em todos os oceanos do mundo com maior parte da biodiversidade concentrada no Indo Pacífico

¹ Para este trabalho consideramos que peixes recifais são todos aqueles associados a qualquer estrutura marinha sólida, e.g. recifes rochosos, coralíneos etc, conforme considerado por Bellwood et al. (2015).

(32 espécies) ocorrendo em menor número no Atlântico oeste e em algumas ilhas do Pacífico leste. Pertence à segunda família mais diversa dentre todos os vertebrados marinhos e uma das mais representativas dentre todos os criptobentônicos (Tornabene et al., 2013b; Brandl et al., 2018) estando distribuída também em ambientes estuarinos e de água doce. Seu pequeno tamanho somado às baixas taxas de diversificação morfológica culminam na difícil resolução das relações de parentesco (Patzner, 2012; Tornabene et al., 2013a, 2016a; Thacker, 2014). Apesar das divergências de classificação dentro da família (Patzner, 2012), neste trabalho seguiremos a classificação proposta por Thacker (2009) considerando a subordem Gobioidae composta por 6 famílias (Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Butidae, Eleotridae, Gobionellidae e Gobiidae) e subdividindo Gobiidae em 13 grupos (Aphia, Asterropteryx, Callogobius, Cryptocentrus, Glossogobius, Gobiodon, Gobiosomatini, Gobius, Gunnellichthys, Kraemria, Lohogobius, Priolepis e Vallenciennea) conforme proposto por Thacker (2015).

O Grupo *Priolepis*² agrega nove gêneros, sendo *Priolepis*, *Lythrypnus* e *Trimma* os mais representativos em número de espécies e área de distribuição. Esta classificação é baseada no trabalho de Thacker e Roje (2011), que comparou 100 diferentes espécies da família Gobiidae usando genes nucleares e mitocondriais, obtendo assim elevado suporte para a monofilia entre os três gêneros, formando o grupo dos gobies listrados (*tiny banded gobies*). É interessante destacar que a primeira composição do Grupo *Priolepis*, definida por Birdsong et al. (1988), incluía 54 espécies agrupadas por caracteres osteológicos que, no entanto, não tiveram sua monofilia corroborada por análises moleculares posteriores (Patzner, 2012).

Trimma é o gênero mais diverso deste grupo contendo cerca de 102 espécies restritas ao Indo Pacífico. A sua proximidade evolutiva com *Priolepis* é associada ao aparecimento da mudança de sexo bidirecional a partir de um ancestral comum gonogorístico (Sunobe et al., 2017), além de outras semelhanças morfológicas discutidas por Hoese et al. (2015). Por outro lado, o gênero *Lythrypnus* possui 20 espécies descritas e é o único desta linhagem ausente no Indo Pacífico com distribuição voltada apenas para o Atlântico oeste e Pacífico leste. Assim como sugerido para *Priolepis* no presente estudo, as divergências dentro do gênero *Lythrypnus* no Atlântico parecem ser atribuídas a especiações vicariantes com grande influência do Amazonas na diversificação de suas espécies (Maxfield et al., 2012). Apesar da maior proximidade entre *Lythrypnus elasson* e *Priolepis hipoliti* ser reconstruída na análise de Thacker e Roje (2011),

² Apesar de Thacker (2015) utilizar o termo "linhagem *Priolepis*" para se referir ao clado que representa *Lythrypnus*, *Priolepis* e *Trimma* utilizaremos neste estudo o termo "Grupo *Priolepis*" para que as discussões sobre linhagens dentro do gênero *Priolepis* não se confundam com este grupo.

uma revisão de Maxfield et al. (2012) não deu suporte aos mesmos resultados, indicando que *Trimma* e *Priolepis* são evolutivamente mais próximos, conforme sugerido a partir da semelhança na estrutura de suas gônadas que as diferenciam de *Lythrypnus*.

Apesar de *Priolepis* se destacar neste grupo por sua distribuição, sendo o único presente tanto no Atlântico quanto no Indo Pacífico, pouco se sabe sobre a história evolutiva de suas espécies. Thacker (2015) indica que o Indo Pacífico foi o centro de origem do Grupo *Priolepis* seguido por dispersões via Tethys usando a passagem onde hoje se localiza o Mediterrâneo. No entanto, a origem e história evolutiva de *Priolepis* e *Lythrypnus* no Atlântico ainda permanecem desconhecidas (mas veja Maxfield et al., 2012).

Priolepis no Atlântico

O gênero *Priolepis* no Atlântico é representado por *Priolepis ascensionis* (Dawson e Edwards, 1987), *P. hipoliti* (Metzelaar, 1922), *P. robinsi* (Garzón-Ferreira e Acero, 1991) e *P. dawsoni* (Greenfield, 1989) (Figura 1). Todas têm sua distribuição limitada por barreiras³ biogeográficas bem documentadas, exceto *P. robinsi* endêmica de Santa Marta na Colômbia ocorrendo em simpatria com *P. hipoliti*. Esta é a única espécie que não pôde ser analisada devido à ausência de exemplares disponíveis.

Priolepis hipoliti (Figura 1A) está distribuído no Atlântico Norte ocorrendo desde a Carolina do Norte, Florida, Golfo do México, Bahamas e Caribe até a Venezuela (Metzelaar, 1922; Greenfield & Johnson, 1999; Ross & Rhode, 2004). Apesar de existirem descrições desta espécie no Brasil (Haimovici & Klippel, 1999; Floeter et al., 2003) estas parecem refletir um erro na sua identificação uma vez que nunca foram comprovadas por fotos, coletas ou dados moleculares. É importante notar que a descoberta da espécie endêmica do Brasil (*P. dawsoni*) é mais recente e ocorreu quase 30 anos depois da descrição da espécie do Caribe. *Priolepis hipoliti* habita profundidades de até 107 m (Tornabene et al., 2016a), mas é encontrada em maior frequência em fendas recifais e *patch reefs* entre 1 a 50 m (Greenfield & Johnson, 1999).

³ Para este estudo consideramos o conceito definido por Briggs (1972) para barreiras, sendo estas representadas por locais onde o fluxo gênico é limitado a ponto de possibilitar a formação de faunas próprias, seguindo assim a nomenclatura também adotada por Rocha (2003), Floeter et al. (2008) dentre outros.

De forma similar, *P. dawsoni* (Figura 1B) também tem ampla distribuição de substrato (recifes biogênicos, rochosos e rodolitos) habitando de poças de maré até recifes mesofóticos (0-70m). A espécie ocorre em toda a costa brasileira onde se limita ao norte pelo Amazonas e ao sul por São Paulo, ocorrendo também em todas as ilhas oceânicas do país além dos montes submarinos da Cadeia Vitória-Trindade (Greenfield, 1989; Rocha et al., 2000; Rocha & Rosa, 2001; Simon

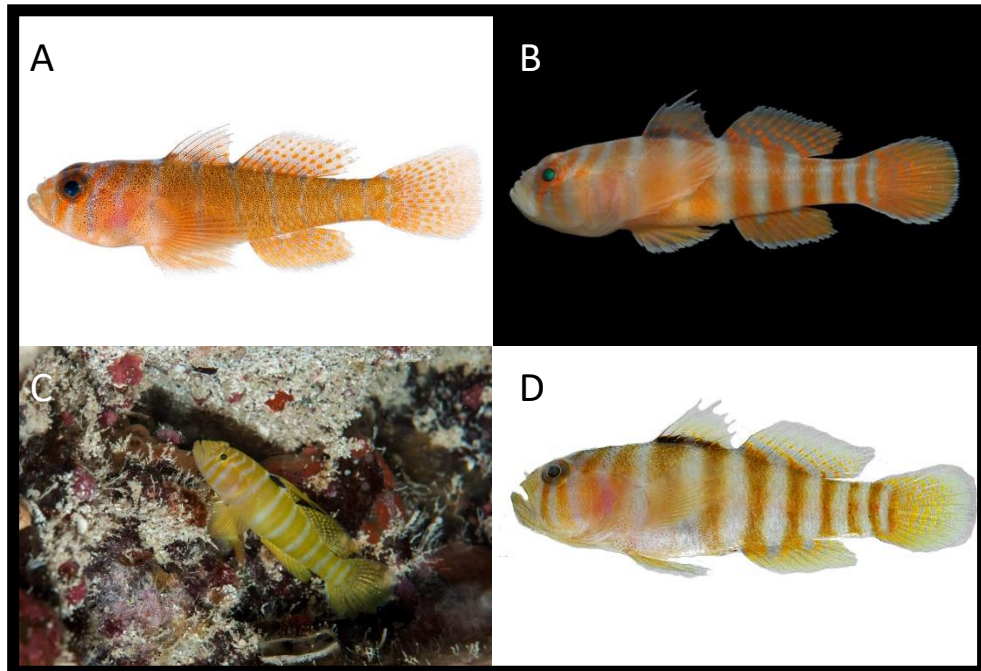


Figura 1: Espécies do gênero *Priolepis* presentes no Atlântico: A) *P. hipoliti*, presente na porção central da costa leste dos EUA até o sul da Venezuela; B) *P. dawsoni*, considerada endêmica do Brasil; C) *P. ascensionis*, endêmica das ilhas de Ascensão e Santa Helena; D) *P. robinsi*, endêmica de Santa Marta, Colômbia. Fonte: Smithsonian Institute (A); Raphael M. Macieira (B); Shallow Marine Survey Group <https://www.smsg-falklands.org/blog/ascension-island-fish-record> (C) ; Ross Robertson (D).

et al., 2013). Apesar de ser considerada endêmica do Brasil (Moura & Sazima, 2000; Pinheiro et al., 2018) *P. dawsoni* já foi observada no Caribe (Rocha, 2003).

A outra espécie do gênero no Atlântico, *Priolepis ascensionis* (Figura 1C), é endêmica das ilhas de Ascensão e Santa Helena localizadas próximas a Cadeia Meso-Atlântica e separadas por aproximadamente 1200 km. Desde sua primeira descrição como *Quisquilius* sp. já foi encontrada desde a superfície até 50 m de profundidade habitando ambientes recifais rochosos e fundos de areia (Lubbock, 1980; Edwards & Glass, 1987).

A relação evolutiva entre estas espécies nunca foi estudada até o momento. Algumas características morfológicas de *Priolepis hipoliti* e *P. dawsoni*, como a ausência de escamas no opérculo e preopérculo e a presença de menos raios na nadadeira peitoral (comparado à espécie de Ascensão), não são compartilhadas por *P. ascensionis* (Greenfield, 1989; Edwards & Glass, 1987) e podem ser um indício de que a divergência desta última é mais recente. Adicionalmente,

nota-se que além de possuir aparente semelhança morfológica e ocupar habitats semelhantes (recifes rochosos, coralíneos e biogênicos) nenhuma das três espécies possui especializações em sua dieta (alimentam-se de pequenos organismos bentônicos móveis e alguns invertebrados; Simon et al., 2016; Greenfield & Johnson, 1999; Brewin et al., 2016), uma possível evidência de que a origem destas não está ligada a especiações ecológicas. No entanto, é preciso ter cautela ao interpretar semelhanças morfológicas neste grupo uma vez que esta é uma característica comum encontrada em Apogonidae, Gobiidae e Gobionellidae, onde diminuições nas taxas de diversificações morfológicas ocorrem em resposta ao aumento nas taxas de especiação (Thacker, 2014) e características morfológicas semelhantes podem ser resultado de convergências evolutivas conforme visto para o subgrupo Nes (Tornabene et al., 2016a). Apesar disso, a presença de barreiras biogeográficas entre os limites de ocorrência de cada espécie é um importante indício de que a formação destas está ligada a especiações alopátricas, conforme discutido a seguir.

Especiação alopátrica em Priolepis?

Eventos de especiação podem ser classificados, de forma geral, em três principais modos: as especiações alopátricas, parapátricas e simpátricas. Especiações alopátricas ocorrem por isolamento de uma população ancestral em duas ou mais populações e o acúmulo de divergências ao longo do tempo para cada população resulta na formação de duas (ou mais) espécies reprodutivamente isoladas. Podem ainda ser divididas em dois modos principais: a especiação por vicariância, que ocorre quando tamanhos equivalentes da população são divididos e isolados, e a especiação peripátrica, quando apenas uma pequena parte da população principal é isolada. Neste último caso, é esperado encontrar menor representatividade genética na população isolada se comparada àquela que foi a fonte da dispersão. Já as especiações parapátricas ocorrem em populações contínuas ao longo de subdivisões geográficas onde a limitação no fluxo gênico ocorre de maneira gradual. As especiações simpátricas são as únicas que não envolvem divisões geográficas (Lirberman, 2011).

O presente trabalho tem por objetivo desvendar a história evolutiva do gênero *Priolepis* no Oceano Atlântico. O arcabouço teórico está estruturado sob duas principais hipóteses para origem e diversificação do gênero:

i) Origem das linhagens modernas por vicariância

O papel dos eventos vicariantes na formação das linhagens recifais modernas do Atlântico é amplamente reconhecido (Joyeux et al., 2001; Rocha, 2003; Rocha et al., 2005; Bowen, 2007; Floeter et al., 2008; Pinheiro et al., 2018) e atribuído à presença seis principais barreiras biogeográficas (Figura 2), sendo estas: i) a barreira resultante do evento terminal de Tethys que resultou no fechamento da passagem através do Mediterrâneo (ETT), ii) a barreira Mesoatlântica formada pela grande distância que separa o Atlântico leste e oeste (BMA), iii) a barreira formada pelo complexo sistema de correntes no sul da África, conhecido como Complexo de Benguela (BB), iv) o fechamento do Istmo do Panamá (IDP), v) a grande distância (5000 km) e profundidades que separam o Pacífico oeste, a partir da Polinésia, do Pacífico leste (BPL) e vi) a barreira formada pelo fluxo de água doce e sedimentos do rio Amazonas (BAM). Conforme sugerido por Rocha (2003), estima-se que a divergência entre o ancestral comum a *Priolepis hipoliti* e *Priolepis dawsoni* ocorreu em resposta ao estabelecimento da Barreira do Amazonas, formada há 11 milhões de anos (MA) (Hoorn et al., 1995).

A distribuição de ambas as espécies se limita a partir do rio Amazonas, cuja descarga é capaz de despejar cerca de $2,9 \times 10^8$ toneladas por ano de sedimentos ao longo de 2300 km ao norte da plataforma continental e 500 km em direção offshore atingindo cerca de 70 m de profundidade, a partir de onde se iniciam os recifes mesofóticos do Amazonas (Collette & Rutzler, 1977; Joyeux et al., 2001; Lopez, 2001; Rocha, 2003; Floeter et al., 2008; Francini-filho et al., 2018). O sistema recifal Amazônico se estende até 220 m de profundidade preenchendo uma área de até 56000 km² cujo fundo é composto por algas calcáreas, lateritas, rodólitos, esponjas e alguns tipos de corais, abrigando assim inúmeras espécies recifais e facilitando a dispersão entre Caribe e Brasil (Collette & Rutzler, 1977; Joyeux et al., 2001; Rocha, 2003; Francini-filho et al., 2018). Estes corredores, no entanto, são extintos durante os períodos glaciais quando a diminuição do nível do mar aumenta consideravelmente a deposição de sedimentos em frente a plataforma continental.

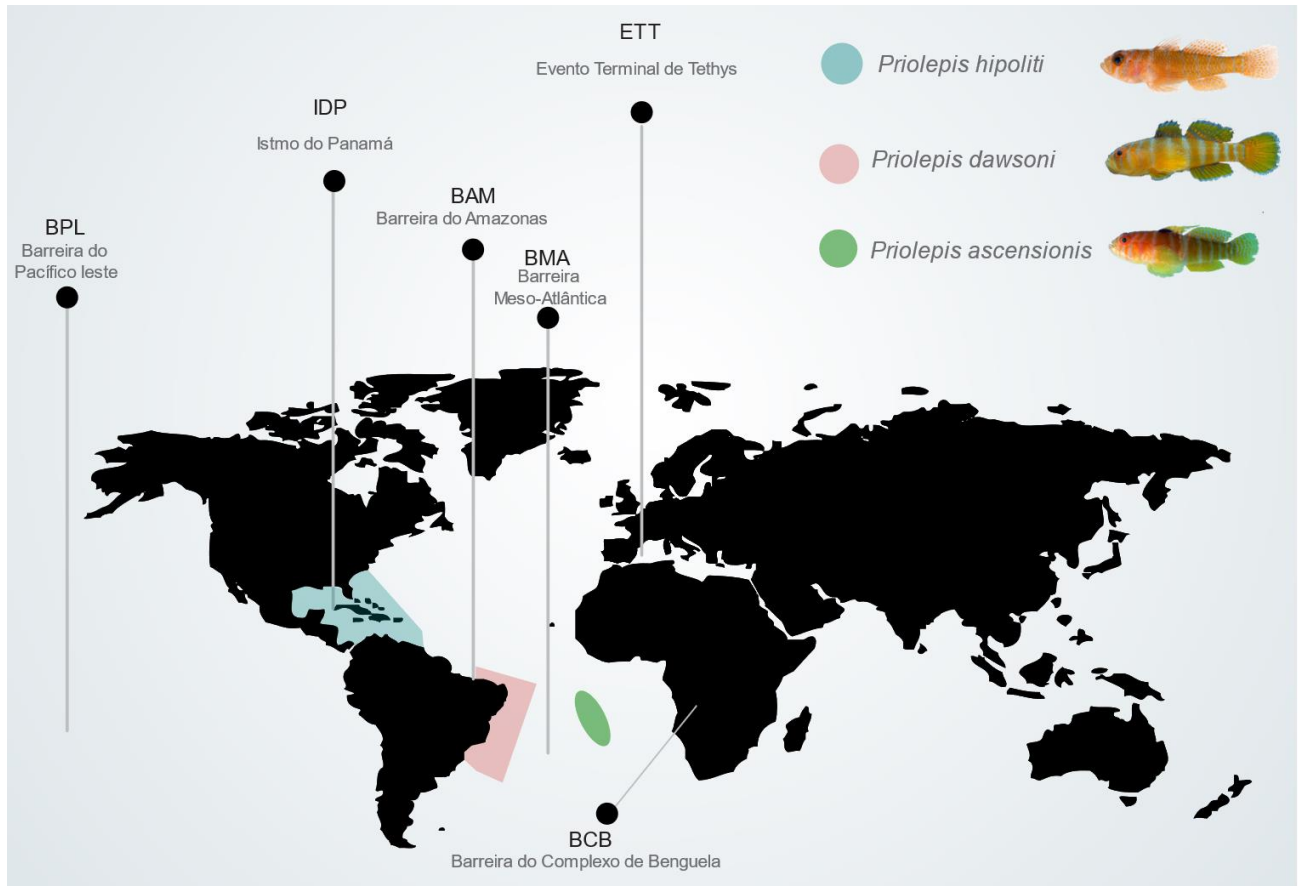


Figura 2: Localização das barreiras responsáveis por determinar as principais regiões biogeográficas do Atlântico. A distribuição das espécies estudadas está representada pelas cores azul (*P. hipoliti*), rosa (*P. dawsoni*) e verde (*P. ascensionis*).

Dessa forma, em períodos transgressivos (interglaciais) a pluma de sedimentos do Amazonas é distribuída em direção ao norte da plataforma continental seguindo a Corrente Norte do Brasil (CNB), enquanto nos períodos regressivos (glaciais) os depósitos atingem maior parte da plataforma continental em frente ao Amazonas alcançando maiores profundidades (Joyeux et al., 2001; Lopez, 2001; Rocha, 2003). Esta mudança na dinâmica deposicional de acordo com as variações eustáticas é responsável por definir o caráter intermitente desta barreira, sendo mais efetiva em períodos glaciais, com extinção dos corredores recifais, e menos efetiva durante as interglaciações. A ecologia e tolerância de cada espécie também pode determinar a porosidade desta barreira. Espécies recifais de águas rasas, por exemplo, não são capazes de utilizar os recifes mesofóticos do Amazonas mesmo durante os períodos de sua menor efetividade.

Priolepis dawsoni e *P. hipoliti* podem habitar grandes profundidades e diferentes composições recifais tendo, aparentemente, a capacidade de transpor essa barreira durante períodos interglaciais, como o atual. Dessa forma, a hipótese de que essas linhagens tenham se formado pelo Amazonas só poderia ter ocorrido durante os períodos de mar baixo com a extinção dos

corredores do Amazonas. O cenário atual de dispersão pelos corredores poderia ser também facilitado pela CNB (Joyeux et al., 2001) e justifica a presença de *P. dawsoni* no Caribe, porém a ausência de *P. hipoliti* no Brasil.

ii) *Origem de Priolepis ascensionis: especiação peripátrica?*

Esta hipótese baseia-se na formação da linhagem de *Priolepis ascensionis* após um evento esporádico de dispersão com fonte no Brasil. As ilhas de Ascensão e Santa Helena, onde se distribui esta espécie, estão isoladas do continente Americano e Africano por cerca de 2000 km e 1500 km de distância, respectivamente, constituindo assim a Barreira Mesoatlântica. O isolamento destas ilhas é responsável pelo alto número de espécies endêmicas (12%) derivadas principalmente do Atlântico Oeste e, em especial, da costa do Brasil (Floeter et al., 2008; Wirtz et al., 2017). Considerando a ausência de *P. dawsoni* nestas ilhas e a maior conectividade entre estas e o Brasil, é plausível inferir que a dispersão esporádica de um ancestral comum às duas espécies a partir do Brasil deu origem à linhagem de *P. ascensionis* após seu isolamento. Pouco se sabe, no entanto, sobre quais condições podem favorecer a conectividade entre as duas regiões. A ocorrência de El Niño – Oscilação Sul (ENOS) pode ser um dos fatores importantes a se considerar (Joyeux et al., 2001), assim como anomalias na circulação causadas pelo fechamento do IDP (Muss et al., 2001).

A ordem de colonização considerada para ambas as hipóteses - com a origem mais basal da linhagem do Caribe seguido pela linhagem do Brasil e, por último, Ascensão – segue o padrão estabelecido por Briggs (1974) que classifica o Caribe como centro (global) de radiação secundária justificando que dispersões do Atlântico oeste para leste são mais ocorrentes do que o contrário. É preciso também considerar que o Atlântico sudoeste é o centro secundário de biodiversidade no Atlântico (Pinheiro et al., 2018) e, por isso, a exportação de propágulos a partir do Brasil para o Caribe e Ascensão deve ser também avaliada.

Neste estudo buscamos então compreender pela primeira vez a história evolutiva do gênero *Priolepis* no Atlântico utilizando marcadores moleculares e sequenciamento Sanger.

OBJETIVOS

Compreender os processos e eventos que moldaram a história evolutiva do gênero *Priolepis* no Atlântico.

Objetivos específicos

- Determinar o local de origem do gênero *Priolepis*;
- Identificar processos históricos evolutivos que levaram a origem de *Priolepis hipoliti*, *Priolepis dawsoni* e *Priolepis ascensionis*;
- Reconstruir a relação de parentesco entre as três espécies;
- Descrever os padrões de diversidade genética, fluxo gênico e estrutura populacional das espécies estudadas;

METODOLOGIA

Aquisição de amostras

Neste trabalho utilizamos sequências disponíveis em estudos anteriores e dados novos produzidos para *Priolepis dawsoni*, *P. hipoliti* e *P. ascensionis*. A Coleção Ictiológica da Universidade Federal do Espírito Santo (CIUFES) disponibilizou tecidos de *P. dawsoni* (N = 36) e *P. hipoliti* (N = 1), bem como o Dr. Benjamin Victor (Nova Southeastern University, Florida, EUA) (*P. hipoliti*; N = 4 e *P. dawsoni*; N = 2). O Smithsonian Institute cedeu amostras de *P. ascensionis* (N_{tecido} = 4 e 12 sequências de Citocromo Oxidase I). A única espécie do Atlântico não amostrada foi *P. robinsi*, endêmica da Colômbia. Sequências disponíveis nas plataformas *online Barcode of Life System* e *Genbank* foram utilizadas para outros 23 gêneros (Apêndice I).

Extração do DNA, Amplificação e Sequenciamento

A extração do DNA foi realizada utilizando o kit *Wizard Genomic Purification* (Promega Corp., Madison, WI, USA) em amostras de tecidos oriundas dos exemplares cedidos pela CIUFES e Dr. B. Victor seguindo o protocolo *Animal Tissue (Mouse Tail)* do fabricante. A qualidade do DNA extraído foi verificada em gel de agarose por eletroforese e posteriormente quantificado em nanodrop. As sequências dos demais exemplares estudados foram cedidos pelo Smithsonian ou adquiridos junto ao acesso da informação nos bancos de dados. A técnica de Reação em Cadeia da DNA Polimerase (PCR) foi empregada para amplificar trechos codificantes dos genes mitocondriais Citocromo Oxidase I, Citocromo B, 12s e ND2, escolhidos para esse estudo com base em suas taxas de mutação e disponibilidade de dados prévios para grupos próximos a serem utilizados nas calibrações. O segundo íntron do gene nuclear S7 foi o único utilizado apenas para as espécies do Atlântico devido à ausência de sequências suficientes disponíveis para outras espécies.

Para as análises filogenéticas utilizamos *primers* previamente desenhados e disponíveis na literatura (Tabela 1), sendo estes: COL6 (5'-TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA-3') e COH6 (5'-YTCHACAAAYCATAAAGAYATYGG-3') para o Citocromo Oxidase I (COI); S7RPEX1F (5'-TGGCCTCTTCCTTGGCCGTC-3') e S7RPEX2R (5'-AACTCGTCTGGCTTTTCGCC-3') para o segundo íntron nuclear do gene da proteína

ribossomal S7; 12SA (5'-AAACTGGGATTAGATACCCCACTAT-3') e 12SB (5'-GAGGGTGACGGGCGGTGTGT-3') para o gene mitocondrial 12s; e Goby L4040 (5'-GCCCATACCCWAAAYATGTTGGT-3') e Goby H5513 (5'-GAGTAGGCTAGGATTTTWC GAAGYTG-3') para o gene mitocondrial ND2. Para as análises filogeográficas utilizamos novamente o gene COI além dos *primers* FishCitb (5'-ACCACCGTTGTTCAACTACAAGAA-3') e TrucCitb (5'-CCGACTTCCGGATTACAAGAC CG-3') para o gene Citocromo B (Citb) em *P. dawsoni*. As reações de amplificação foram realizadas com 1 µl de DNA (~50 ng), 0,1 µl de Taq Polimerase (Thermo Scientific), 1,25µl de Buffer 10x, 0,5 µl de MgCl₂ a 25mM, 1 µl de dNTP a 2,5mM (para cada dNTP) e 0,25 µl a 10 mM de cada *primer*. Os volumes e ciclos utilizados estão disponíveis na Tabela 1. Os produtos resultantes das amplificações foram analisados por eletroforese em gel de agarose (com tampão 0,5%) a partir 2 µl de DNA corados com 2 µl de solução contendo Blue Juice + Gel Red e visualizados em luz ultravioleta. A purificação dos produtos de PCR foi realizada usando ExoSAP-IT (USB, Cleveland, OH, USA) seguindo o protocolo do fabricante. A reação de sequenciamento foi realizada utilizando o kit Big Dye Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) em Mix contendo 4 µl de água ultrapura, 3.7 µl de tampão 5x, 1 µl de primer a 5 µM, 0,3 µl do Big Dye e 1 µl de DNA amplificado. Seguimos o protocolo de precipitação de Amy Smith e realizamos a leitura do sequenciamento por eletroforese capilar no sequenciador automático 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Sequências que apresentaram ambiguidades foram sequenciadas também na direção *reverse*. As sequências obtidas foram verificadas através da ferramenta *blast* e posteriormente alinhadas e editadas no programa MEGA 7 (Kumar et al., 2016) usando o algoritmo ClustalW. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade (NGACB) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Tabela 1: Ciclo térmico, volume final e concentrações utilizadas no MIX de PCR para as reações de amplificação. Todos os genes foram amplificados usando a mesma concentração de reagentes. O desenho dos primers utilizados foram retirados de estudos prévios já testados para Gobiidae.

	S7	COI	12s	Citb	ND2
Primer F	s7rpex1f ¹	coL6 ²	12S_A ³	Fishcytb ⁽⁴⁾	GobyL4040 ⁽⁵⁾
Primer R	s7rpex2r ¹	coH6 ²	12S_B ³	Truccytb ⁽⁴⁾	GobyH5513 ⁽⁵⁾
CICLO					
Desnaturação	92°C por 5'	94°C por 5'	94°C por 5'	94°C por 5'	95°C por 5'
Desnaturação	92°C por 30"	94°C por 45s"	94°C por 30''	94°C por 30''	95°C por 30''
Anelamento	60°C por 60"	52°C por 60"	55°C por 60''	51°C por 60"	55°C 30''
Extensão	72°C por 120"	72°C por 120"	72°C por 120''	72°C por 120"	72°C 45''
Extensão final	72°C por 10'	72°C por 7'	72°C por 7'	72°C por 7'	72°C 10'
Volume do MIX para todos os genes		Concentração original dos reagentes			
H2O	8,15 µl	-			
Buffer	1,25 µl	10x			
MgCl₂	0,5 µl	25mM			
Dntp	1 µl	2,5mM			
Primer F	0,25 µl	10mM			
Primer R	0,25 µl	10mM			
Taq	0,1 µl	0,5U			
DNA	1 µl	50 ng/µl			

(1) Chow & Hazama, 1998; (2) Schubart & Huber, 2006; (3) Hillis et al., 1996 (4) Sevilla et al., 2007 (5) Thacker & Hardman, 2005.

Análises Filogenéticas

As análises filogenéticas e filogeográficas foram integradas para melhor compreensão da história evolutiva do grupo. Análises filogenéticas têm por intuito estabelecer hipóteses de parentesco entre diferentes espécies ao comparar caracteres homólogos, neste caso, representados por nucleotídeos de mesma ancestralidade. Dois principais conjuntos de dados para as análises filogenéticas foram empregados: o primeiro contendo dados concatenados dos genes COI, Citb, 12s e ND2 e o segundo utilizando apenas o gene COI, o único marcador com dados disponíveis para espécies do gênero *Priolepis* do Indo Pacífico. Para ambas as análises utilizamos, além das espécies alvo deste estudo, 25 espécies para representar a subordem Gobioidi e espécies pertencentes às famílias Butidae, Apogonidae e Gobionellidae como ponto de calibração na análise de coalescência. Na filogenia do gene COI acrescentamos ainda outras sete espécies de *Priolepis* do Indo Pacífico.

A distância genética intraespecífica e interespecífica para cada gene, incluindo o gene nuclear S7 para as espécies alvo, foi calculada usando o modelo *p - distance* (não corrigido) no programa MEGA 7 usando 100 replicações de *bootstrap*. As relações filogenéticas foram então estabelecidas usando o método de Inferência Bayesiana (IB) no programa *Mr. Bayes* 3.2.6 (Huelsenbeck & Ronquist, 1997) com 10 milhões de gerações, amostragens a cada 1000 árvores e 25% de descarte por burn-in. Utilizamos o programa Partition Finder (Lanfear et al., 2017) para determinar o melhor modelo evolutivo para cada posição do códon e gene restringindo as opções de escolha aos modelos disponíveis no programa BEAST 2.4.7 (Bouckaert et al., 2014), descrito a seguir. Como resultado, o modelo GTR se adequou a quase todas as partições, exceto para a segunda posição para o gene COI e a terceira posição para o gene Citb, onde o modelo Hasegawa, Kishino e Yano (HKY) foi escolhido. As análises filogenéticas foram utilizadas antes das análises de coalescência para determinar a topologia da árvore e para escolher a(s) linhagem (s) representante(s) de cada espécie.

Relógio Molecular

Para os pontos de calibração utilizamos quatro registros fósseis: i) Gierl et al. (2013) para a família Butidae (23 - 24 Ma); ii) Bannikov (2008) para Apogonidae (41.2 – 47.8 Ma); iii) Reichenbacher e Schawarz (1997) para Gobionellidae (23 – 27.8 Ma) e; iv) Bajpai e Kapur (2004) para o último ancestral da subordem Gobioidi (56-47.8 Ma). A escolha dos fósseis foi baseada no estudo de Thacker (2014) para Gobiidae. A análise de coalescência foi rodada utilizando o pacote BEAUTi & The BEAST (Bouckaert et al., 2014) e os nós de calibração foram definidos a partir das topologias obtidas na análise de IB. Para tal, foi utilizado o Relógio Log Normal Relaxado (*Relaxed Clock Log Normal*) usando o modelo Yule Calibrado (*Calibrated Yule Model*) com 10^8 gerações e amostragens a cada 3×10^3 . A qualidade dos resultados foi analisada no Tracer 1.5 (Rambaut et al., 2018) assim como o valor adequado de *burn-in* e a árvore consensus foi obtida a partir dos clados de máxima credibilidade com o programa TreeAnnotator 1.7.5 (Drumond *et al.*, 2012). Os resultados foram visualizados e editados nos programas FigTree 1.4.3. (Rambaut, 2009) e Inkscape (Free Software Foundation, Boston, USA).

Demografia e Filogeografia

As sequências dos genes COI (*P. hipoliti* N = 45 ; *P. ascensionis* N = 16, *P. dawsoni* N = 36) e Citb (*P. hipoliti* N = 2; *P. ascensionis* N = 2, *P. dawsoni* N = 33) foram analisadas para as três espécies do Atlântico, no entanto, o baixo número amostral limitou as análises demográficas do Citb apenas à espécie endêmica do Brasil (*P. dawsoni*). Os dados de Citb disponíveis de *P. ascensionis* e *P. hipoliti* foram empregados juntos a rede haplotípica de *P. dawsoni*.

Os índices de diversidade haplotípica (equação 8.5 em NEI, 1987) e nucleotídica (equação 10.5 em Nei 1987) foram calculados para cada localidade nas três espécies usando o programa DnaSP 6.0 (Rozas et al., 2017). Estas análises nos permitiram caracterizar as populações e testar a hipótese de especiação por alopatria peripátrica para a espécie de Ascensão. Neste caso, o efeito fundador como consequência da especiação peripátrica tenderia a deixar a diversidade menor na população que se dispersou se comparada àquela que foi fonte da dispersão. O mesmo programa foi usado para determinar o número de sítios polimórficos (S), o número de haplótipos (h) e para criar os arquivos de entrada para análises feitas nos programas PopArt (Bandelt et al., 1999; <<http://popart.otago.ac.nz>>) e Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010), conforme descrito a seguir.

Os testes de neutralidade realizados no programa Arlequin 3.5.2.2 têm como objetivo avaliar se as mutações existentes estão de acordo com a teoria neutra da evolução molecular. O teste *D de Tajima* (Tajima, 1989) é baseado na frequência das mutações para identificar aquelas mais recentes ou antigas, enquanto o teste F de Fu (Fu, 1996) baseia-se na distribuição haplotípica. Valores negativos são causados pelo excesso de mutações nos ramos externos (mutações recentes) e podem indicar seleção purificadora ou negativa e expansão populacional, por outro lado, valores positivos causados pela presença de mutações antigas indicam seleção balanceadora e redução populacional.

As análises demográficas foram feitas para cada população putativa de *P. dawsoni* (Rio Grande do Norte, Espírito Santo, Bahia, Atol das Rocas, Fernando de Noronha, Caribe, Monte Jaseur⁴ e Ilha da Trindade) e *P. hipoliti* (Bahamas, Belize, Trinidad e Tobago, Dominica, México e

⁴ O monte Jaseur é o terceiro banco submarino (a partir do Espírito Santo) a compor a cordilheira de montanhas da Cadeia Vitória-Trindade (CVT) que se estendem entre a costa e as ilhas de Trindade e Martin Vaz por cerca de 1300 km.

Venezuela). Para *P. ascensionis* consideramos todos os indivíduos como uma única população já que pertencem ao mesmo local.

Variações temporais nas populações foram inferidas para o gene COI utilizando a análise *Bayesian Skyline Plot* (BSP) presente no pacote BEAST. A taxa evolutiva implementada para cada gene espécie foi obtida utilizando as mesmas configurações da análise de coalescência descrita para a filogenia.

A relação hierárquica entre os haplótipos de cada espécie foi reconstruída pelo algoritmo de *median-joining* no programa PopArt 1.7 sendo representada por redes haplotípicas. Os indícios de estruturação obtidos para o gene com a maior taxa de mutação (C1tb) foram testados para *P. dawsoni*. O índice F_{st} de Wright foi utilizado para identificar o fluxo gênico entre todas localidades e a presença de barreiras entre diferentes localidades foi avaliada usando o mesmo índice na Análise de Variância Molecular Espacial (SAMOVA). Indícios de estruturação entre i) Ilhas e Costa, ii) Região norte e sul e iii) entre os dois haplogrupos encontrados na espécie foram testados com a Análise de Variância Molecular (AMOVA). Ambos os métodos de variância utilizam a diferença de alelos entre haplótipos para criar uma matriz de distâncias quadradas de acordo com as hipóteses de modelos hierárquicos escolhidos (Excoffier *et al.* 1992).

RESULTADOS

Filogenia

Para a análise concatenada foram obtidos 2255 pares de bases (pb) de 32 espécies para os genes COI (571 pb), Citb (754 pb), 12s (394 pb) e ND2 (536 pb). As análises foram realizadas excluindo as regiões com *gaps* encontradas no alinhamento do gene 12s. O gene S7 (823 pb) não pôde ser agrupado na análise concatenada devido à ausência de sequências disponíveis em bancos de dados online para as espécies usadas na calibração do relógio molecular. Valores de distância intraespecífica foram calculadas apenas para espécies representadas por mais de dois indivíduos e, por isso, *Priolepis dawsoni* foi a única com resultados para todos os genes.

As análises de divergência (Tabela 2) para os genes mais variáveis (COI e Citb) evidenciaram *Priolepis ascensionis* e *P. dawsoni* como espécies irmãs. O gene S7, no entanto, apresentou valores de divergência similares para *P. ascensionis* em relação *P. hipoliti* (2,7%) e *P. dawsoni* (2,6%) indicando recente divergência entre as três. Os genes Citb, COI e S7 resultaram em distâncias interespecíficas de *P. hipoliti* um pouco menores para *P. ascensionis* se comparado à *P. dawsoni*. Em todos os genes *Trimma* apresentou menores valores de divergência em relação a *Priolepis* do que *Lythrypnus* (Tabela A1- A6; Apêndice II), no entanto, é interessante notar que a filogenia com os dados concatenados não recuperou um grupo monofilético formado por essas três espécies. Apesar disso, o tempo de divergência entre os três gêneros permaneceu similar na árvore concatenada e no gene COI.

Tabela 2: Valores de divergência interespecífica e intraespecífica para os genes COI, Citb, 12s, S7 e ND2 calculados a partir da distância-p (não corrigida). A distância intraespecífica não foi calculada para espécies com apenas 1 indivíduo

		Citb (754 pb)			COI (571 pb)			12s (394 pb)			S7 (823 pb)			ND2 (536 pb)		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Pri daw	0,8%			0,7%			0,2%			0,0%			-		
2	Pri asc	11,9%	0,0%		7,7%	0,2%		-	0,0%		2,6%	0,0%		-	-	
3	Pri hip	15,0%	13,8%	0,0%	15,5%	14,6%	0,6%	3,3%	-	0,0%	3,1%	2,7%	0,0%	20,1%	-	-

Pri daw: *Priolepis dawsoni*; Pri asc: *Priolepis ascensionis*; Pri hip: *Priolepis hipoliti*

Para as análises com o gene COI, *Priolepis inhaca* foi a espécie do Indo Pacífico que apresentou a maior proximidade com o Clado Atlântico (16,1% de divergência em relação a *P. dawsoni*; 14,1% em relação a *P. ascensionis*; 17,3% em relação a *P. hipoliti*) sendo *P. hipoliti* a única a mostrar valores de divergência interespecífica mais próximos a *P. squamogena* (15,7%). As

menores divergências interespecíficas (Apêndice II) foram encontradas entre as espécies *P. dawsoni* + *P. ascensionis* (7,9%) e *P. squamogena* + *P. cincta* (12,4%). A proximidade entre as espécies *P. semidoliata* e *P. compita* (13,7%) e também a grande divergência intraespecífica encontrada para *P. compita* (17,6%) parecem refletir um erro na identificação desta espécie, uma vez que estas foram agrupadas juntas. É interessante notar que algumas relações entre espécies de *Priolepis* do Indo Pacífico (IP) e Atlântico (AT) não foram bem resolvidas pelo gene COI mesmo utilizando os métodos de distância corrigidos de Kimura 2 parâmetros e Jukes Cantor (resultados não mostrados) e, por isso, é necessário que mais genes sejam usados para que estas relações sejam melhor compreendidas. Os valores de divergência de *P. ascensionis* em relação à *P. inhaca* (14,1%) e *P. hipoliti* (15%), por exemplo, foi responsável pelo baixo valor de suporte para o nó que compreende a divergência entre *P. inhaca* (IP) e o Clado Atlântico.

A topologia final obtida para o gene COI (Figura 3) e para a análise concatenada (Figura 4) se divergiram em relação a monofilia do Grupo *Priolepis* e também em relação a topologia de Thacker (2014). Apesar disso, o tempo de divergência obtido para este grupo permaneceu similar nas duas análises.

Nossos resultados mostram que a origem do Grupo *Priolepis* ocorreu há pelo menos 30-31 Ma, período de divergência entre a linhagem de *Lythrypnus* e o ancestral comum a *Trimma* e *Priolepis* cuja separação se deu 4 milhões de anos depois (há ~26 Ma). A monofilia entre *P. dawsoni*, *P. hipoliti* e *P. ascensionis* apresentou suporte máximo para as análises concatenadas e indicaram este clado como derivado de linhagens do Indo Pacífico, corroborando assim este local como centro de origem do gênero *Priolepis* (há *c.* de 21 Ma - COI) a partir de onde se deram as dispersões para o AT. A divergência entre as linhagens do IP e AT (há ~13 Ma) ocorreu no mesmo período em que a passagem de Tethys foi encerrada (12 Ma - Steininger & Rögl, 1984), indicando que este era o local de dispersão mais provável entre as duas províncias. O fim das dispersões entre as duas regiões resultou na formação da linhagem Atlântica de *Priolepis* que, em pouco tempo, foi dividida em três principais linhagens: uma presente no Atlântico norte e duas no Atlântico sul. A primeira divisão deste clado (há ~10-11 Ma) ocorreu no mesmo período de formação da Barreira do Amazonas limitando o fluxo gênico entre o Caribe e Brasil. Pouco tempo depois, há 3,5 Ma, as alterações nos padrões de circulação do AT em decorrência do processo de fechamento do Istmo do Panamá podem ter sido responsáveis pela dicotomia da linhagem do AT sul. Neste mesmo período a linhagem que mais tarde daria origem à *P. hipoliti* foi dividida em duas (Figura 5), indicando a possível influência de um fator

comum no Atlântico. As três espécies do Clado Atlântico foram originadas no Pleistoceno onde o tempo para o ancestral comum mais recente (TMRCA) para cada espécie começa com *P. hipoliti* (TMRCA: 3,5 Ma), *P. dawsoni* (TMRCA: 2,61 Ma) e *P. ascensionis* (TMRCA: 1,7 Ma) (Figura 5). Esta ordem de origem seguiu também os valores de diversidade encontrados, com maior diversidade genética para a espécie mais antiga.

Figura 3: Árvore filogenética obtida por Inferência Bayesiana para o gene COI. Apenas os nós com suporte acima de 0,97 foram destacados. O intervalo de confiança (IC) para o tempo de divergência estipulado é representado pela barra azul em cada nó. O tempo de divergência foi estimado a partir da média do IC e está destacado na frente dos nós para o Grupo *Priolepis*.

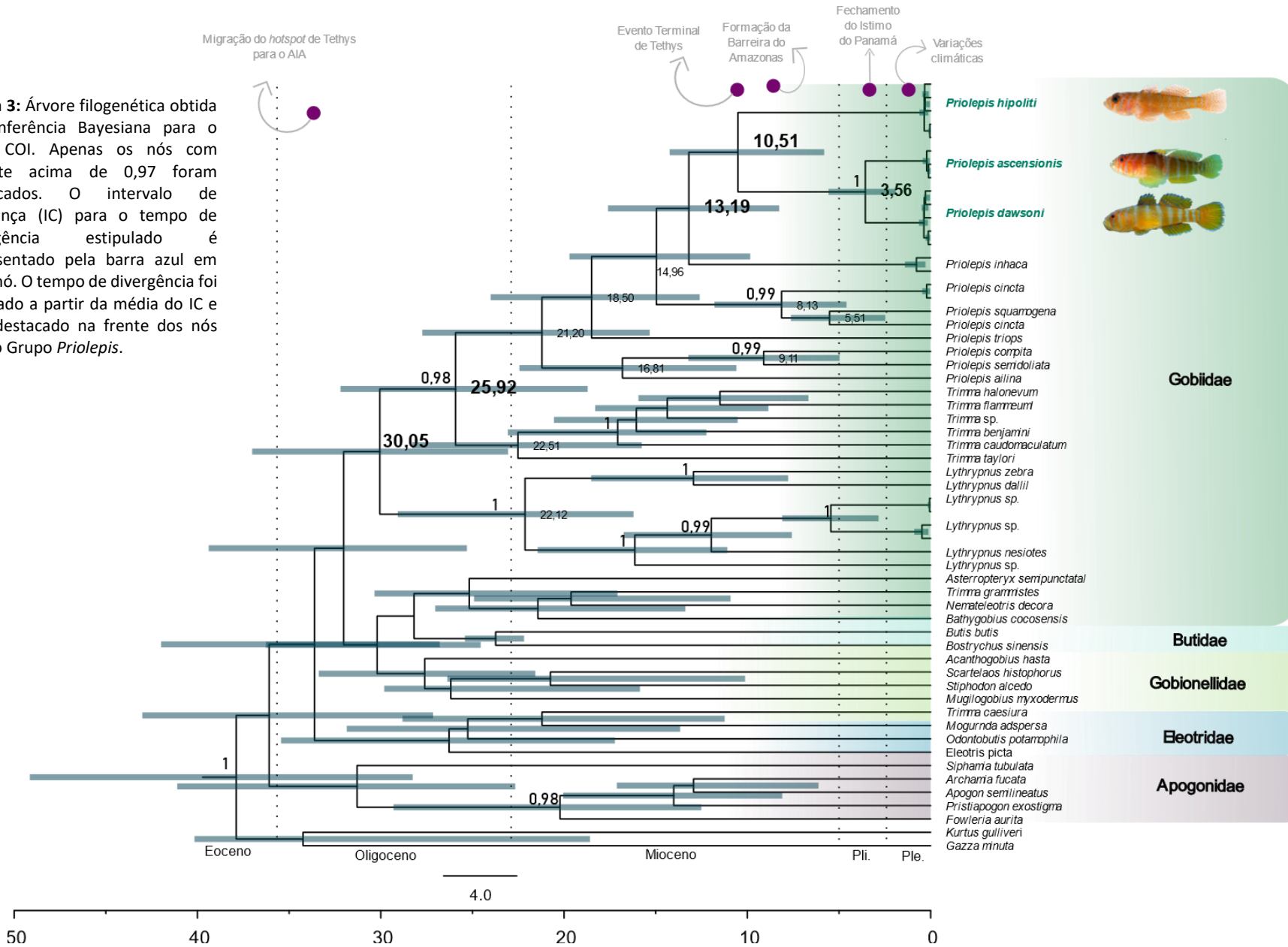
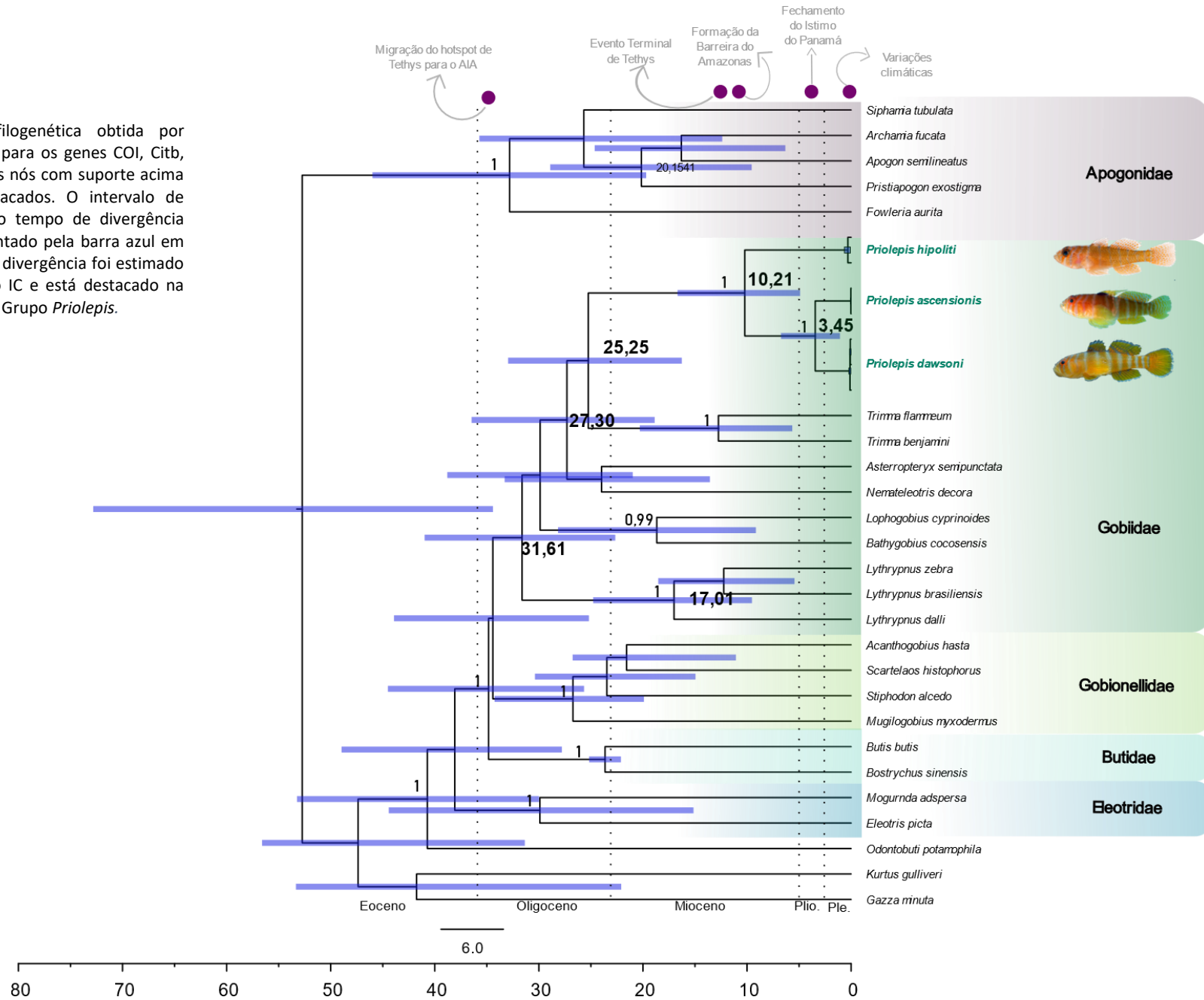


Figura 4: Árvore filogenética obtida por Inferência Bayesiana para os genes COI, Citb, 12s e ND2. Apenas os nós com suporte acima de 0,97 foram destacados. O intervalo de confiança (IC) para o tempo de divergência estipulado é representado pela barra azul em cada nó. O tempo de divergência foi estimado a partir da média do IC e está destacado na frente dos nós para o Grupo *Priolepis*.



Filogeografia e Demografia

As sequências de COI para *P. dawsoni*, *P. ascensionis* e *P. hipoliti* resultaram em 58 haplótipos para os 92 indivíduos. Os resultados de origem estimados para as espécies do Atlântico a partir da análise de coalescência foram de aproximadamente 2,5 Ma para *Priolepis hipoliti*, 2 Ma para *P. dawsoni* e

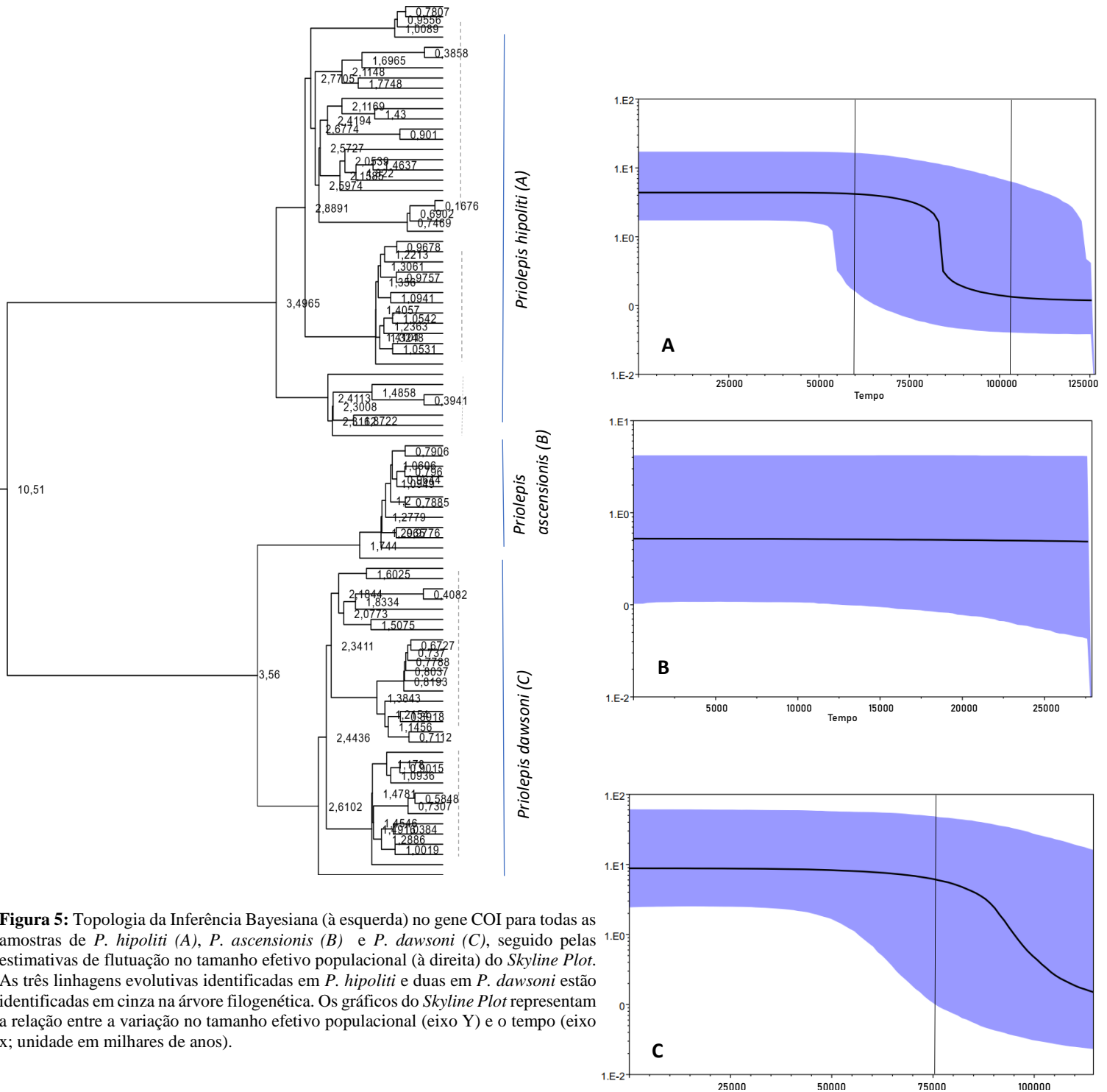


Figura 5: Topologia da Inferência Bayesiana (à esquerda) no gene COI para todas as amostras de *P. hipoliti* (A), *P. ascensionis* (B) e *P. dawsoni* (C), seguido pelas estimativas de flutuação no tamanho efetivo populacional (à direita) do Skyline Plot. As três linhagens evolutivas identificadas em *P. hipoliti* e duas em *P. dawsoni* estão identificadas em cinza na árvore filogenética. Os gráficos do Skyline Plot representam a relação entre a variação no tamanho efetivo populacional (eixo Y) e o tempo (eixo X; unidade em milhares de anos).

1,5 Ma para *P. ascensionis*. Identificamos a ocorrência de duas divergências comuns no Atlântico norte e sul há aproximadamente 3,5 Ma e 2,7 Ma (Figura 5). Ainda nesta topologia, duas principais linhagens evolutivas foram reconstruídas em *P. dawsoni* e três em *P. hipoliti*. As taxas evolutivas obtidas pela análise de coalescência foram utilizadas na análise Bayesiana de Coalescência *Skyline Plot* (Figura 5) para o gene COI. Os resultados para *P. hipoliti* sugerem uma expansão do tamanho da população em torno de 60.000 mil anos, uma população de tamanho constante para *P. ascensionis* e para *P. dawsoni* uma expansão menos acentuada que em *P. hipoliti*.

Todas as espécies apresentaram populações com alta diversidade haplotípica ($H_d > 0,5$), variando entre 0,682 para *P. ascensionis* até 1 para *P. hipoliti* e diversidade nucleotídica de alta ($\pi > 0,005$) à baixa ($\pi < 0,005$) com o menor valor representado por *P. ascensionis* ($\pi = 0,002$) e o maior por populações de *P. hipoliti* e *P. dawsoni* ($\pi = 0,008$) (Tabela 3). Os haplótipos de Belize para a espécie *P. hipoliti* foram os únicos a não apresentar diversidade haplotípica igual a 1. Conforme esperado, *P. ascensionis* apresentou diversidade haplotípica e nucleotídica menor que o valor para cada população e também que o valor total para a espécie brasileira e do Caribe.

Os resultados de diversidade genética para o Citb em *P. dawsoni* foram similares ao COI, incluindo os haplótipos de Atol das Rocas que novamente apresentaram diversidade haplotípica igual a 1. Os locais representados por apenas um indivíduo não tiveram sua diversidade haplotípica calculada (*P. dawsoni*: Jaseur, Rio Grande do Norte e Bahia; *P. hipoliti*: México e Venezuela).

Os testes de neutralidade apresentaram valores negativos para todas as espécies (Tabela 4) indicando o excesso no número de alelos (D de Tajima) e a baixa frequência de polimorfismos (F de Fu). O maior valor para F de Fu pertence à Bahamas (-0,664) e o menor valor à Fernando de Noronha (-6,945), e para D de Tajima os valores variaram de -0,389 para Trinidad e Tobago (*P. hipoliti*) à -1,983 em Ascensão (*P. ascensionis*). O valor de D utilizando o Citb em *P. dawsoni* foi similar ao valor encontrado no COI. Para F de Fu, no entanto, o Citb apresentou valor maior se comparado ao COI, sendo possivelmente um reflexo da maior estruturação encontrada entre os Haplogrupos I e II descritos a seguir.

Tabela 3: Índices de diversidade haplotípica (Hd) e diversidade nucleotídica (π) para as espécies do Clado Atlântico nos genes COI e Citb (para *P. dawsoni*). O número de haplótipos (h) e de sítios polimórficos (S) também foi determinado para cada local e espécie.

		COI					Citb				
		N	S	h	Hd	π	N	S	h	Hd	π
<i>P. dawsoni</i>	ES	8	10	7	0,964	0,007	10	18	8	0,933	0,006
	AR	5	10	5	1	0,008	8	18	8	1	0,011
	FN	13	12	9	0,910	0,007	12	23	11	0,985	0,009
	CAR	2	2	2	0,833	0,004	-	-	-	-	-
	Total*	31	23	20	0,940	0,007	33	36	24	0,972	0,010
<i>P. hipoliti</i>	BAH	4	9	4	1	0,008					
	BLZ	15	19	9	0,876	0,006					
	CUR	6	5	6	1	0,004					
	DOM	2	5	2	1	0,009					
	PNM	7	8	7	1	0,005					
	TBG	4	7	4	1	0,007					
	Total*	45	93	28	0,944	0,019					
<i>P. ascensio.</i>	Ascensão	12	8	6	0,682	0,002					

ES: Espírito Santo, AR: Atol das Rocas, FN: Fernando de Noronha, CAR: Caribe, BAH: Bahamas, BLZ: Belize, CUR: Curaçao, DOM: Dominica, PNM: Panamá, TBG: Trinidad e Tobago.

Tabela 4: Valores dos testes de neutralidade D de Tajima e F de Fu para as populações de *Priolepis dawsoni*, *P. hipoliti* e *P. ascensionis*. Os resultados considerados significativos ($p < 0,05$) estão identificados por asteriscos.

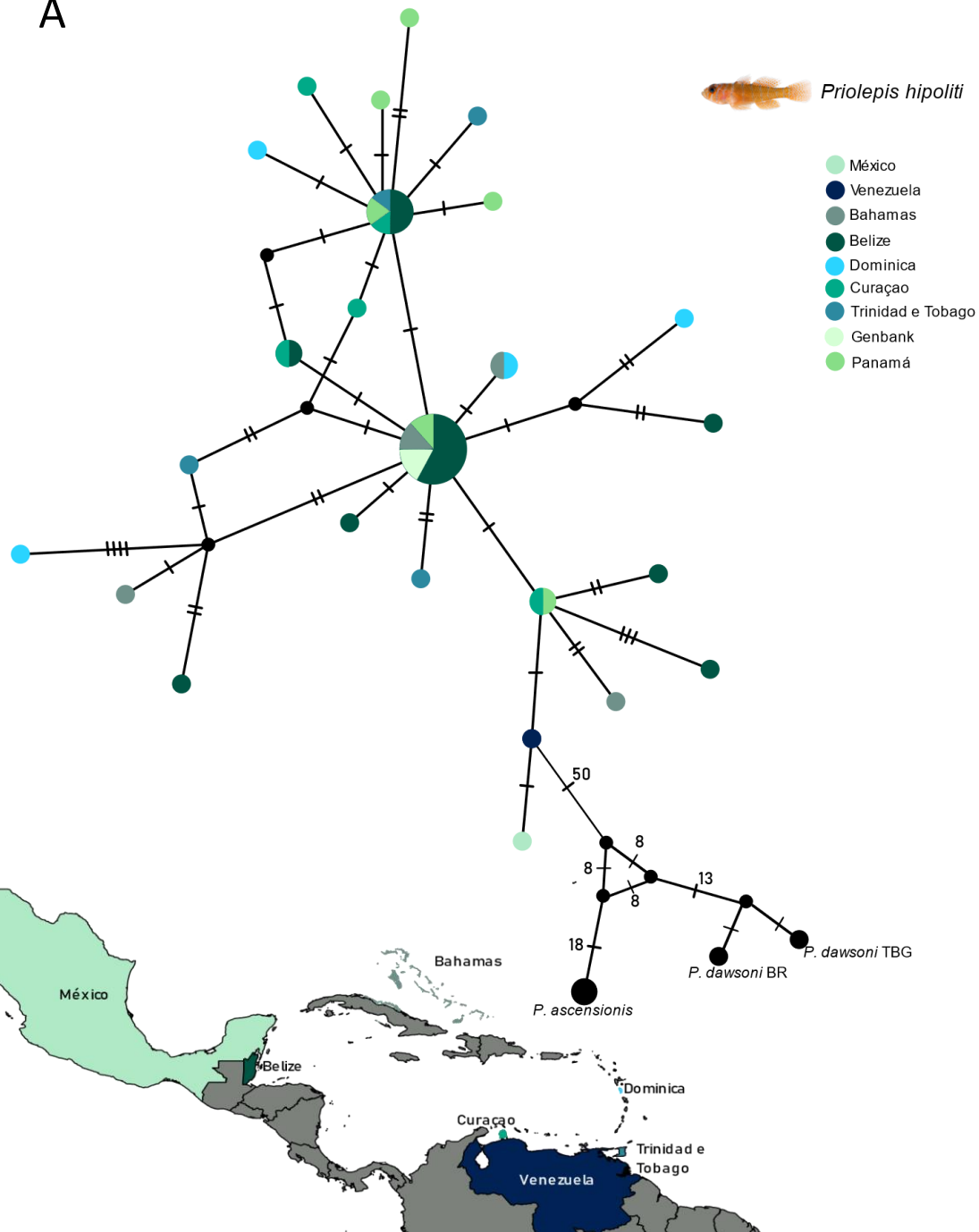
		COI				Citb			
		D	p	F	p	D	p	F	p
<i>P. dawsoni</i>	ES	-1,053	0,171	-5,574*	0,000	-1,37	0,097	-2,289	0,083
	AR	-0,596	0,405	-1,554	0,080	-0,3829	0,394	-3,115*	0,030
	FN	-0,746	0,239	-6,945*	0,000	-0,746	0,24	-6,945*	0,002
<i>P. hipoliti</i>	BAH	-0,830	0,101	-0,664	0,181				
	BLZ	-1,845*	0,022	-2,580	0,058				
	CUR	-0,314	0,420	-4,260*	0,000				
	PNM	-0,656	0,318	-4,556*	0,001				
	TBG	-0,389	0,534	-0,946	0,117				
<i>P. ascension.</i>	ASC	-1,983*	0,006	-2,456*	0,018				

ES: Espírito Santo, AR: Atol das Rocas, FN: Fernando de Noronha, CAR: Caribe, BAH: Bahamas, BLZ: Belize, CUR: Curaçao, PNM: Panamá, TBG: Trinidad e Tobago, ASC: Ascensão

As redes haplotípicas (Figuras 6 e 7) não evidenciaram a presença de estruturação geográfica para as espécies do Caribe (*P. hipoliti*) e Brasil (*P. ascensionis* foi coletada apenas em Ascensão), no entanto, os clados encontrados na topologia da árvore de coalescência (Figura 5) para *P. dawsoni* se repetiram com os mesmo espécimes nas redes haplotípicas e podem representar a existência de duas linhagens evolutivas diferentes. Também foi possível identificar o compartilhamento de haplótipos, em *P. dawsoni*, dos espécimes encontrados no Caribe.

Figura 6: Relação hierárquica entre haplótipos do gene COI em diferentes populações de (A) *Priolepis hipoliti* e (B) *Priolepis ascensionis*. Cada haplótipo está representado por um círculo sendo este proporcional a sua frequência. Cada traço simboliza a presença de uma mutação separando dois haplótipos. Os círculos pretos pequenos representam haplótipos hipotéticos não amostrados. Os locais amostrados estão identificados nos mapas junto a rede haplótica.

A



B

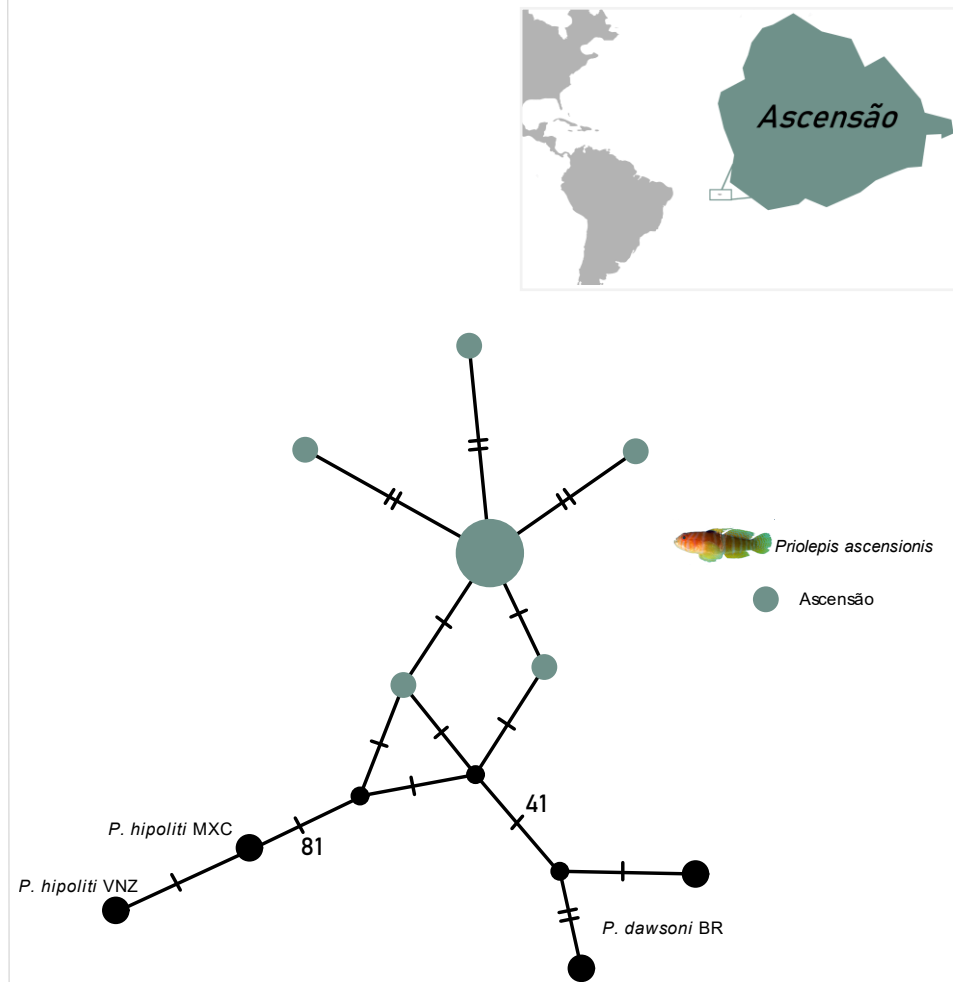
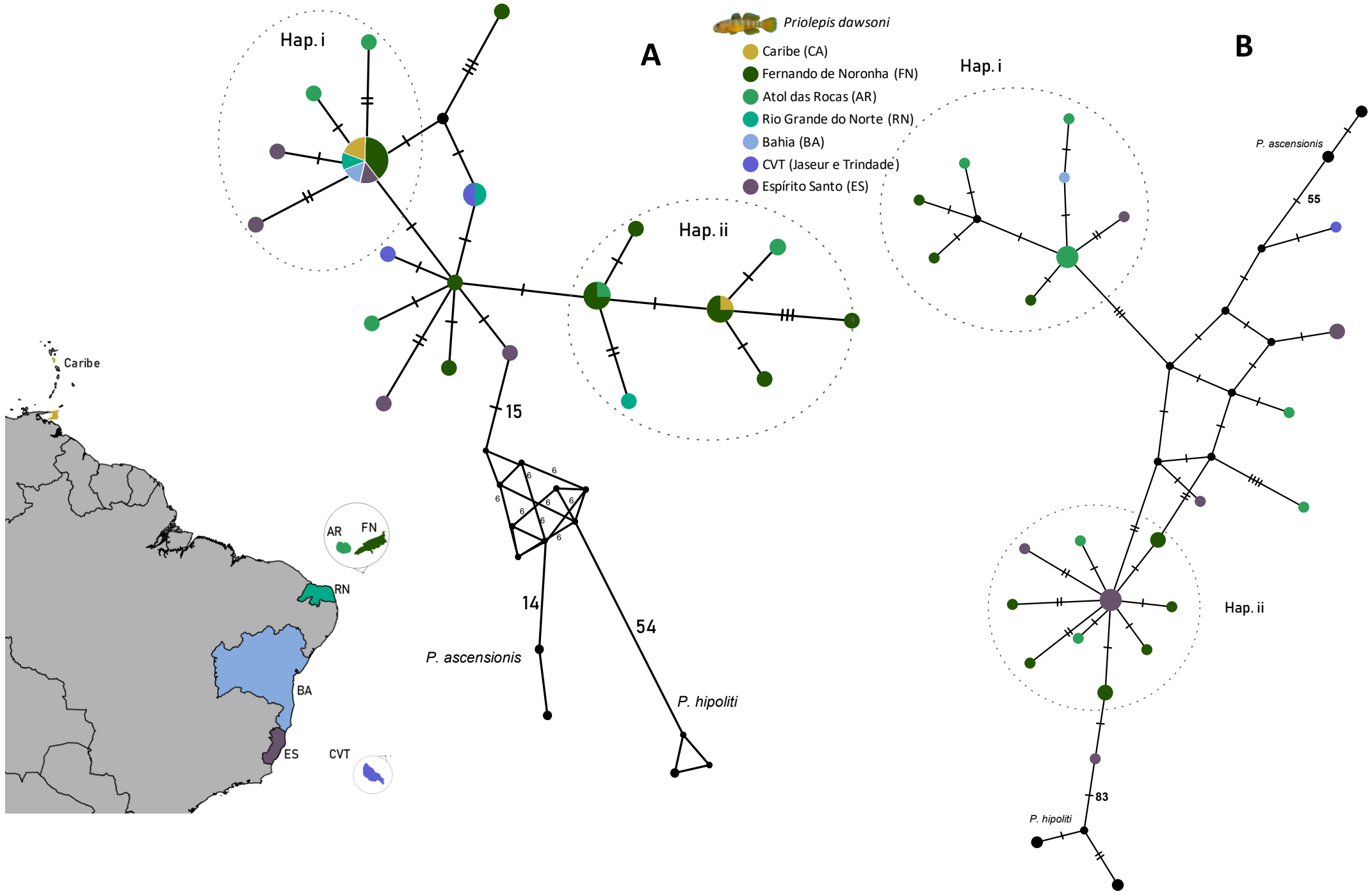


Figura 7: Relação hierárquica entre haplótipos de diferentes populações de *Priolepis dawsoni* para os genes (A) COI e (B) Citb. Cada haplótipo está representado por um círculo sendo este proporcional a sua frequência. O número de mutações que separam dois haplótipos equivale a cada traço ou número descrito acima dele. Os círculos pretos pequenos representam haplótipos hipotéticos não amostrados. Os haplogrupos I e II, destacados em cinza, correspondem às linhagens identificadas na filogenia da Figura 5.



Estruturação genética em Priolepis dawsoni?

Os dois haplogrupos encontrados em *P. dawsoni* para o gene *Citb* são formados por haplótipos do ES, AR, FN, BA e RN, evidenciando que mesmo indivíduos de locais distantes, como ES e FN, e de habitats diferentes, i.e. ilhas vs. costa, são capazes de manter o fluxo gênico entre suas populações.

O F_{st} de Wright (Tabela A1, Apêndice III) apresentou indícios de fluxo gênico irrestrito entre quase todas as localidades com exceção do monte Jaseur em relação à Bahia e Rio Grande do Norte ($F_{st} = 1$) e entre Rio Grande do Norte e Bahia ($F_{st} = 1$). No entanto, o baixo número amostral para estas três regiões ($N = 1$) diminui a confiabilidade dos resultados e pode ser responsável pelo valor não significativo ($p > 0,05$) para todos os resultados. Apesar disso, os locais com maior número amostral (ES, FN e AR) apresentaram baixos valores de F_{st} (mínimo de 0,0 e máximo de 0,01), corroborando a hipótese de ausência de barreiras à dispersão entre estes locais.

O agrupamento da SAMOVA para $K = 2$ (Figura 8 e Tabela 5) resultou na divisão entre o haplótipo do monte Jaseur e os demais locais obtendo o maior valor encontrado para F_{st} (0,20). Estes valores, no entanto, não foram significativos. Para $K = 3$, o valor de F_{st} encontrado (0,19) foi semelhante para o agrupamento de JS / RN+BA/ FN+AR+ES, mostrando-se dessa vez significativo para ϕ_{ct} (21,53).

Para comparar os resultados encontrados na SAMOVA com a estruturação entre o Haplogrupos I e II (não agrupados por regiões) utilizamos a AMOVA para testar o fluxo gênico entre 4 agrupamentos: 1) entre ilhas e continente, 2) entre região norte e sul e 3) entre os Haplogrupos I e II e 4) entre todos os locais. Os resultados (Tabela A2, Apêndice III) mostraram que o agrupamento 3 (entre os Haplogrupos I e II) justificou aproximadamente 29% da variação genética total (ϕ_{ct}). O agrupamento 4 suportou o fluxo gênico irrestrito entre todas as localidades, uma vez que este agrupamento justificou apenas 0,75% da variação genética total (ϕ_{ct}) e 99,25% da variação genética pode ser justificada pela variação dentro das populações (ϕ_{st}).

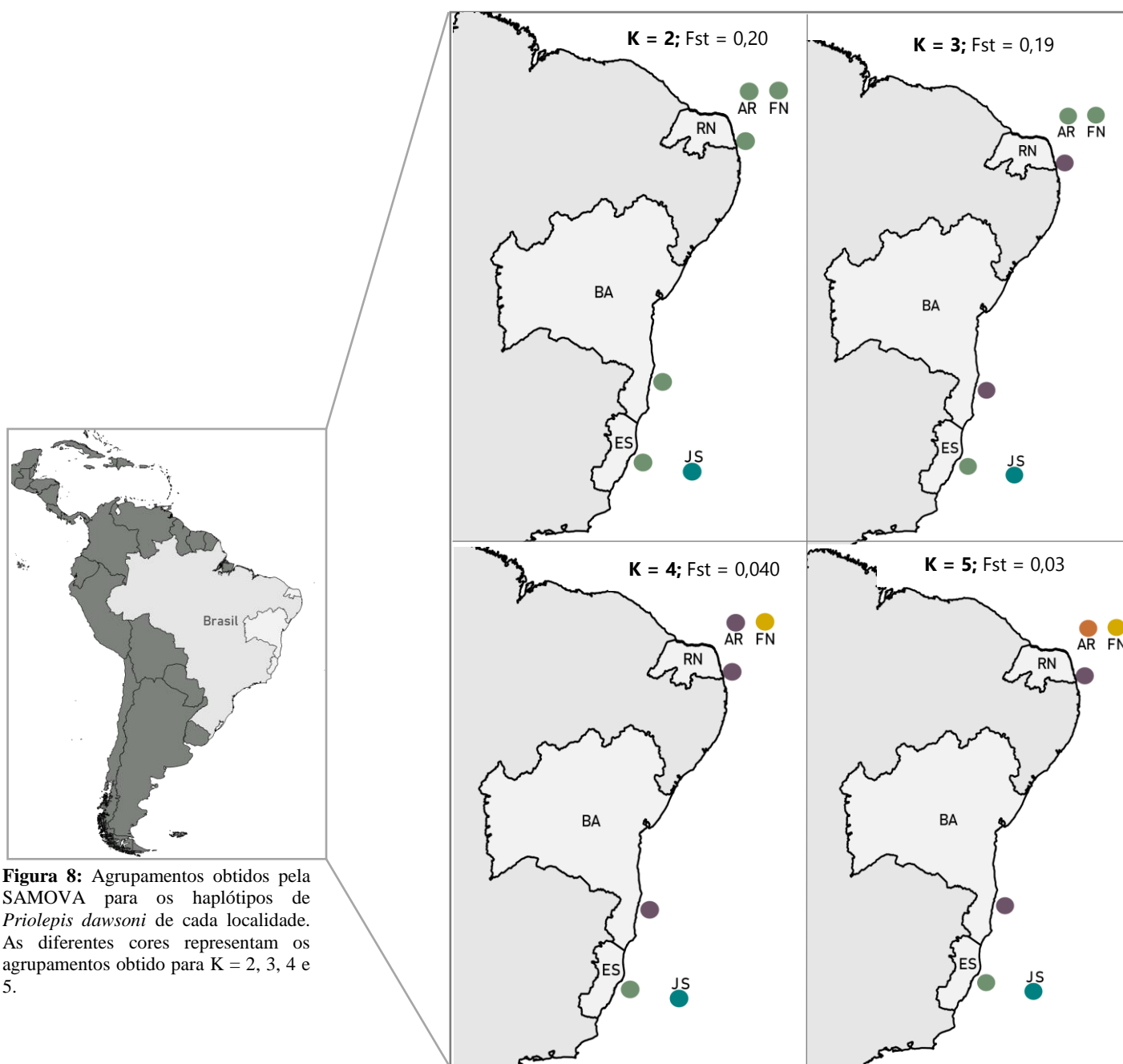


Figura 8: Agrupamentos obtidos pela SAMOVA para os haplótipos de *Priolepis dawsoni* de cada localidade. As diferentes cores representam os agrupamentos obtido para K = 2, 3, 4 e 5.

Tabela 5: Valores de variação genética obtidos pela SAMOVA. O valor significativo ($p < 0,05$) está identificado por asterisco.

K	Composição dos grupos	ϕ_{ct}	ϕ_{sc}	ϕ_{st}	FST	P(Fsc)	P(Fst)	P(Fct)
2	FN+AR+RN+BA+ES/JS	19.54	1.13	79.33	0.20	0.31	0,22	0.17
3	FN+AR+ES/RN+BA/JS	21.53*	-2.30	80.78	0.19221	0.295	0.228	0.015*
4	FN/AR+RN+BA/ES/JS	20.67	-16.47	95.79	0.04208	0,934	0.245	0.060
5	FN/AR/RN+BA/ES/JS	82.15	-78.61	96.46	0.035	1	0.23	0.061

ES: Espírito Santo; JS: monte submarino Jaseur (CVT); BA: Bahia; RN: Rio Grande do Norte; AR: Atol das Rocas; FN: Fernando de Noronha.
 ϕ_{ct} : diferença genética entre os grupos; ϕ_{sc} : diferença genética entre populações dentro dos grupos; ϕ_{st} : diferença genética dentro das populações.

DISCUSSÃO

Topologia

A topologia obtida para o gene COI se diferiu da apresentada por Thacker (2014) pela inserção das espécies da família Butidae dentro de Gobionellidae, além do agrupamento de Odontobutidae em Eleotridae. Para a análise concatenada, *Lythrypnus* não foi recuperado junto ao clado de *Priolepis* e *Trimma*. No entanto, todos os nós que apresentaram diferenças em relação a topologia de Thacker (2014) não obtiveram bons valores de suporte, indicando incertezas nestas hipóteses de parentesco como resposta, possivelmente, à ausência de alguns genes na análise concatenada para algumas espécies (ver Tabela A1 do Apêndice I). As altas taxas evolutivas encontradas para *Lythrypnus* no gene 12S, por exemplo, também podem ter interferido em seu estabelecimento no Grupo *Priolepis*, indicando que análises acrescentando genes nucleares com menor taxa de mutação são necessárias para estudos futuros.

Do Grupo ao gênero Priolepis

Bellwood *et al.* (2015) classificam a história evolutiva dos peixes recifais em seis principais fases que se iniciam no Devoniano, com as primeiras evidências de interação entre recifes e peixes (Fases 1, 2 e 3), até o surgimento e evolução das linhagens modernas (Fases 4, 5 e 6). A origem estimada para a família Gobiidae (50 Ma; Thacker, 2015) ocorreu durante a Fase 4 em um período marcado pelo surgimento e radiação de grande parte das comunidades recifais modernas como resultado principalmente do aparecimento dos recifes tropicais (Bellwood *et al.*, 2015). Nesta fase, o *hotspot* de biodiversidade recifal se concentrava a oeste de Tethys sendo extinto durante o seu evento terminal e migrando para o Arquipélago Indo Australiano (AIA)⁵ durante a Fase 5 (34-5 Ma) (Steininger & Rögl, 1984; Renema *et al.*, 2008; Bellwood *et al.*, 2015) que corresponde ao período de origem do Grupo *Priolepis*. A primeira divergência deste clado há 30-31 Ma resultou na divisão entre a linhagem de *Lythrypnus* e o ancestral comum a *Trimma* e *Priolepis* que se divergiu 4 milhões de anos depois. Conforme destacado por Thacker (2015), é preciso considerar que a extinção de Tethys e consequentemente das linhagens que foram ali originadas podem impedir o reconhecimento deste local como centro de origem do Grupo *Priolepis*. Neste caso, os eventos de extinção e migração com o fim do *hotspot* de Tethys podem ter levado à divergência e origem das três principais linhagens modernas deste grupo. Períodos de origem similares são também encontrados para todos os outros

⁵ Compreende a área localizada entre as Filipinas, Indonésia e Nova Guiné. É também conhecida como Triângulo do Corais.

Grupos/linhagens da família Gobiidae cujos centros de origem estão no Indo Pacífico e Índico Oeste, com exceção da linhagem Gobiosomatini originada no Atlântico (Thacker, 2015). É possível que neste período a primeira divergência do Grupo *Priolepis* tenha originado a linhagem do Atlântico, hoje representada por *Lythrypnus*, e a linhagem do Indo Pacífico, representada por *Priolepis* e *Trimma*.

Nossos resultados mostraram que a origem do gênero *Priolepis* ocorreu há ~21 Ma no IP e, em conjunto com os padrões biogeográficos do mesmo período, podem indicar o AIA como seu centro de origem. Estes ambientes recifais foram responsáveis por promover refúgio para os grupos antes presentes em Tethys funcionando assim como *hopping hotspots* ao permitir a sobrevivência e grande diversificação de peixes recifais mesmo em um período marcado por extinções (Renema et al., 2008; Cowman & Bellwood, 2011). O mesmo período de surgimento foi encontrado para *Trimma* e *Lythrypnus* assim como para todas as famílias usadas na calibração das análises do relógio molecular, evidenciando a radiação de espécies recifais característica deste período.

A formação do Clado Atlântico

As dispersões usando a passagem de Tethys como rota foram sendo encerradas à medida que seu fechamento gerava o aumento da salinidade do Mediterrâneo e caminhava para seu evento terminal há 12 Ma (Sale, 2002; Steininger & Rögl, 1984; Renema et al., 2008). Este evento vicariante ocorreu no mesmo período em que o fim do fluxo gênico entre AT e IP para *Priolepis* resultou na formação do Clado Atlântico (há ~13Ma). A sincronia entre estes episódios indica que este foi o agente responsável pelo fim da dispersão entre as duas províncias e evidencia este local como principal rota usada por *Priolepis* para chegar ao Atlântico. Tal hipótese foi sugerida e suportada para outros grupos, como Scaridae (Bellwood, 1994) e Labridae (Barber & Bellwood, 2005). Provavelmente, a direção destas dispersões era facilitada pela Corrente Circumtropical que corria em direção a oeste justificando a menor frequência de fluxos contrários, i.e. do AT para o IP, e seguindo também a dispersão de larvas a partir do *hotspot* do AIA.

Neste período, rotas alternativas utilizando o Pacífico Leste e o sul da África eram menos ocorrentes, apesar de já serem identificadas em outras linhagens recifais incluindo algumas da família Gobiidae como *Glossogobius* e *Gobius* (Thacker, 2015). Um cenário de dispersão via o sul da África poderia ser considerado se o período de divergência encontrado para as linhagens do AT e IP correspondesse ao mesmo período de formação do complexo de Benguela (há 2 Ma). Neste caso, alternâncias de efetividade durante as variações climáticas do Pleistoceno (Rocha et al., 2005) poderiam ser também

encontradas. A passagem através do Pacífico Leste também parece improvável já que, para isso, o fechamento do Istmo do Panamá (c. 3,1 Ma) deveria ser o evento vicariante responsável pela divergência entre AT e IP. Somado a estas evidências temos ainda a ausência do gênero *Priolepis* tanto na costa do Pacífico Leste quanto na costa atlântica da África. A origem mais antiga de *Priolepis hipoliti* (estimativa de 3,5 Ma para o TMRCA da espécie) também pode ser considerada uma evidência do uso de Tethys como rota, uma vez que o Caribe era a região mais acessível do Atlântico Oeste para receber dispersões usando como transporte a Corrente Circumtropical.

Divergências dentro do Atlântico

Nossos resultados indicaram que apenas dois milhões de anos após a formação do Clado Atlântico o gênero *Priolepis* sofreu nova divisão dando origem às linhagens do Atlântico norte e sul há c. 10,5 Ma. Este período corresponde a origem de formação da Barreira do Amazonas e acompanha os mesmos períodos de divergência encontrados entre espécies irmãs do Caribe e Brasil (Joyeux et al., 2001; Rocha, 2003; Floeter et al., 2008), corroborando assim nossa hipótese de especiação por vicariância. Apesar da grande efetividade desta barreira durante o passado, em especial durante as glaciações, seu atual estado poroso tem sido responsável por contatos secundários entre espécies irmãs (Joyeux et al., 2001; Rocha, 2003a; Floeter et al., 2008c; Pinheiro et al., 2018) e pode justificar como sua pluma foi capaz de isolar as duas regiões mas, hoje, permite a dispersão de *P. dawsoni* para o Caribe, conforme evidenciado em nossas filogenias.

Posteriormente, os estágios finais ao fechamento do Istmo do Panamá resultaram em abruptas alterações no Atlântico em resposta ao fim do fluxo contínuo entre Pacífico Leste e Atlântico. Mudanças no deslocamento da Zona de Convergência Intertropical (ITCZ), salinidade superficial, distribuição de nutrientes, circulação oceânica superficial e profunda e, principalmente, nas condições climáticas, persistiram enquanto o equilíbrio natural era reestabelecido (Haug et al., 2001). Como resultado, muitas espécies recifais foram extintas ou diversificadas assim como ocorreu em *Priolepis* com a divergência do AT sul (há ~3,5 Ma) em duas novas linhagens: uma que posteriormente daria origem a *P. dawsoni* e outra a *P. ascensionis*. A intensificação na circulação deste período pode explicar eventos raros de dispersão entre o Atlântico oeste e leste conforme sugerido para *Ophioblennius* há cerca de 4 Ma (Muss et al., 2001). Neste caso, a dispersão teria se dado com a intensificação da Contracorrente Equatorial permitindo a colonização da costa Africana e, posteriormente, das ilhas de Ascensão e Santa Helena através da corrente de Benguela (Muss et al.,

2001). Este cenário, no entanto, pode ser improvável para *Priolepis* já que está ausente na costa oeste da África. Nossos resultados evidenciam que a fonte de dispersão se deu a partir do Brasil.

A influência do IDP e variações climáticas na história das espécies

Há c. 4 Ma, durante o final do Plioceno, os eventos que sucederam as mudanças na dinâmica hidrológica do Atlântico ocasionadas pelo fechamento do IDP (e que se intensificaram há c. 5 Ma) também resultaram na formação de novas linhagens no AT norte (na linhagem de *P. hipoliti* – Figura 5) assim como ocorreu para o AT sul (citada no tópico anterior). Outra semelhança está na origem das três espécies no Pleistoceno, época marcada por alternância nos padrões climáticos e variações eustáticas do nível do mar. Para este último evento, a dificuldade em compreender a resposta das populações para cada período (glacial e interglacial) está em considerar que a margem de erro estimada com o uso do relógio molecular é muito maior do que os intervalos entre os ciclos climáticos, que se alternavam a cada 100 mil anos aproximadamente (Siddall et al., 2007). Apesar disso, padrões semelhantes de expansão populacional, isolamento e/ou extinção combinados ao conhecimento sobre o local de estudo podem nos ajudar a inferir como as populações responderam em cada condição climática. A influência destes eventos na história evolutiva das três espécies estudadas é discutida a seguir.

Priolepis hipoliti

A primeira divergência (c. 4 Ma) na linhagem que mais tarde daria origem à *Priolepis hipoliti* ocorreu no mesmo período que grandes modificações impactavam a fauna recifal do Caribe. Inúmeras espécies de corais e moluscos foram extintas entre 4 a 1 Ma em resposta à queda na produtividade primária ocasionada pela diminuição da temperatura global (Jackson e Johnson, 2000). No entanto, a reação em cadeia de eventos ecológicos que sucederam o fechamento do IDP foi tão significativa que é difícil determinar como cada espécie reagiu às mudanças da dinâmica local (O’Dea et al., 2007). Para peixes recifais como *Priolepis*, as principais consequências deste evento podem ter sido a modificação nos padrões de circulação e a glaciação do hemisfério norte que ocorreu entre 3,1 e 2,5 Ma⁶ resultando na diminuição do nível do mar (Haug et al. 2001). Estes fenômenos foram capazes de alterar a dispersão larval, isolar populações, extinguir habitats recifais e possivelmente, levaram à divergência encontrada na linhagem do Atlântico norte.

Após a formação de *P. hipoliti* há ~2.5 Ma, as alternâncias climáticas do Pleistoceno influenciaram a história de suas populações justificando as evidências de expansão populacional recente e a existência

⁶ Esta data pode variar conforme o autor. Jackson e Johnson consideram que a glaciação do hemisfério norte teve início há 4 Ma.

de duas principais linhagens dentro de *P. hipoliti* (encontradas na topologia do gene COI com suporte máximo, Figura 5). As regressões marinhas resultantes dos períodos glaciais culminaram na exposição de muitos ambientes recifais e consequente perda de habitat principalmente para espécies de águas rasas (Macieira et al., 2015), sendo a glaciação mais severa responsável pela queda de 105-140 metros no nível do mar global (Lambeck et al., 2002; Siddall et al., 2007). Enquanto populações exclusivas de ambientes rasos eram extintas, aquelas com tolerância a ambientes mesofóticos, como *P. hipoliti*, podem ter aumentado sua chance de sobrevivência. Com o retorno dos períodos transgressivos, áreas rasas podiam ser novamente criadas possibilitando a expansão de suas populações bem como ocorreu em diversos outros grupos marinhos (Liu et al., 2006; He et al., 2010; Ibáñez et al., 2011).

Uma questão importante sobre os períodos regressivos é compreender a importância das áreas mais profundas como zonas de refúgio. O uso de ambientes profundos para gobídeos do Caribe ocorreu possivelmente como uma adaptação às condições climáticas impostas pelos ciclos glaciais (Tornabene, 2016). A queda do nível do mar resultou na ocupação dos recifes mais profundos que, posteriormente, foram abandonados durante as interglaciações permitindo que nichos vacantes pudessem ser ocupados por espécies que, por exemplo, queriam evitar o estresse termal (Tornabene, 2016). Esta hipótese é eficiente em explicar como algumas linhagens originadas em áreas rasas foram derivadas em grupos/espécies característicos de recifes mais profundos, mas este não é o caso de *P. hipoliti*, que possui distribuição desde áreas mais rasas, mas com ocorrências esporádicas em até 105 m de profundidade. Para este caso existem duas possíveis resoluções: i) apenas as populações de *P. hipoliti* que já viviam em zonas profundas sobreviveram ou ii) populações dos recifes rasos podiam dispersar suas larvas para ambientes profundos. Ao considerar a primeira hipótese, esperamos encontrar estruturação entre populações de águas rasas e profundas, enquanto para a segunda, o fluxo gênico deve ser irrestrito entre diferentes profundidades. Dado a ausência de informações sobre as profundidades de coleta em *P. hipoliti*, a viabilidade da estruturação por profundidade foi discutida a seguir para *P. dawsoni*.

Priolepis dawsoni

A expansão populacional evidenciada em *P. dawsoni* pode ter ocorrido pela mesma influência das variações climáticas que afetaram a espécie do Caribe: diminuição da população após a redução de habitats rasos durante glaciações e expansão populacional durante as interglaciações. A tolerância dessa espécie a diferentes profundidades e composições recifais também nos permite inferir que esta pode ter se beneficiado dos recifes mesofóticos para sobreviver. A diferença, no entanto, pode estar nas populações da CVT, onde os eventos de glaciação e interglaciação tiveram efeitos contrários das populações costeiras (Pinheiro et al., 2017). Durante as exposições recifais que ocorreram nas

glaciações os montes submarinos tornaram-se emersos e permitiram a criação de novas áreas rasas ao seu redor, facilitando as dispersões ao longo da cadeia de montanhas para espécies de águas rasas conforme sugerido pelo modelo de *stepping stones* (Ludt e Rocha, 2015; Simon, 2014; Pinheiro et al., 2017; Macieira et al. 2015). Com a volta dos períodos interglaciais os montes foram novamente submergidos, extinguindo as áreas rasas, bem como populações, e restringindo novamente o fluxo gênico entre os montes, a costa e as ilhas de Trindade e Martin Vaz (Simon, 2014; Pinheiro et al., 2017). Neste caso, o caráter cíclico de aumento e diminuição do nível do mar determina ora o isolamento dos montes, permitindo a diversificação das espécies, ora a volta da conectividade entre eles, ocasionando o contato secundário entre as linhagens formadas e, por vezes, impedindo que estas venham a se tornar novas espécies (Simon, 2014; Pinheiro et al., 2017). A intermitência nessa conectividade pode variar também em função da ecologia de cada espécie. Aquelas exclusivas de recifes mesofóticos tendem a ter seu fluxo gênico restringido em períodos glaciais, ao contrário de espécies exclusiva de recifes rasos. Mas como avaliar a conectividade daquelas espécies adaptadas a ambos os ambientes? O primeiro passo está em reconhecer se espécimes de recifes rasos e profundos constituem mesma população. Para *Priolepis dawsoni*, o indivíduo do monte Jaseur, o único coletado em recifes mesofóticos (65 m), justificou 20% da divergência genética encontrada dentro da espécie. Para Pinheiro (2016), a divergência de populações da CVT pode ser o resultado do surgimento das adaptações aos recifes mesofóticos. No entanto, o valor de divergência encontrado ainda é pequeno dado a grande diversidade genética da espécie e o número amostral é insuficiente para determinar se existe ou não estruturação entre ambos os ambientes.

Para os espécimes de *P. dawsoni* encontrados no Caribe poderíamos presumir que a formação dos corredores do Amazonas em períodos transgressivos deveria caminhar junto com a expansão da sua população, no entanto, o número amostral foi insuficiente para avaliar esta hipótese. Adicionalmente, notamos que os indivíduos do Caribe correspondem a linhagens diferentes (representadas pelo Haplogrupo 1 e 2), um indício de que são resultados de diferentes eventos dispersivos representados por distintos períodos interglaciais. Neste caso, este agrupamento também sugere que as duas linhagens de *P. dawsoni* foram formadas em decorrência das variações glacio-eustáticas uma vez que ocorrem junto com as duas diferentes linhagens do Caribe.

Para *Priolepis*, a alternância na efetividade da BAM funciona como agente vicariante em períodos regressivos, impedindo o fluxo entre Caribe e Brasil, mas durante períodos transgressivos permite dispersões esporádicas. Podemos então esperar que a cada glaciação uma nova linhagem seja originada pelo menos para o Caribe. A comprovação de indivíduos de *P. dawsoni* em Dominica e Trinidad e Tobago levam também a interessante discussão sobre o estabelecimento dessa espécie como endêmica do Brasil no estudo de Pinheiro et al. (2018). A coleta de dois indivíduos usados neste trabalho

somados a descrição de Rocha, é um indício de que a dispersão de *P. dawsoni* para o Caribe é suficiente para permitir o estabelecimento de populações neste local, excluindo assim seu status de endêmico do Brasil.

Para as outras populações de *P. dawsoni* analisadas, o fluxo gênico parece ser irrestrito, uma vez que não foram identificados sinais de estruturação entre locais distantes (como Espírito Santo e Fernando de Noronha) ou entre ilhas e a costa, descartando assim a presença de isolamento por distância e existência de espécies crípticas nas ilhas. A explicação para essa grande capacidade de dispersão pode estar no hábito generalista da espécie assim como no tempo de duração larval. Apesar de não existirem dados publicados sobre o período de retenção larval (PLD) de *Priolepis*, um alto valor, seguindo o padrão de Gobiidae (Patzner, 2012), pode facilitar o fluxo gênico entre regiões distantes. No entanto, mesmo espécies com longos períodos de retenção larval podem apresentar forte estruturação geográfica como verificado para *Elacatinus evelynae*, indicando que o entendimento sobre a ecologia de uma espécie se faz necessário para compreender sua capacidade de dispersão (Taylor e Helbert, 2004). Estudos de filogeografia comparativa podem ser uma interessante abordagem para compreender melhor a capacidade de dispersão de *P. dawsoni*.

Priolepis ascensionis

A nossa hipótese inicial incluía o Brasil como fonte de dispersão para colonização das ilhas de Ascensão e Santa Helena seguido por um efeito fundador como resposta à especiação peripátrica. Conforme esperado, *P. ascensionis* apresentou valor de diversidade significativamente menor quando comparado a todas as outras populações analisadas dentro de *P. dawsoni* e *P. hipoliti* suportando assim, a nossa hipótese. Esta foi também a única espécie a não apresentar evidências de expansão populacional no *Skyline Plot*. Estes resultados podem indicar menor tamanho populacional e, considerando a maior atuação da deriva gênica em populações pequenas, indicam a maior vulnerabilidade dessa espécie a anomalias ambientais se comparada às suas espécies irmãs *P. dawsoni* e *P. hipoliti* que possuem diversidade genética alta e, conseqüentemente, maior capacidade de adaptação. É interessante ressaltar que, apesar do menor valor de diversidade genética encontrado, os valores de diversidade haplotípica ainda podem ser considerados altos.

As relações hierárquicas da rede haplotípica para o gene *Citb* em *P. dawsoni* indicam que a dispersão para Ascensão ocorreu a partir de um ancestral presente no Brasil. A presença do indivíduo mais divergente da espécie irmã (haplótipo de Jaseur) próximo à *P. ascensionis*, pode ser uma evidência de que a ocupação dos montes submarinos da CVT pode ter favorecido o isolamento e

diversificação dessa população ancestral. Estes indivíduos que alcançaram as ilhas meso-atlânticas levaram genes que podem ter causado variações na população e que se fixaram após algumas gerações até que uma nova espécie fosse formada, neste caso, *P. ascensionis* (há 1,5 Ma). O período de divergência entre as linhagens do Brasil e Ascensão (3,5 Ma) corresponde ao período de i) formação da Ilha da Trindade, ii) do fechamento do Istmo do Panamá e iii) da glaciação do hemisfério norte. O surgimento da Ilha da Trindade pode estar associado a expansão das populações presentes nos montes submarinos da CVT facilitando as dispersões para a ilhas meso-atlânticas. Ao mesmo tempo, a criação de áreas rasas ao longo dos montes submarinos somada à intensificação da circulação no Atlântico também pode ter facilitado esta dispersão, visto que a CVT se encontra em latitude próxima a Santa Helena e é um dos pontos do Brasil mais próximos de Ascensão. A ausência de informações sobre a paleoceanografia do Atlântico sul limita, no entanto, nossa compreensão sobre os padrões de circulação do Atlântico sul neste período de instabilidade. Atualmente, o Giro Subtropical do Atlântico Sul é formado por correntes superficiais que se limitam ao sul pela Corrente Circumpolar Antártica e ao norte pelo sistema de correntes equatoriais, interligando o lado leste e oeste em sentido anti-horário (giro anticiclônico) (Peterson e Stramma, 1991; Servino, 2014). Utilizando os atuais padrões de circulação superficial, o cenário de dispersão do Brasil para Santa Helena/Ascensão poderia seguir o fluxo da Corrente do Brasil que se estende até, no máximo, 46°S onde passa a fluir em direção a leste formando a Corrente do Atlântico Sul até chegar no continente Africano. Este percurso resultaria em longos períodos de dispersão e condições adversas de sobrevivência para as larvas como as águas mais frias que caracterizam a Corrente das Malvinas e a Corrente das Agulhas na África. Caso o transporte mais lento que caracteriza a borda oeste do Atlântico sul tenha se intensificado, o aumento no transporte destas correntes superficiais pode ter facilitado as dispersões entre a CVT ou a costa e estas ilhas. Modificações na circulação do Atlântico em função das anomalias causadas pelo ENOS também são responsáveis por exceções nos eventos de dispersão (Philander, 2008) e podem favorecer o fluxo gênico através da BMA (Joyeux et al., 2001), no entanto, se este fosse o caso para *Priolepis*, eventos de sobreposição e/ou contato secundário seriam ocorrentes.

Estes resultados abrem ainda novos questionamentos sobre a história demográfica dessas espécies e também sobre o papel da CVT na exportação de biodiversidade do Atlântico. Quais são os fatores preponderantes para a grande capacidade de dispersão destas espécies? Existe estruturação genética entre populações dos recifes mesofóticos e fóticos? Qual a relação entre a CVT e as ilhas meso-atlânticas? As respostas para essas perguntas podem acrescentar conhecimento não apenas ao entendimento das espécies aqui estudadas, como também, ao entendimento sobre a biogeografia e padrões evolutivos encontrados em peixes criptobentônicos.

CONCLUSÕES

No presente trabalho os caminhos evolutivos percorridos pelo gênero *Priolepis* no Atlântico mostraram ser direcionados principalmente por eventos geológicos e climáticos destacando a importância das especiações alopátricas para formação da biodiversidade recifal. Sua história evolutiva se inicia com o fechamento da passagem de Tethys resultando no isolamento e origem do Clado Atlântico. Apenas dois milhões de anos depois, a formação da barreira do Amazonas dividiu as linhagens do Atlântico norte e sul, corroborando nossa hipótese inicial de especiação alopátrica por vicariância. A hipótese de especiação alopátrica peripátrica para Ascensão também foi corroborada e o melhor cenário para explicar a origem de *P. ascensionis* é a dispersão a partir do Brasil com evidências de que a CVT pode ter participado deste processo. As análises filogeográficas e demográficas sugerem que a história evolutiva das populações estudadas foi influenciada pelas variações climáticas do Pleistoceno e que o hábito generalista destas pode facilitar a dispersão entre regiões distantes e ambientes diferentes. Os altos valores de diversidade encontrados em todas as espécies evidenciaram seu elevado tamanho populacional e variabilidade genética, justificando a maior capacidade de adaptação que possibilitou sua sobrevivência mesmo durante as exposições dos recifes e perda de habitats ocasionadas durante as glaciações. Por fim, destacamos que o status de *P. dawsoni* como endêmica do Brasil precisa ser revisado.

REFERÊNCIAS

- Bandelt, H.-J., Peter Forster, and A. R. & ðhl. (1999) Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology* **16**, 37–48.
- Barber, P. H. & Bellwood, D. R. (2005) Biodiversity Hotspots: Evolutionary Origins of Biodiversity in Wrasses (Halichoeres: Labridae) in the Indo-Pacific and New World Tropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **35**, 235–253.
- Bellwood, D. R. (1994) A Phylogenetic Study of the Parrotfish Family Scaridae (Pisces: Labroidea), with a Revision of Genera. *Records of the Australian Museum, Supplement* **20**, 1–86.
- Bellwood, D. R., Goatley, C. H. R., Cowman, P. F., Bellwood, O. 6 The Evolution of Fishes on Coral Reefs: Fossils Phylogenies and Functions. *The Ecology of Fishes on Coral Reefs*, 56-63.
- Birdsong, RAY S.; Murdy, Edwards O.; Pezol, F. L. (1988) A Study of the Vertebral Column and Median Fin Osteology in Gobioid Fishes with Comments on Gobioid Relationships Ray. *Atlantic* **42**, 174–214.
- Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C. H., Xie, D., Suchard, M. A., Rambaut, A. & Drummond, A. J. (2014) BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Computational Biology* **10**, 1–7.
- Brandl, S. J., Goatley, C. H. R., Bellwood, D. R. & Tornabene, L. (2018) The Hidden Half: Ecology and Evolution of Cryptobenthic Fishes on Coral Reefs. *Biological Reviews* **93**, 1846-1873.
- Brewin, P. E., Brown, J. & Brickle, P. (2016) Diurnal Variation of Fish and Macrobenthic Invertebrate Community Structure in an Isolated Oceanic Island of the South Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **96**, 737–747.
- Briggs, J. C. (1974) Operation of Zoogeographic Barriers. *Systematic Biology* **23**, 248–256.
- Chow, S., Yanagimoto, T. (1998) Universal PCR Primers for Ribosomal Protein Introns of Fish. *International Aquatic Research* **8**, 29-36.
- Collette, B. B. & Rutzler, K. (1977) Reef Fishes over Sponge Bottoms off the Mouth of the Amazon River. *Proceedings, Third International Coral Reef Symposium* 305–310.

- Cowman, P. F. & Bellwood, D. R. (2011) Coral Reefs as Drivers of Cladogenesis: Expanding Coral Reefs, Cryptic Extinction Events, and the Development of Biodiversity Hotspots. *Journal of Evolutionary Biology* **24**, 2543–2562.
- Edwards, A. J. & Glass, C. W. (1987) The Fishes of Saint Helena Island, South Atlantic Ocean. II. the Pelagic Fishes. *Journal of Natural History* **21**, 1367–1394.
- Excoffier, L. & Lischer, H. E. L. (2010) Arlequin Suite Ver 3.5: A New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**, 564–567.
- F. Tajima. (1989) Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. *Genetics* **123**, 585–595.
- Floeter, S. R., Rocha, L. a, Ferreira, C. E. L., Rangel, C. a & Feitoza, B. M. (2003) Brazilian Reef Fish Fauna : Checklist and Remarks. *Brazilian Reef Fish Project* 1–22.
- Floeter, S. R., Rocha, L. A., Robertson, D. R., Joyeux, J. C., Smith-Vaniz, W. F., Wirtz, P., Edwards, A. J., Barreiros, J. P., Ferreira, C. E. L., Gasparini, J. L., et al. (2008) Atlantic Reef Fish Biogeography and Evolution. *Journal of Biogeography* **35**, 22–47.
- Francini-filho, R. B., Asp, N. E., Siegle, E., Hocevar, J., Lowyck, K., Avila, N. D., Vasconcelos, A. A. & Baitelo, R. (2018) Perspectives on the Great Amazon Reef : Extension , Biodiversity , and Threats. *Frontiers in Marine Science* **5**, 1–5.
- Fu, Y. X. (1996) New Statistical Tests of Neutrality for DNA Samples from a Population. *Genetics* **143**, 557–570.
- Greenfield, D. W. (1989) *Priolepis Dawsoni* n. Sp. (Pisces: Gobiidae), a Third Atlantic Species of *Priolepis*. *Copeia* **1989**, 397.
- Greenfield, D. W. & Johnson, R. K. (1999) Assemblage Structure and Habitat Associations Of. **2**, 251–266.
- Haimovici, M. & Klippel, S. (1999) Diagnóstico Da Biodiversidade Dos Peixes Teleósteos Demersais Marinhos e Estuarinos Do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* **5**, 509-543.
- Haug, G. H., Tiedemann, R., Zahn, R. & Ravelo, A. C. (2001) Role of Panama Uplift on Oceanic

Freshwater Balance. *Geology* **29**, 207–210.

He, L., Zhang, A., Weese, D., Zhu, C., Jiang, C. & Qiao, Z. (2010) Late Pleistocene Population Expansion of *Scylla Paramamosain* along the Coast of China: A Population Dynamic Response to the Last Interglacial Sea Level Highstand. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **385**, 20–28.

Hoese, D. F., Bogorodsky, S. V. & Mal, A. O. (2015) Description of a New Species of *Trimma* (Perciformes: Gobiidae) from the Red Sea, with a Discussion of the Generic Separation of *Trimma* and *Priolepis*, with Discussion of Sensory Papillae Terminology. *Zootaxa* **4027**, 538–550.

Hoorn, C., Vries-laboratorium, C. H. H. De, Amsterdam, S. M. & A, M. A. L. M. S. (1995) Hoorn C , Guerrero J , Sarmiento GA , Lorente MA . Andean Tectonics as a Cause for Changing Drainage Patterns in Miocene Northern South America . *Geology* **23**, 237-240

Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. (1997) Bayesian Analysis of Molecular Evolution Using MrBayes. *Applied Mycology and Biotechnology* **6**, 1–53.

Ibáñez, C. M., Cubillos, L. A., Tafur, R., Argüelles, J., Yamashiro, C. & Poulin, E. (2011) Genetic Diversity and Demographic History of *Dosidicus Gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in the Humboldt Current System. *Marine Ecology Progress Series* **431**, 163–171.

Joyeux, J. C., Floeter, S. R., Ferreira, C. E. L. & Gasparini, J. L. (2001) Biogeography of Tropical Reef Fishes: The South Atlantic Puzzle. *Journal of Biogeography* **28**, 831–841.

Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular biology and evolution* **33**, 1870–1874.

Lambeck, K., Esat, T. M. & Potter, E. K. (2002) Links between Climate and Sea Levels for the Past Three Million Years. *Nature* **419**, 199–206.

Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A. M., Senfeld, T. & Calcott, B. (2017) Partitionfinder 2: New Methods for Selecting Partitioned Models of Evolution for Molecular and Morphological Phylogenetic Analyses. *Molecular Biology and Evolution* **34**, 772–773.

Lirberman, E. O. W. B. S. (2011) *Phylogenetic - Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*, 2nd ed. Wiley-Blackwell, ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.

- Liu, J. X., Gao, T. X., Zhuang, Z. M., Jin, X. S., Yokogawa, K. & Zhang, Y. P. (2006) Late Pleistocene Divergence and Subsequent Population Expansion of Two Closely Related Fish Species, Japanese Anchovy (*Engraulis Japonicus*) and Australian Anchovy (*Engraulis Australis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **40**, 712–723.
- Lopez, M. (2001) Architecture and Depositional Pattern of the Quaternary Deep-Sea Fan of the Amazon. *Marine and Petroleum Geology* **18**, 479–486.
- Lubbock, R. (1980) The Shore Fishes of Ascension Island. *Journal of Fish Biology* **17**, 283–303.
- Macieira, R. M., Simon, T., Pimentel, C. R. & Joyeux, J. (2015) Isolation and Speciation of Tidepool Fishes as a Consequence of Quaternary Sea-Level Fluctuations. *Environmental Biology of Fishes* **98**, 385–393.
- Maxfield, J. M., Van Tassell, J. L., St. Mary, C. M., Joyeux, J. C. & Crow, K. D. (2012) Extreme Gender Flexibility: Using a Phylogenetic Framework to Infer Theevolution of Variation in Sex Allocation, Phylogeography, and Speciation in a Genus of Bidirectional Sex Changing Fishes(Lythrypnus, Gobiidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **64**, 416–427.
- Moura, R. L. De & Sazima, I. (2000) Species Richness and Endemism Levels of the Southwestern Atlantic Reef Fish Fauna. *Proceedings of the Ninth International Coral Reef Symposium* **1**.
- Muss, a, Robertson, D. R., Stepien, C. a, Wirtz, P. & Bowen, B. W. (2001a) Phylogeography of Ophioblennius: The Role of Ocean Currents and Geography in Reef Fish Evolution. *Evolution; international journal of organic evolution* **55**, 561–572.
- Muss, A., Robertson, D. R., Stepien, C. A., Wirtz, P. & Bowen, B. W. (2001) Phylogeography of Ophioblennius : The Role of Ocean Currents and Geography in Reef Fish Evolution. *Evolution.* **55**, 561–572.
- Nogawa, Y. & Endo, H. (2007) A New Species of the Genus *Priolepis* (Perciformes : Gobiidae) From. *Bulletin of National Science Museum Tokyo* **1**, 153–161.
- O’Dea, A., Jackson, J. B. C., Fortunato, H., Smith, J. T., D’Croz, L., Johnson, K. G. & Todd, J. A. (2007) Environmental Change Preceded Caribbean Extinction by 2 Million Years. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 5501–5506.
- Patzner, R. A., Van Tassel, J. L., Kovacic, M., Kapoor, B. G. (2011) *The Biology of Gobies The*

Biology of Gobies. CRC Press. 685 p.

Philander, S. G. (2008) Atlantic Ocean Equatorial Currents. *Encyclopedia of Ocean Sciences: Secondz* 234–237.

Pinheiro, H. T. (2016) Fishes of the Vitória-Trindade Chain Biodiversity, Biogeography and Evolution. Tese (Doutorado em Ecologia e Biologia Evolucionária) - University of California, Santa Cruz.

Pinheiro, H. T., Rocha, L. A., Macieira, R. M., Carvalho-Filho, A., Anderson, A. B., Bender, M. G., Di Dario, F., Ferreira, C. E. L., Figueiredo-Filho, J., Francini-Filho, R., et al. (2018) South-Western Atlantic Reef Fishes: Zoogeographical Patterns and Ecological Drivers Reveal a Secondary Biodiversity Centre in the Atlantic Ocean. *Diversity and Distributions* **24**, 951–965.

Pyle, L. R. (2000) Assessing Undiscovered Fish Biodiversity on Deep Coral Reefs.Pdf. *Mar Technol Soc J* **34**, 82–91.

Pyle, R. L. (1999) Mixed-Gas, Closed-Circuit Rebreather User for Identification of New Reef Fish Species. *Displays* 53–65.

Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M. A. (2018) Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic biology* **67**, 901–904.

Renema, W., Bellwood, D. R., Braga, J. C., Bromfield, K., Hall, R., Johnson, K. G., Lunt, P., Meyer, C. P., McMonagle, L. B., Morley, R. J., et al. (2008) Hopping Hotspots: Global Shifts in Marine Biodiversity. *Science* **321**, 654–657.

Rocha, L.A., Craig, M. T., Bowen, B. W. (2007) Phylogeography and the Conservation of Coral Reef . *Coral Reefs* **26**, 501-512.

Rocha, L., Robertson, D., Roman, J. & Bowen, B. (2005a) Ecological Speciation in Tropical Reef Fishes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **272**, 573–579.

Rocha, L. A. (2003a) Patterns of Distribution and Processes of Speciation in Brazilian Reef Fishes. *Journal of Biogeography* **30**, 1161–1171.

Rocha, L. A. & Rosa, I. L. (2001) Baseline Assessment of Reef Fish Assemblages of Parcel Manuel Luiz Marine State Park, Maranhão, North-East Brazil. *Journal of Fish Biology* **58**, 985–998.

- Rocha, L. A. & Sciences, A. (2003) Patterns of Distribution and Processes of Speciation in Brazilian Reef Fishes. *Journal of Biogeography* **30**, 1161–1171.
- Rocha, L. A., Rosa, I. L. & Feitoza, B. M. (2000) Sponge-Dwelling Fishes of Northeastern Brazil. *Journal of Biogeography* **59**, 453–458.
- Rocha, L. A., Robertson, D. R., Rocha, C. R., Van Tassell, J. L., Craig, M. T. & Bowen, B. W. (2005b) Recent Invasion of the Tropical Atlantic by an Indo-Pacific Coral Reef Fish. *Molecular Ecology* **14**, 3921–3928.
- Rocha, L. a. (2003b) Patterns of Distribution and Preocess of Speciation in Brazilian Reef Fishes. *Journal of Biogeography* **30**, 1161–1171.
- Ross, S. W. & Rhode, F. C. (2004) The Gobioid Fishes of North Carolina (Pisces: Gobioidaei). *Bulletin of Marine Science* **74**, 287–323.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sanchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E. & Sanchez-Gracia, A. (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Molecular Biology and Evolution* **34**, 3299–3302.
- Schubart, C., Huber, M. (2006) Genetic Comparisons of German Populations of the Stone Crayfish, *Austropotamobius torrentium*. *Bulletin Français de la Pêche* **380**, 1019-1028.
- Sevilla, R., Diez, A., Nóren, M. (2007) Primers and Polymerase Chain Reaction Conditions for DNA Barcoding Teleost Fish Based on the Mitochondrial Cytochrome b and Nuclear Rhodopsin Genes. *Molecular Ecology Notes*. **7**, 730-734.
- Siddall, M., Chappell, J. & Potter, E.-K. (2007) 7. Eustatic Sea Level during Past Interglacials. *Science Direct* **7**, 1161-1171.
- Simon, T., Macieira, R. M. & Joyeux, J. C. (2013) The Shore Fishes of the Trindade-Martin Vaz Insular Complex: An Update. *Journal of Fish Biology* **82**, 2113–2127.
- Simon, E. T. (2014) Montes Submarinos da Cadeia Vitória-Trindade como Alpondras para Peixes Recifais. Tese (Biologia Animal) - Universidade Federal do Espírito Santo, ES.
- Simon, T., Pinheiro, H. T., Moura, R. L., Carvalho-Filho, A., Rocha, L. A., Martins, A. S., Mazzei, E., Francini-Filho, R. B., Amado-Filho, G. M. & Joyeux, J. C. (2016) Mesophotic Fishes of the

- Abrolhos Shelf, the Largest Reef Ecosystem in the South Atlantic. *Journal of Fish Biology* **89**, 990–1001.
- Steininger, F. F. & Rögl, F. (1984) Paleogeography and Palinspastic Reconstruction of the Neogene of the Mediterranean and Paratethys. *Geological Society, London, Special Publications* **17**, 659–668.
- Suchard, M. A., Weiss, R. E. & Sinsheimer, J. S. (2005) Models for Estimating Bayes Factors with Applications to Phylogeny and Tests of Monophyly. *Biometrics* **61**, 665–673.
- Sunobe, T., Sado, T., Hagiwara, K. & Manabe, H. (2017) Evolution of Bidirectional Sex Change and Gonochorism in Fishes of the Gobiid Genera *Trimma*, *Priolepis*, and *Trimmatom*. *The Science of Nature* **104**, 15.
- Thacker, C. E. (2009) Phylogeny of Gobioidae and Placement within Acanthomorpha, with a New Classification and Investigation of Diversification and Character Evolution. **2009**, 93–104.
- Thacker, C. E. (2014) Species and Shape Diversification Are Inversely Correlated among Gobies and Cardinalfishes (Teleostei: Gobiiformes). *Organisms Diversity & Evolution* **14**, 419–436.
- Thacker, C. E. (2015) Biogeography of Goby Lineages (Gobiiformes: Gobioidae): Origin, Invasions and Extinction throughout the Cenozoic. *Journal of Biogeography* **42**, 1615–1625.
- Thacker, C. E. & Roje, D. M. (2011) Systematics and Biodiversity Phylogeny of Gobiidae and Identification of Gobiid Lineages Natural History Museum of Los Angeles County, 900 Exposition Phylogeny of Gobiidae and Identification of Gobiid Lineages. *Systematics and Biodiversity* **9**, 329–347.
- Tornabene, L., Ahmadi, G. N., Berumen, M. L., Smith, D. J., Jompa, J. & Pezold, F. (2013a) Evolution of Microhabitat Association and Morphology in a Diverse Group of Cryptobenthic Coral Reef Fishes (Teleostei: Gobiidae: Eviota). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **66**, 391–400.
- Tornabene, L., Chen, Y. & Pezold, F. (2013b) Gobies Are Deeply Divided: Phylogenetic Evidence from Nuclear DNA (Teleostei: Gobioidae: Gobiidae). *Systematics and Biodiversity* **11**, 345–361.
- Tornabene, L., Van Tassell, J. L., Gilmore, R. G., Robertson, D. R., Young, F. & Baldwin, C. C. (2016a) Molecular Phylogeny, Analysis of Character Evolution, and Submersible Collections Enable a New Classification of a Diverse Group of Gobies (Teleostei: Gobiidae: Nes Subgroup), Including Nine New Species and Four New Genera. *Zoological Journal of the Linnean Society* **177**, 764–812.

Tornabene, L., Van Tassell, J. L., Robertson, D. R. & Baldwin, C. C. (2016b) Repeated Invasions into the Twilight Zone: Evolutionary Origins of a Novel Assemblage of Fishes from Deep Caribbean Reefs. *Molecular Ecology* **25**, 3662–3682.

Wirtz, P., Bingeman, J., Bingeman, J., Fricke, R., Hook, T. J. & Young, J. (2017) The Fishes of Ascension Island, Central Atlantic Ocean-New Records and an Annotated Checklist. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **97**, 783–798.

Mora, C. (2015) In *Ecology of Fishes on Coral Reefs* (Mora, C., ed) Cambridge University Press, Cambridge.

APÊNDICE I

Tabela 1: Amostras usadas para as análises filogenéticas. As amostras não publicadas e provenientes de coleções estão identificadas pelo seu *voucher*, enquanto as amostras disponíveis em plataformas online foram identificadas por seu número de acesso. Indivíduos com todo genoma mitocondrial disponível foram utilizadas para todos os genes.

Espécie	COI	CITB	12S	ND2	Referência
<i>Priolepis dawsoni</i>	2	2	2	2	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES2813	CIUFES2813	CIUFES2813	-	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES2744	CIUFES2744	CIUFES2744	CIUFES 2744	CIUFES
<i>Priolepis ascensionis</i>	-	DRR2052	-	-	Smithsonian Institute ⁽¹⁾
<i>Priolepis ascensionis</i>	-	DRR2053	-	-	Smithsonian Institute ⁽¹⁾
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA2386-12	-	-	-	Smithsonian Institute ⁽²⁾
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA3186-12	-	-	-	Smithsonian Institute ⁽²⁾
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1885-12	-	-	-	Smithsonian Institute ⁽²⁾
<i>Priolepis hipoliti</i>	46	46	-	-	CIUFES
<i>Priolepis hipoliti</i>	-	JX024765	JX024857	JX024780	Maxfield, 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	TOBA147-09	-	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis hipoliti</i>	BAHA043-08	-	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA305-09	-	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM966-07	-	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis inhaca</i>	LIFS493	-	-	-	Steinke et al., não publicado
<i>Priolepis inhaca</i>	MBFA378-07	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Priolepis cincta</i>	JOD189	-	-	-	Al-Rshaidat et al., 2016
<i>Priolepis cincta</i>	SBF391	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Priolepis cincta</i>	RESIC695	-	-	-	
<i>Priolepis squamogena</i>	MBFA358	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Priolepis semidoliata</i>	MBFA157	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Priolepis compita</i>	MBFA097	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Priolepis ailina</i>	MBFA814-07	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Priolepis triops</i>	MBFA897-07	-	-	-	Hubert et al., 2012
<i>Trimma benjamini</i>	RWTRM025-09	JX024764	JX024856	JX024779	Maxfield, 2012
<i>Trimma flammeum</i>	HQ909500	-	-	HQ909597	Thacker et al, 2011
<i>Lythrypnus zebra</i>	-	JX024777	JX024884	JX024804	Maxfield et al 2012
<i>Lythrypnus zebra</i>	ANGBF1231-12	-	-	-	
<i>Lythrypnus brasiliensis</i>	-	JX024771	JX024873	JX024793	Maxfield et al, 2012
<i>Lythrypnus dalli</i>	HQ909475	-	-	HQ909578	Thacker et al, 2011
<i>Lophogobius cyprinoides</i>	-	KF415606	KF415410	-	Agorreta, 2013
<i>Bathogobius cocosensis</i>		MG704838	Genoma completo		Evans
<i>Asterropteryx semipunctata</i>	-	KF415506	KF415309	-	Agorreta et al, 2013
<i>Asterropteryx semipunctata</i>	AF391377	-	-	AF391521	Thacker, 2001
<i>Nemateleotris decora</i>		NC_029744	Genoma completo		Wang et al, 2015

<i>Siphamia tubulata</i>	AB890105	-	AB889672	-	Miya e Sado, 2015
<i>Fowleria aurita</i>	EU381028	EU380973		EU381008	Thacker, 2009
<i>Archamia fucata</i>	EU381022	EU380959		EU381002	Thacker, 2009
<i>Pristiapogon exostigma</i>	EU381026	EU380960		EU381006	Thacker, 2009
<i>Apogon semilineatus</i>		NC_022510	Genoma completo		Miya et al, 2013
<i>Mugilogobius myxodermus</i>		NC_036070	Genoma completo		Cai et al, 2017
<i>Scartelaos histophorus</i>		JQ654459	Genoma completo		Quan et al., 2012
<i>Stiphodon alcedo</i>		NC_018054	Genoma completo		Maeda et al, 2011
<i>Acanthogobius hasta</i>		AY486321	Genoma completo		Dong et al., 2014
<i>Bostrychus sinensis</i>		NC_017880	Genoma completo		Xu et al., não publicado
<i>Butis butis</i>	AY722180			AY722377	Thacker, 2005
<i>Butis butis</i>		KF415524	KF415325		Agorreta et al. 2013
<i>Eleotris picta</i>		NC_036226	Genoma completo		Alda não publicado
<i>Mogurnda adspersa</i>		NC_024058	Genoma completo		Perini et al., 2014
<i>Odontobutis potamophila</i>		KF874495	Genoma completo		Li et al., não publicado
<i>Gazza minuta</i>		NC_026232	Genoma completo		Miya, 2007
<i>Kurtus gulliveri</i>		NC_022477	Genoma completo		Miya, 2013

(1) Doação do DNA extraído; (2) Doação da sequência genética

Tabela 2: Amostras para as análises de filogeografia e demografia. Apenas espécimes de *Priolepis dawsoni* possuem registros sobre as profundidades de coleta. A identificação de cada indivíduo (ID) representa o seu número de registro (*voucher*) na coleção (para o CIUFES e Smithsonian) ou no sistema *Barcode of Life e Genbank*.

Espécie	ID	Local	COI	Citb	Profund. (m)	Referência
<i>Priolepis hipoliti</i>	BAHA042-08	Bahamas	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BAHA043-08	Bahamas	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BAHA044-08	Bahamas	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BAHA045-08	Bahamas	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWA123-06	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWA160-06	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWB004-06	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWB129-06	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWB130-06	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWC345-06	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWD498-08	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWE302-08	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWE350-08	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	BZLWE395-08	Belize	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA056-09	Curaçao	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA057-09	Curaçao	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA058-09	Curaçao	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA305-09	Curaçao	x	-	-	Weigt et al., 2012

<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA306-09	Curaçao	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	CURA347-09	Curaçao	x	-	-	Weigt et al., 2012
<i>Priolepis hipoliti</i>	GBGCA1925-13	-	x	-	-	Thacker et al., 2011
<i>Priolepis hipoliti</i>	GBGCA1926-13	-	x	-	-	Thacker et al., 2011
<i>Priolepis hipoliti</i>	GBGCA4598-13	-	x	-	-	Thacker et al., 2011
<i>Priolepis hipoliti</i>	CIUFES 3106 - 46	Venezuela	x	x	-	CIUFES
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM644-07	Belize	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM858-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM859-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM860-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM868-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM957-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM958-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM959-07	Panamá	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM966-07	Belize	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM967-07	Belize	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM968-07	Belize	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM365-07	Belize	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDM705-11	Dominica	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	LIDMA842-11	Dominica	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis hipoliti</i>	MXIV161-10	México	x	-	-	El Colegio de la Frontera Sul (ECOSUR)
<i>Priolepis hipoliti</i>	TOBA147-09	Trinidad e Tobago	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis hipoliti</i>	TOBA148-09	Trinidad e Tobago	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis hipoliti</i>	TOBA149-09	Trinidad e Tobago	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis hipoliti</i>	TOBA334-09	Trinidad e Tobago	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis dawsoni</i>	TOBA335-09	Trinidad e Tobago	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis dawsoni</i>	LIDMA719	Dominica	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis dawsoni</i>	LIDM298-07	FN	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis dawsoni</i>	LIDM108-07	FN	x	-	-	Research Collection of Benjamin Victor
<i>Priolepis dawsoni</i>	não tombado – 1	ES	x	x	10	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	não tombado – 2	ES	x	x	10	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2356 – 3	ES	x	x	15	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2734 – 4	AR	x	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2744 – 5	AR	x	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2744 – 6	AR	x	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2744 – 7	AR	x	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2744 – 8	AR	x	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2744 – 9	AR	-	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2744 – 10	AR	-	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2802 – 12	AR	-	x	1	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2813 – 14	RN	x	x	-	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2813 – 17	RN	x	-	-	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2813 – 19	RN	x	-	-	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2523 – 20	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2500 – 21	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2545 - 22	FN	x	x	15-30	CIUFES

<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2545 – 23	FN	-	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2545 – 25	FN	-	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2545 – 28	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2545 – 29	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2545 – 30	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2559 – 34	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2559 – 35	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2527 – 36	FN	x	-	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2527 - 37	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2541 – 38	FN	x	x	15-30	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2193 – 39	JS	x	x	65	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 1573 – 41	TR	x	-	15	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 2407 – 43	ES	x	x	-	CIUFES
<i>Priolepis dawsoni</i>	CIUFES 3296 – 44	BA	-	x	10	CIUFES
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1676-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1677-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1678-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1881-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1882-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1883-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1884-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1885-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1886-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA1972-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA2386-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute
<i>Priolepis ascensionis</i>	DRRA3186-12	Ascensão	x	-	-	Smithsonian Institute

APÊNDICE II

Tabela A1: Matriz de divergência genética calculada a partir da distância-p não corrigida para o gene ND2. O nome das espécies foi abreviado pelo seu acrônimo. Os valores em verde representam as espécies do Grupo *Priolepis*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1 Pri daw																									
2 Pri hip	20,1%																								
3 Tri bem	29,2%	30,2%																							
4 Tri fla	30,4%	32,3%	20,9%																						
5 Lyt bra	34,4%	34,8%	32,6%	34,0%																					
6 Lyt dal	34,5%	33,5%	35,5%	34,5%	29,4%																				
7 Lyt zeb	35,3%	33,7%	34,3%	32,3%	24,7%	25,6%																			
8 Fow aur	33,9%	35,1%	31,2%	32,1%	35,0%	35,7%	38,7%																		
9 But but	28,4%	29,1%	27,8%	26,5%	31,8%	30,2%	31,3%	30,6%																	
10 Ast sem	26,0%	28,6%	25,8%	23,1%	32,8%	30,8%	33,5%	27,6%	24,7%																
11 Arc fuc	33,9%	35,7%	36,1%	33,9%	35,6%	34,9%	37,3%	24,9%	30,9%	29,6%															
12 Pri exo	33,9%	36,3%	33,3%	31,8%	34,0%	35,5%	34,7%	24,3%	32,2%	29,2%	23,7%														
13 Mog ads	29,4%	30,0%	27,6%	28,2%	31,4%	29,8%	33,9%	30,6%	23,2%	25,0%	33,1%	31,6%													
14 Apo sem	36,1%	36,1%	32,5%	32,1%	31,8%	34,7%	35,3%	25,2%	33,5%	31,2%	23,9%	20,9%	32,7%												
15 Sti alc	30,6%	30,8%	31,0%	29,6%	35,8%	30,6%	32,5%	30,2%	26,3%	26,6%	31,8%	32,1%	25,6%	34,1%											
16 Bos sin	27,6%	25,6%	28,2%	25,6%	32,0%	29,8%	32,7%	26,4%	21,0%	20,7%	30,0%	27,8%	21,9%	29,4%	25,4%										
17 Bat coc	33,5%	31,4%	30,0%	29,2%	31,8%	33,7%	32,3%	30,2%	29,3%	26,8%	35,1%	32,1%	32,0%	31,8%	31,4%	26,0%									
18 Ele pic	27,6%	31,4%	27,2%	27,0%	33,0%	32,0%	33,5%	28,2%	24,5%	22,3%	30,8%	28,0%	20,7%	29,8%	26,2%	20,3%	28,0%								
19 Mug mix	31,0%	32,3%	31,8%	29,0%	34,6%	31,4%	33,1%	29,0%	25,4%	25,8%	30,0%	31,0%	25,4%	32,1%	25,4%	22,1%	29,6%	25,0%							
20 Mem dec	27,2%	27,8%	26,4%	27,4%	31,0%	30,4%	33,1%	27,2%	24,9%	22,5%	30,6%	27,4%	25,2%	29,0%	26,6%	21,3%	27,0%	22,5%	25,0%						
21 Odo pot	30,0%	30,8%	30,2%	25,8%	34,4%	34,5%	35,1%	31,2%	25,8%	26,4%	32,9%	31,6%	26,0%	33,3%	30,0%	24,9%	31,8%	25,6%	27,0%	27,6%					
22 Sca his	30,4%	31,0%	31,4%	30,2%	34,4%	30,6%	34,5%	31,0%	25,4%	25,6%	33,1%	32,3%	25,6%	34,3%	26,8%	24,1%	29,0%	25,6%	23,1%	27,0%	31,6%				
23 Aca has	36,7%	39,4%	36,5%	35,9%	39,2%	38,1%	40,4%	34,9%	33,7%	34,3%	36,7%	36,7%	35,7%	36,5%	34,9%	32,5%	35,7%	35,1%	32,7%	32,1%	35,5%	33,1%			
24 Gaz min	33,7%	35,5%	34,1%	33,9%	39,0%	37,9%	37,3%	35,9%	29,1%	33,5%	36,5%	35,3%	30,6%	34,1%	33,1%	29,8%	35,9%	31,8%	29,2%	33,5%	31,2%	32,9%	36,7%		
25 Kur gul	33,1%	33,7%	28,8%	27,8%	36,0%	34,5%	32,7%	28,2%	25,8%	25,2%	33,5%	29,2%	25,6%	30,6%	29,2%	23,9%	29,4%	24,7%	24,9%	29,8%	25,8%	28,2%	35,1%	28,2%	

Tabela A2: Matriz de divergência genética calculada a partir da distância-p não corrigida para o gene 12S. O nome das espécies foi abreviado pelo seu acrônimo. Os valores em verde representam as espécies do Grupo *Priolepis*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1 Pri daw																							
2 Pri hip		3,3%																					
3 Tri bem		20,6%	20,4%																				
4 Lyt bra		21,9%	22,1%	27,6%																			
5 Lyt zeb		23,1%	22,6%	25,5%	17,8%																		
6 But but		16,9%	16,4%	23,7%	25,6%	25,0%																	
7 Ast sem		12,6%	11,2%	21,5%	23,1%	25,9%	13,6%																
8 Mog ads		15,3%	15,4%	21,8%	23,7%	24,3%	12,0%	9,6%															
9 Apo sem		19,2%	18,7%	24,8%	28,8%	27,1%	17,2%	15,6%	15,6%														
10 Sti alc		15,3%	15,4%	21,5%	24,0%	23,4%	11,1%	11,1%	10,2%	17,7%													
11 Bos sin		13,5%	13,9%	23,6%	24,9%	26,5%	10,2%	11,7%	11,7%	16,8%	12,0%												
12 Bat coc		15,7%	16,1%	24,9%	26,8%	26,9%	15,1%	13,6%	13,6%	17,5%	15,1%	16,6%											
13 Ele pic		14,7%	14,8%	22,7%	24,9%	23,7%	12,0%	10,5%	6,9%	15,9%	11,4%	11,1%	12,3%										
14 Mug mix		15,3%	15,7%	23,0%	24,9%	23,4%	14,8%	12,9%	13,2%	17,4%	8,7%	12,9%	18,1%	13,2%									
15 Mem dec		12,6%	12,4%	20,3%	24,3%	24,6%	14,2%	6,9%	10,2%	16,5%	11,1%	11,4%	13,6%	9,9%	13,5%								
16 Odo pot		18,9%	18,7%	25,5%	26,4%	27,7%	16,3%	15,3%	12,0%	20,4%	16,2%	16,2%	19,0%	13,2%	15,6%	15,9%							
17 Sca his		15,0%	14,8%	20,9%	25,2%	24,3%	9,3%	11,4%	10,8%	16,5%	5,7%	11,7%	15,4%	9,9%	9,9%	10,8%	15,3%						
18 Aca has		14,7%	16,0%	24,8%	24,0%	24,9%	13,3%	12,9%	12,9%	18,6%	12,0%	13,5%	15,4%	13,5%	11,1%	12,3%	17,1%	11,1%					
19 Sip tub		21,3%	20,7%	27,5%	26,5%	25,8%	21,3%	18,1%	21,3%	13,9%	19,9%	22,0%	21,7%	19,5%	18,1%	18,5%	25,8%	21,6%	19,9%				
20 Lop cyp		13,0%	13,1%	23,8%	23,0%	24,5%	17,9%	15,7%	16,9%	19,9%	17,5%	14,8%	16,1%	18,4%	16,6%	15,7%	21,8%	18,1%	16,9%	23,2%			
21 Gaz min		21,7%	21,2%	25,8%	28,9%	31,6%	20,8%	20,2%	17,5%	22,6%	19,9%	19,3%	20,5%	16,6%	21,4%	18,1%	17,2%	19,6%	22,6%	26,6%	23,0%		
22 Kur gul		17,8%	18,2%	24,9%	27,1%	25,0%	16,9%	15,7%	13,3%	20,5%	18,4%	17,5%	17,2%	13,3%	19,9%	16,9%	16,9%	16,9%	18,7%	26,9%	23,3%	21,8%	

Tabela A3: Matriz de divergência genética calculada a partir da distância-p não corrigida para o gene Citb. O nome das espécies foi abreviado pelo seu acrônimo. Os valores em verde representam as espécies do Grupo *Priolepis*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 Pri daw																								
2 Pri hip	15,0%																							
3 Pri asc	11,9%	13,8%																						
4 Tri bem	21,7%	23,9%	20,8%																					
5 Lyt bra	20,1%	20,8%	18,6%	24,5%																				
6 Lyt zeb	22,9%	22,9%	21,4%	23,2%	20,8%																			
7 Fow aur	20,5%	21,4%	21,4%	22,9%	23,9%	24,2%																		
8 But but	19,0%	17,4%	18,0%	23,9%	23,0%	24,2%	22,3%																	
9 Ast sem	20,2%	19,6%	20,8%	24,8%	22,3%	25,7%	20,5%	19,9%																
10 Arc fuc	22,0%	19,3%	17,7%	23,5%	23,6%	25,1%	19,0%	23,2%	21,1%															
11 Pri exo	20,5%	21,1%	19,3%	24,5%	23,9%	25,1%	16,8%	19,0%	19,9%	16,5%														
12 Mog ads	20,2%	19,0%	21,7%	22,9%	24,8%	26,3%	19,0%	20,8%	22,3%	21,4%	19,3%													
13 Apo sem	22,9%	21,7%	19,3%	24,5%	24,2%	25,7%	18,0%	21,4%	24,8%	19,0%	16,5%	21,7%												
14 Sti alc	19,6%	19,0%	18,0%	20,8%	23,6%	22,0%	19,3%	18,7%	21,1%	19,3%	18,0%	20,8%	20,5%											
15 Bos sin	19,0%	17,4%	17,4%	21,7%	23,3%	23,9%	20,8%	16,8%	19,0%	20,5%	19,6%	18,7%	23,2%	20,8%										
16 Bat coc	22,0%	19,9%	21,7%	24,8%	21,7%	24,2%	22,6%	19,3%	19,9%	20,8%	18,7%	21,7%	22,6%	19,6%	18,0%									
17 Ele pic	21,7%	19,9%	20,2%	22,6%	25,8%	25,7%	21,1%	18,3%	20,2%	19,3%	19,0%	20,8%	19,3%	18,7%	18,3%	18,3%								
18 Mug mix	16,5%	18,7%	15,3%	21,4%	21,4%	18,7%	21,1%	21,4%	18,3%	20,8%	22,6%	20,5%	23,5%	17,7%	18,3%	22,3%	19,6%							
19 Nem dec	20,2%	20,2%	19,0%	22,0%	22,6%	23,5%	18,3%	20,2%	20,5%	21,1%	17,1%	22,3%	21,4%	18,3%	22,0%	17,4%	19,6%	21,7%						
20 Odo pot	21,7%	23,2%	22,9%	23,9%	25,2%	28,1%	23,5%	20,2%	22,0%	22,3%	21,7%	21,1%	24,5%	21,1%	20,5%	24,8%	22,3%	22,0%	21,4%					
21 Sca his	19,6%	20,8%	17,7%	20,5%	21,7%	21,1%	21,1%	19,3%	22,9%	20,5%	20,2%	21,7%	19,6%	19,3%	19,6%	19,0%	22,0%	17,7%	19,9%	23,2%				
22 Aca has	20,8%	19,3%	17,1%	19,3%	24,8%	22,6%	20,8%	18,7%	17,7%	19,3%	19,9%	18,7%	22,0%	19,9%	18,7%	21,1%	21,1%	18,7%	19,9%	23,5%	20,8%			
23 Lop cyp	19,9%	20,2%	17,4%	21,4%	21,1%	21,4%	19,6%	19,3%	22,6%	20,8%	20,5%	20,2%	20,5%	19,0%	17,1%	19,6%	19,9%	19,0%	22,0%	22,0%	19,0%	21,4%		
24 Gaz min	23,9%	22,0%	22,6%	24,2%	24,5%	25,4%	21,7%	22,6%	22,3%	22,3%	24,5%	22,9%	23,2%	21,1%	19,0%	23,2%	23,9%	22,3%	22,6%	20,5%	22,6%	20,8%	23,2%	
25 Kur gul	18,7%	19,9%	18,0%	22,0%	21,4%	23,5%	17,7%	18,0%	21,1%	19,6%	20,5%	20,2%	19,9%	22,0%	16,5%	22,6%	22,3%	19,6%	21,1%	21,1%	20,2%	21,7%	17,1%	21,1%

Tabela A4: Matriz de divergência genética calculada a partir da distância-p não corrigida para o gene COI utilizando apenas espécies do Grupo *Priolepis*. O nome das espécies foi abreviado pelo seu acrônimo. Os valores destacados representam as distâncias intraespecíficas das espécies do Atlântico.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
1 Pri daw	0,7%																							
2 Pri hip	15,6%	0,6%																						
3 Pri asc	7,9%	15,0%	0,2%																					
4 Pri inh	16,1%	17,3%	14,1%																					
5 Pri cin	17,0%	17,0%	15,6%	16,3%																				
6 Pri com	20,3%	20,6%	18,7%	18,2%	18,3%																			
7 Pri sem	20,2%	18,7%	17,9%	17,6%	18,7%	13,7%																		
8 Pri squ	17,1%	16,3%	15,7%	17,9%	12,4%	18,1%	18,7%																	
9 Pri tri	17,3%	19,6%	16,5%	16,9%	15,5%	16,5%	19,9%	16,1%																
10 Pri ail	17,7%	18,0%	17,5%	19,7%	16,9%	18,3%	17,9%	17,7%	17,7%															
11 p_acnat	21,7%	20,9%	19,9%	20,9%	21,2%	19,3%	20,1%	19,7%	21,7%	19,3%														
12 Tri cae	22,0%	21,5%	21,4%	22,3%	20,1%	20,7%	20,3%	19,7%	21,1%	19,3%	19,1%													
13 Tri bem	18,5%	23,2%	17,9%	19,0%	19,9%	18,5%	19,5%	19,1%	17,1%	19,9%	20,9%	20,9%												
14 Tri fla	22,1%	21,8%	23,1%	22,6%	21,4%	19,7%	21,9%	20,1%	21,3%	19,5%	20,7%	21,5%	18,9%											
15 Tri cau	23,3%	24,4%	22,8%	23,2%	22,8%	22,5%	23,9%	20,7%	23,9%	22,4%	24,5%	23,3%	19,7%	21,9%										
16 Tri gra	22,2%	21,8%	20,9%	24,0%	22,2%	20,7%	20,9%	20,9%	21,9%	22,0%	17,9%	19,7%	22,1%	20,5%	25,4%									
17 Tri tay	18,7%	21,3%	16,9%	19,1%	21,1%	21,5%	21,3%	18,9%	20,7%	19,3%	19,9%	21,1%	20,9%	20,9%	22,3%	22,7%								
18 Tri hav	22,3%	21,8%	21,9%	20,5%	21,5%	19,7%	20,5%	21,5%	19,7%	18,7%	21,5%	21,1%	16,9%	15,7%	21,9%	23,5%	20,5%							
19 T. sp.	19,8%	18,8%	19,1%	19,4%	20,6%	18,9%	18,3%	18,9%	19,1%	21,6%	22,5%	21,9%	16,3%	16,3%	21,3%	20,7%	18,9%	14,3%						
20 Lyt zeb	22,6%	22,8%	24,6%	23,0%	22,9%	22,3%	23,1%	23,3%	23,9%	25,9%	24,9%	25,1%	24,7%	23,9%	27,1%	24,1%	26,1%	22,1%	22,1%					
21 Lyt dal	22,9%	22,7%	21,8%	22,3%	22,4%	23,5%	24,5%	22,5%	24,7%	23,2%	23,9%	21,9%	25,7%	21,9%	26,5%	22,3%	23,9%	22,9%	22,9%	19,7%				
22 Lyt sp.	22,5%	22,2%	20,1%	21,6%	21,4%	20,7%	22,3%	21,7%	21,1%	23,0%	22,9%	22,5%	21,9%	24,1%	25,5%	22,7%	23,3%	20,9%	21,9%	20,3%	20,7%			
23 Lyt nes	25,0%	24,7%	22,1%	23,3%	22,8%	21,5%	22,7%	21,5%	23,3%	23,2%	22,7%	23,3%	22,3%	24,9%	27,1%	22,3%	23,5%	22,5%	21,5%	23,7%	22,3%	18,5%		
24 Lyt sp. blz	22,2%	23,2%	20,6%	21,7%	22,1%	21,0%	22,6%	21,0%	21,0%	22,8%	22,7%	22,3%	22,5%	23,6%	26,0%	22,2%	23,0%	21,3%	22,0%	21,2%	20,4%	5,7%	17,8%	

Tabela A5: Matriz de divergência genética calculada a partir da distância-p não corrigida para o gene COI utilizando apenas espécies do gênero *Priolepis*. O nome das espécies foi abreviado pelo seu acrônimo.

N	1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

36	Nem dec	0,21	0,21	0,21	0,22	0,21	0,22	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,20	0,21	0,22	0,23	0,19	0,20	0,23	0,23	0,26	0,26	0,24	0,25	0,25	0,26	0,24	0,21	0,22	0,20	0,24	0,23	0,22	0,22	0,19	0,22								
37	Mog ads	0,21	0,20	0,21	0,23	0,20	0,20	0,19	0,20	0,17	0,20	0,16	0,20	0,21	0,22	0,18	0,20	0,22	0,21	0,25	0,25	0,23	0,24	0,23	0,23	0,23	0,20	0,18	0,20	0,23	0,20	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19								
38	Apo sem	0,22	0,25	0,21	0,22	0,21	0,21	0,23	0,21	0,20	0,20	0,21	0,19	0,20	0,21	0,24	0,20	0,22	0,22	0,22	0,24	0,22	0,24	0,23	0,24	0,24	0,23	0,20	0,22	0,21	0,22	0,22	0,21	0,17	0,21	0,21	0,20	0,21						
39	Sti ale	0,22	0,22	0,21	0,21	0,21	0,21	0,20	0,21	0,19	0,18	0,19	0,20	0,19	0,20	0,23	0,19	0,20	0,23	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,19	0,21	0,21	0,21	0,22	0,18	0,18	0,17	0,20	0,19	0,18	0,18					
40	Bos sin	0,20	0,23	0,20	0,22	0,21	0,20	0,22	0,23	0,19	0,21	0,21	0,19	0,20	0,20	0,23	0,19	0,22	0,22	0,21	0,26	0,21	0,23	0,26	0,23	0,24	0,25	0,19	0,21	0,20	0,23	0,20	0,21	0,20	0,18	0,20	0,19	0,20	0,20	0,19				
41	Bat coc	0,22	0,23	0,22	0,22	0,22	0,21	0,21	0,20	0,20	0,20	0,19	0,19	0,22	0,21	0,23	0,18	0,18	0,20	0,20	0,26	0,22	0,22	0,24	0,22	0,22	0,21	0,19	0,21	0,18	0,22	0,23	0,19	0,20	0,19	0,20	0,17	0,20	0,20	0,17	0,20			
42	Sca his	0,19	0,18	0,18	0,19	0,19	0,21	0,19	0,19	0,19	0,20	0,21	0,17	0,20	0,21	0,23	0,19	0,20	0,22	0,19	0,24	0,23	0,23	0,24	0,23	0,24	0,23	0,21	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,19	0,19	0,18	0,20	0,16	0,20	0,16	0,19	0,19		
43	Odo pot	0,20	0,23	0,21	0,23	0,20	0,21	0,22	0,19	0,20	0,20	0,21	0,18	0,21	0,21	0,23	0,22	0,22	0,22	0,22	0,27	0,24	0,23	0,23	0,23	0,24	0,23	0,23	0,18	0,23	0,21	0,19	0,22	0,20	0,19	0,21	0,22	0,18	0,21	0,20	0,20	0,21	0,20	
44	Are fuc	0,23	0,23	0,23	0,23	0,21	0,20	0,22	0,20	0,19	0,21	0,20	0,19	0,19	0,22	0,23	0,18	0,23	0,22	0,21	0,24	0,21	0,23	0,24	0,23	0,24	0,22	0,20	0,20	0,18	0,23	0,19	0,20	0,16	0,19	0,20	0,21	0,19	0,14	0,19	0,18	0,19	0,19	0,21

APÊNDICE III

Tabela A1: Variação genética, obtida pelo índice Fst, entre as possíveis populações de *Priolepis dawsoni* para o gene Citb.

	ES	AR	RN	FN	JS	BA
Citb	ES	0.000				
	AR	0.011	0.000			
	RN	0.022	0.000	0.000		
	FN	0.011	0.000	0.000	0.000	
	JS	0.022	0.000	1.000	0.000	0.000
	BA	0.022	0.000	1.000	0.000	1.000

Tabela A2: Variação genética entre grupos ϕ_{ct} , dentro dos grupos ϕ_{st} , entre populações dentro dos grupos ϕ_{sc} obtidas para os genes COI e Citb na Análise de Variância Molecular (AMOVA). A composição dos grupos para o gene Citb foi escolhida considerando testar o fluxo gênico entre: 1) regiões norte vs regiões sul, 2) ilhas vs costa, 3) Haplogrupo I vs II identificados na filogenia e rede haplotípica, e 4) entre cada localidade. Para o gene COI testamos a estruturação entre 1) Caribe vs Brasil e 2) Caribe vs CVT vs demais localidades.

	Grupo	Composição dos grupos	ϕ_{ct}	ϕ_{sc}	ϕ_{st}
CITB	1	ES+BA+RN/AR+FN	2,246	9,658	79,158
	2	ES+BA/AR+FN+RN	3,781	8,123	79,158
	3	ES1+FN1+AR1/ES2+FN2+AR2+BA2	28,879	7,148	18,5
	4	ES/AR/FN/BA/RN	0,75	-	99,25
COI	1	CAR/ES+FN+AR+RN+BA+CVT	4,59	-1,14	96,55
	2	CAR/ES+RN+FN+AR/CVT	2,98	-2,21	99,23

ES: Espírito Santo; JS: monte submarino Jaseur (CVT); CVT: monte submarino Jaseur + Ilha da Trindade; BA: Bahia; RN: Rio Grande do Norte; AR: Atol das Rocas; FN: Fernando de Noronha

