



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Anna Luiza dos Santos Donato

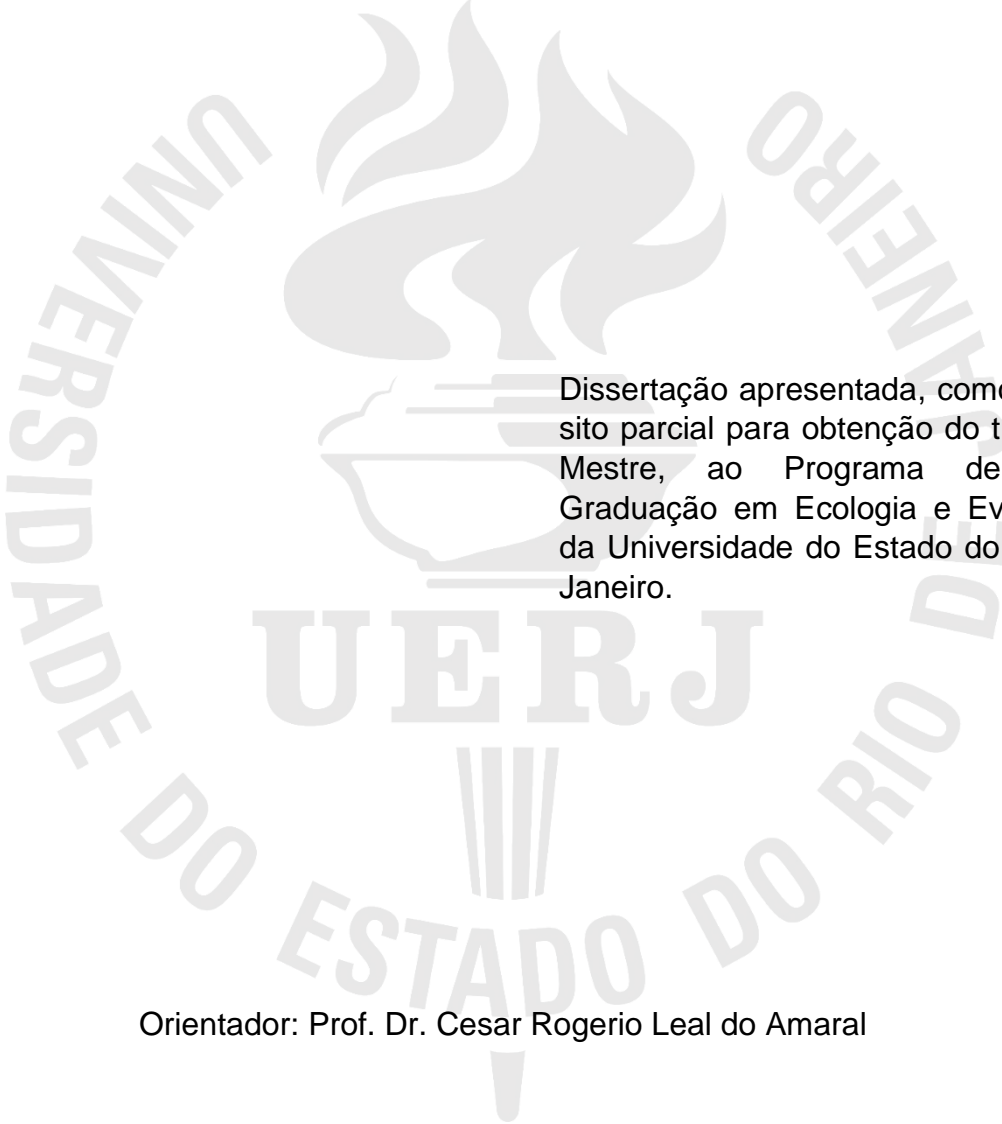
**Filogeografia da baleia-bicuda-de-Cuvier, *Ziphius cavirostris*
(Odontoceti: Ziphiidae)**

Rio de Janeiro

2022

Anna Luiza dos Santos Donato

Filogeografia da baleia-bicuda-de-Cuvier, *Ziphius cavirostris* (Odontoceti: Ziphiidae)



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Rogerio Leal do Amaral

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CTC/A

D677 Donato, Anna Luiza dos Santos.
Filogeografia da baleia-bicuda-de-Cuvier, *Ziphius cavirostris* (Odon-
toceti: Ziphiidae)/ Anna Luiza dos Santos Donato. – 2022.
85 f.: il.

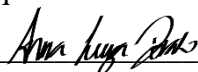
Orientador: Cesar Rogerio Leal do Amaral
Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade do
Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Go-
mes.

1. Baleias - Distribuição geográfica - Teses. 2. Cetáceos - Teses. I.
Amaral, Cesar Rogerio Leal do. II. Universidade do Estado do Rio de
Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 595.5

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 - Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta disser-
tação, desde que citada a fonte.



Assinatura

27/09/2022

Data

Anna Luiza dos Santos Donato

Filogeografia da baleia-bicuda-de-Cuvier, *Ziphius cavirostris* (Odontoceti: Ziphiidae)

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Aprovada em 25 de julho de 2022.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cesar Rogerio Leal do Amaral (Orientador)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Rosana Mazzoni Buchas
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Dr. Salvatore Siciliano
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Prof.^a Dra. Beatriz Grosso Fleury
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Dr. Harrison Magdinier Gomes
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Lourdes e Giuseppe.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Lourdes e Giuseppe, por todo apoio e carinho. Obrigada por acreditarem em mim e por me incentivarem a trilhar meu próprio caminho.

Ao Pr. Dr. Cesar R. L. Amaral pela orientação, não apenas nesses últimos dois anos, mas antes mesmo do ingresso no mestrado. Agradeço por todas as oportunidades e por aceitar esse desafio.

Ao Dr. Salvatore Siciliano, mais uma vez pela colaboração e pelas oportunidades oferecidas.

A todos do LDD-UERJ, em especial à Profa. Dra. Dayse A. Silva, pela colaboração nas etapas laboratoriais.

A todos do LARAMG-UERJ por me acolherem e pela convivência e disponibilidade nesses últimos meses.

A todos os amigos que encontrei e reencontrei ao longo dessa etapa, por comemorar comigo cada etapa concluída.

À Aquasis, pela disponibilização dos materiais utilizados nas análises.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado.

Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

DONATO, A. L. S. *Filogeografia da baleia-bicuda-de-Cuvier, Ziphius cavirostris (Odontoceti: Ziphiidae)*. 2022. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

A baleia-bicuda-de-Cuvier, *Ziphius cavirostris*, é a espécie de Ziphiidae mais estudada, principalmente devido a sua extensa distribuição. É conhecida como o cetáceo que mergulha a maiores profundidades pelo maior período de tempo, e por enalhes associados a exposição a exercícios militares e sonares de média frequência. Grande parte dos estudos realizados está relacionada a compreender os mecanismos por trás desse comportamento e os impactos antropogênicos na espécie. Ainda há poucas informações quando a sua diversidade genética. As informações disponíveis são conflitantes e sugerem novos estudos para confirmar as hipóteses levantadas. No Brasil, apesar do significativo número de enalhes, os estudos realizados se limitam a descrever os indivíduos encontrados. Nenhuma análise populacional foi realizada e não há nenhum dado sobre diversidade regional da espécie. O presente estudo obteve as primeiras sequências da região controle do DNA mitocondrial da espécie no Brasil e realiza a análise populacional mais abrangente até então, incluindo sequências novas e previamente publicadas das regiões do Atlântico Norte, Pacífico Norte e Indo-Pacífico. As novas sequências brasileiras, apesar de geograficamente mais próximas do Atlântico Norte, compartilham haplótipos mais frequentes no Hemisfério Sul. Ao contrário do observado anteriormente, a maior diversidade genética foi observada dentro das bacias oceânicas (55,35 %; $F_{ST} = 0,44648$) e nenhum grupo de haplótipos foi observado. Apesar de análises par-a-par indicarem significativa diferenciação entre as bacias oceânicas, o número de sequências disponíveis para os Oceanos Atlântico Sul e Índico são muito reduzidos e não nos permitem chegar a conclusões quanto a estruturação populacional da espécie.

Palavras-chave: Ziphiidae. Cetáceos. Filogeografia. Diversidade.

ABSTRACT

DONATO, A. L. S. *Phylogeography of the Cuvier's beaked whale *Ziphius cavirostris* (Odontoceti: Ziphiidae)*. 2022. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Cuvier's beaked whale, *Ziphius cavirostris*, is the best known and most studied Ziphiidae species, mainly due to its extensive distribution. The species is known as the cetacean that dives to greatest depths for the longest time, and for mass strandings associated with exposure to military exercises and medium-frequency sonar. Most studies involve understanding the mechanisms behind this behavior and the anthropogenic impacts on the species. There is still little information about its genetic diversity. Available information is conflicting and suggests new studies to confirm the hypotheses raised. In Brazil, despite the significant number of strandings, the studies carried out are limited to stranding reports. No population analysis was performed and there is no data on regional diversity of the species. The present study obtained the first sequences of the mitochondrial DNA control region for the species in Brazil and performs the most comprehensive population analysis to date, including new and previously published sequences from the North Atlantic, North Pacific and Indo-Pacific regions. The new Brazilian sequences, despite being geographically closer to the North Atlantic, share the haplotype that is most frequently found in the Southern Hemisphere. Contrary to what was previously observed, greatest genetic diversity occurs within ocean basins (55,35 %; $F_{ST} = 0,44648$) and no haplotype groups were observed in the phylogenetic reconstructions. Although pairwise analyzes indicate a significant differentiation between ocean basins, sequences available for the South Atlantic and Indian Oceans are still limited and do not allow us to reach further conclusions regarding the species population structure.

Keyword: Ziphiidae. Cetacean. Phylogeography. Diversity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Filogenia de Ungulata, com base em análises moleculares.....	18
Figura 2 - Representação filogenética da evolução dos cetáceos fósseis e recentes.....	19
Figura 3 - Reconstrução filogenética de Cetacea com base na análise concatenada de marcadores nucleares.....	23
Figura 4 - Exemplos de baleias-bicudas (Ziphiidae) em seu ambiente natural.....	25
Figura 5 - Variação morfológica da dentição encontrada em Ziphiidae (gênero <i>Mesoplodon</i>).....	26
Figura 6 - Crânios de <i>Ziphius cavirostris</i> , onde é possível observar a cavidade característica dos machos da espécie (direita).....	29
Figura 7 - Ilustração de <i>Ziphius cavirostris</i> por Uko Gorter.....	30
Figura 8 - Dimorfismo sexual observado na dentição de adultos de <i>Ziphius cavirostris</i>	33
Figura 9 - Mapa de ocorrência de <i>Ziphius cavirostris</i> (pontos em vermelho), com base nos dados do GBIF, e distribuição atual da espécie (em verde).....	37
Figura 10 - Mapa dos encalhes de <i>Ziphius cavirostris</i> entre 1948 e 2020.....	49
Figura 11 - Exemplo de gel de agarose 1,5 % mostrando o resultado das amplificações das regiões analisadas no presente estudo (neste exemplo D-loop).....	51
Figura 12 - Eletroferograma de exemplo da qualidade de sequenciamento obtido para o citocromo b (CytB) de <i>Ziphius cavirostris</i>	59
Figura 13 - Árvore de Máxima Verossimilhança (GTR+G+I) com base no CytB da Família Ziphiidae.....	60
Figura 14 - Eletroferograma de exemplo da qualidade de sequenciamento obtido para a região controle (D-loop) de <i>Ziphius cavirostris</i>	61

Figura 15 - Rede de haplótipos Median-Joining com base na região controle do DNA mitocondrial de <i>Ziphius cavirostris</i>	63
Figura 16 - Árvore de Máxima Verossimilhança (GTR+G+I) baseada na região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial.....	64
Figura 17 - Árvore bayesiana baseada na região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Encalhes de <i>Ziphius cavirostris</i> na costa brasileira no período entre 1948 e 2020.....	40
Tabela 2 -	Espécimes de <i>Ziphius</i> encontrados em praias do Ceará, Brasil...	48
Tabela 3 -	Primers utilizados para a amplificação das regiões D-loop e CytB.....	50
Tabela 4 -	Condições termocíclicas utilizadas nas reações de amplificação do D-loop.....	50
Tabela 5 -	Condições termocíclicas utilizadas nas reações de amplificação do CytB.....	50
Tabela 6 -	Condições termocíclicas utilizadas na reação de purificação dos produtos de PCR.....	51
Tabela 7 -	Condições termocíclicas utilizadas na reação de sequenciamento do D-loop e CytB.....	51
Tabela 8 -	Número de acesso e referência das sequências de CytB disponíveis no Genbank utilizadas para identificação dos exemplares analisados.....	52
Tabela 9 -	Número de acesso e referência das sequências disponíveis no Genbank utilizadas na análise da região controle (D-loop) do DNA mitocondrial.	56
Tabela 10 -	Agrupamento das sequências por regiões. As sequências foram separadas de acordo com o local de encalhe dos indivíduos.....	57
Tabela 11 -	Resultado da AMOVA. Agrupamentos realizados de acordo com DALEBOUT <i>et al.</i> (2005).....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMOVA	Análise de Variância Molecular (Analysis of Molecular Variance)
IB	Inferência Bayesiana
bp	Pares de base (base pair)
CytB	Citocromo b
COI	Citocromo c oxidase subunidade 1
dB	decibéis
D-loop	Displacement loop/Região controle do DNA mitocondrial
DNA	Ácido desoxirribonucleico (deoxyribonucleic acid)
F _{ST}	Índice de fixação
GBIF	Global Biodiversity Information Facility
GTR+G+I	General Time Reversible, com distribuição gama e taxa de sítios invariáveis
IUCN	International Union for Conservation of Nature
MCMC	Monte Carlo via Cadeias de Markov (Monte Carlo Markov Chains)
ML	Máxima Verossimilhança
mtDNA	DNA mitocondrial
N ₂	Gás nitrogênio
PCR	Reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	15
1 Revisão bibliográfica.....	15
1.1 Mamíferos marinhos e os Cetacea.....	15
1.2 Cetáceos modernos: Odontoceti e Mysticeti.....	21
1.3 As baleias-bicudas da família Ziphiidae.....	24
1.4 <i>Ziphius cavirostris</i> , a baleia-bicuda-de-Cuvier.....	28
1.5 Características gerais de <i>Ziphius cavirostris</i>	29
1.6 Distribuição geográfica de <i>Ziphius cavirostris</i>	36
1.7 Encalhes em massa e as ameaças atuais à espécie.....	37
1.8 Encalhes de baleias bicudas na costa brasileira.....	39
1.9 Diversidade genética de <i>Ziphius cavirostris</i>	44
2 OBJETIVOS.....	47
2.1 Objetivo geral.....	47
2.2 Objetivos específicos.....	47
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.1 Material utilizado.....	48
3.2 Extração, amplificação e sequenciamento do DNA.....	49
3.3 Identificação molecular com base no citocromo b (CytB).....	52
3.4 Análises de estruturação genética com base na região controle (D-loop) do DNA mitocondrial.....	55
3.5 Reconstrução filogenética.....	58
4 RESULTADOS.....	59
4.1 Identificação dos espécimes brasileiros com base no citocromo b (CytB).....	59
4.2 Estruturação genética com base na região controle (D-loop) do DNA mitocondrial.....	60
4.3 Reconstrução filogenética.....	63
5 DISCUSSÃO.....	66
CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS.....	76

INTRODUÇÃO

1 Revisão Bibliográfica

1.1 Mamíferos marinhos e os Cetacea

Mamíferos marinhos são mamíferos adaptados ao ambiente aquático, podendo viver exclusiva ou parcialmente no meio aquático. Não são um grupo monofilético, compreendendo alguns grupos da ordem Carnivora, como os pinípedes (focas, lobos marinhos, morsas, elefantes e leões marinhos), o urso polar e lontras, os sirênios (peixe-boi e dugongo) da ordem Sirenia, e Cetacea (baleias, botos e golfinhos) (STEELE, THORPE & TUREKIAN, 2011; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Os cetáceos, junto dos sirênios, são os únicos mamíferos marinhos que passam todo o tempo debaixo d'água (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015).

Cetacea, do latim *cetus* ou *cetos* e do grego *ketos*, significando baleia, pertence a ordem Artiodactyla, que compreende os animais com número par de dedos (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; FORDYCE, 2017; CARWARDINE, 2020, PROTHERO *et al.*, 2021). Os cetáceos representam a maioria das espécies de mamíferos marinhos, além de ser o grupo mais diverso em questão da ecologia e distribuição (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; FORDYCE, 2017). Atualmente compreendem 92 espécies, das quais uma está possivelmente extinta (THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY, 2022).

O registro fóssil, apesar de limitado, indica que o grupo surgiu por volta de 53-54 milhões de anos atrás (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; FORDYCE, 2017). Os cetáceos modernos são divididos em dois grandes grupos: Mysticeti, conhecidos como baleias de barbatanas, e os Odontoceti, as baleias dentadas, cujas características em comum consistem em corpo fusiforme e hidrodinâmico, nadadeiras peitorais achatadas, com função de direcionar e estabilizar a natação, ausência de ossos na nadadeira caudal, cuja orientação horizontal tem a função de propulsão, nadadeira dorsal para auxiliar na estabilização (com perda secundária em algumas espécies) e presença de membros posteriores vestigiais (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; CARWARDINE, 2020). Além disso, as espécies desse grupo apresentam o crânio alongado, possivelmente associado ao processo de alimentação e à localização dos órgãos sensoriais, orifício respiratório do topo da cabeça, espessa camada

de tecido adiposo subcutâneo para isolamento térmico, perda de pelos no corpo (ou pelos rudimentares ao redor da boca ou do orifício respiratório), e internalização dos órgãos reprodutivos (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; CARWARDINE, 2020).

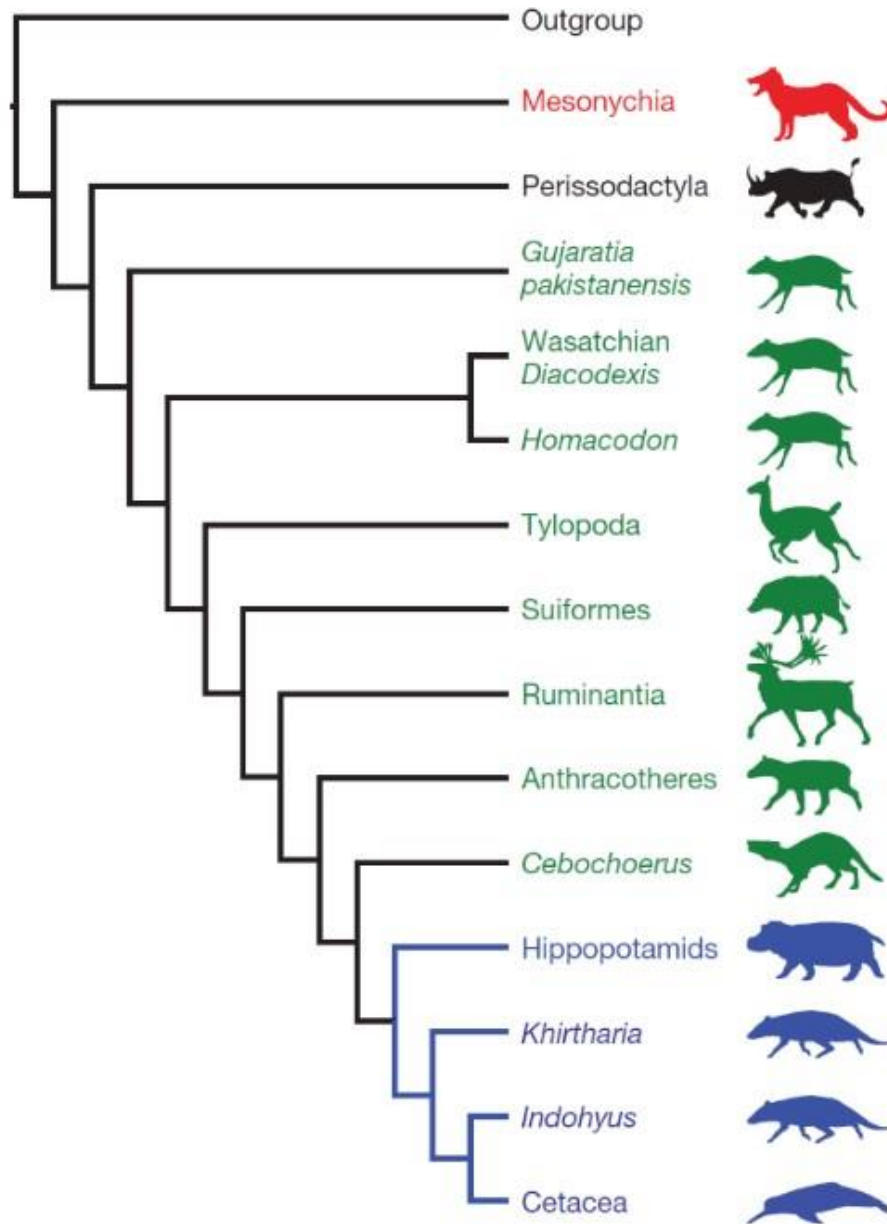
Os cetáceos foram considerados como peixes por Linnaeus nas primeiras versões do seu livro *Systema Naturae* (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Suas características, no entanto, eram mais correspondentes com as de mamíferos do que com as de peixes (FLOWER, 1883). Começou-se então a questionar se esse grupo teria originado de um ancestral terrestre ou de um ancestral aquático, que por sua vez teria dado origem a todos os mamíferos (FLOWER, 1883).

Características como os pelos rudimentares e sistema olfatório rudimentar em Mysticeti, similar aos dos mamíferos terrestres, sugerem origem terrestres para os cetáceos (FLOWER, 1883). De início, naturalistas acreditavam que os cetáceos seriam um passo evolutivo posterior aos leões-marinhos, pertencendo a ordem Carnivora (FLOWER, 1883). Entretanto, comparações entre a forma e os membros envolvidos no processo de locomoção dos leões marinhos e dos cetáceos levou pesquisadores a refutarem essa hipótese (FLOWER, 1883). Foi proposto, então que Cetacea seria derivado dos Ungulados, animais de casco, evidenciado em análises moleculares (IRWIN & ÁRNASON, 1994) e morfológicas, com base em características dos dentes e do crânio compartilhadas entre os dois grupos, além de semelhanças entre a laringe, estômago, órgãos reprodutivos e da membrana placentária (FLOWER, 1883; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; FORDYCE, 2017). Análises moleculares indicavam Cetacea como um grupo dentro do clado parafilético Artiodactyla (IRWIN & ÁRNASON, 1994; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Faltavam, entretanto, importantes evidências morfológicas para corroborar essa relação, em particular uma sinapomorfia do tornozelo de Artiodactyla, que confere às espécies a capacidade de uma rápida locomoção (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Essas evidências foram encontradas ao analisar um fóssil ancestral de cetáceos (do gênero extinto *Indohyus*) encontrado no Paquistão, confirmando a proximidade de Cetacea e Artiodactyla (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015).

Análises filogenéticas baseadas em dados morfológicos indicavam Mesonychia, um grupo basal extinto de ungulados, como grupo irmão de Cetacea (SZALAY, 1969), enquanto análises moleculares indicavam que os cetáceos eram mais próximos dos Hippopotamidae (IRWIN & ÁRNASON, 1994; THEWISSEN *et al.*, 2001; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Ao observar o registro fóssil, a proximi-

dade de cetáceos com os hipopótamos se torna improvável, uma vez que os primeiros cetáceos surgiram na Ásia há 50 milhões de anos, enquanto os Hippopotamidae surgiram na região por volta de 15 milhões de anos atrás (THEWISSEN *et al.*, 2007). Além disso, análises cladísticas realizadas posteriormente indicavam que cetáceos eram mais próximos da ordem Artiodactyla do que apenas de Hippopotamidae ou de Mesonychidae (THEWISSEN *et al.*, 2001). Em 2007 foi encontrado um fóssil pertencente à família de artiodáctilos Raoellidae, do médio Eoceno, e consistia dos dentes, crânio e pós-crânio do gênero *Indohyus* (THEWISSEN *et al.*, 2007). Ao adicionar este gênero na análise, este foi recuperado como grupo irmão de Cetacea, sendo os dois grupos Artiodactyla basais (THEWISSEN *et al.*, 2007). *Indohyus* e Cetacea, além de compartilharem características como a organização anteroposterior dos incisivos na mandíbula e coroa alta dos pré-molares posteriores, compartilham características na bula timpânica que antes eram consideradas sinapomorfias de Cetacea (THEWISSEN *et al.*, 2007). Novas análises moleculares após a descoberta de *Indohyus* obtiveram como resultado que, apesar de *Indohyus* ser o grupo fóssil irmão de Cetacea, Hippopotamidae, é o grupo atual mais próximo dele (Figura 1) (GEISLER & THEODOR, 2009).

Figura 1 – Filogenia de Ungulata, com base em análises moleculares.

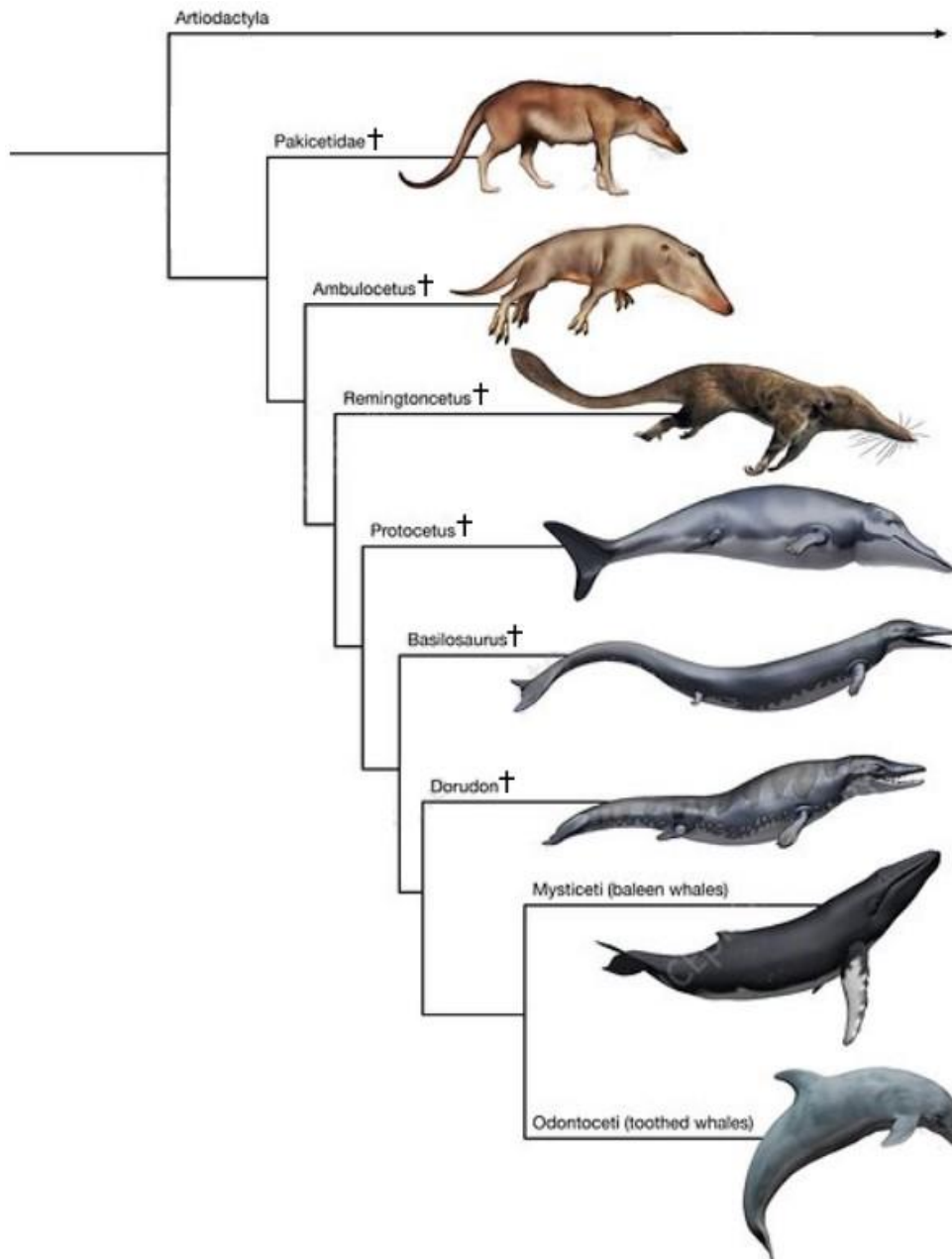


Fonte: Geisler & Theodor, 2009.

Os cetáceos basais são formados por um grupo parafilético extinto conhecido como Archaeoceti (Figura 2) (STEELE, THORPE & TUREKIAN, 2011; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). *Pakicetus*, um grupo de Pakicetidae, utilizava a água doce para a alimentação, além de apresentar características na bula timpânica que sugerem que eles eram capazes de ouvir debaixo d'água, mesmo que de forma limitada (THEWISSEN *et al.*, 2001; THEWISSEN *et al.*, 2007; FORDYCE, 2008; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Além disso, características ósseas e análise de isóto-

pos estáveis sugerem um habitat aquático para esse grupo, caminhando no fundo como os hipopótamos (THEWISSEN *et al.*, 2007; THEWISSEN *et al.*, 2009).

Figura 2 – Reconstrução filogenética da evolução dos cetáceos fósseis e recentes.



Fonte: modificado de Vaughan, Ryan & Czaplewski, 2013.

Fósseis de *Ambulocetus* tem aproximadamente 49 milhões de anos e foram encontrados em rochas formadas em áreas rasas (THEWISSEN *et al.*, 2009). Esses animais possuíam membros curtos e fortes que ainda eram usados para locomoção terrestre (THEWISSEN *et al.*, 2009; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Isótopos

estáveis indicam que o grupo ocupava regiões de água parcialmente doce, possivelmente foz de rios (THEWISSEN *et al.*, 2009). Seu nado era caracterizado pela ondulação da coluna vertebral e da cauda, utilizando os membros posteriores como remo (THEWISSEN *et al.*, 2009; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015).

Os Remingtonocetidae são caracterizados por crânio e mandíbula estreita e comprida (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Apresentavam audição mais desenvolvida do que a dos primeiros cetáceos, com forame mandibular mais desenvolvido e com presença de uma camada de lipídios, indicando uma maior eficiência na transmissão de sons debaixo d'água (THEWISSEN *et al.*, 2009; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Esses animais se deslocavam na água principalmente pela propulsão da cauda, com membros pequenos e limitada habilidade locomotiva terrestre (THEWISSEN *et al.*, 2009). Já os Protocetidae teriam vivido entre 49 e 40 milhões de anos atrás, e provavelmente apresentavam distribuição cosmopolita, sendo encontrados depósitos marinhos próximos à costa (THEWISSEN *et al.*, 2009). Uma característica interessante que diferencia esse grupo dos cetáceos basais anteriores a ele é a posição mais posterior do orifício respiratório, mais parecido com os cetáceos atuais (THEWISSEN *et al.*, 2009). Protocetidae foi um grupo muito diverso e o modo de locomoção parece variar dentro do grupo, apesar de sua natação aparentar ser uma combinação de ondulações dorsoventrais da cauda e utilização dos membros como remos (THEWISSEN *et al.*, 2009; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015).

Finalmente, os Basilosauridae são os primeiros cetáceos basais similares aos cetáceos modernos. Este grupo originou-se há aproximadamente 41 milhões de anos e são caracterizados por apresentarem nadadeiras peitorais e nadadeira caudal, além de membros posteriores incapazes de sustentar o peso do corpo (THEWISSEN *et al.*, 2009). Há dois padrões corporais no grupo: um corpo similar ao de uma serpente, que se locomovia por movimentos sinuosos (subfamília Dorudontinae) e um padrão com corpo parecido com o dos golfinhos modernos, que se movia por propulsão vertical da nadadeira caudal (subfamília Basilosaurinae) (THEWISSEN *et al.*, 2009; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Essas características indicam que Basilosauridae é o primeiro grupo de cetáceos totalmente aquático (THEWISSEN *et al.*, 2009).

1.2 Cetáceos modernos: Odontoceti e Mysticeti

Os cetáceos modernos formam um grupo monofilético e são divididos em Mysticeti e Odontoceti, que divergiram há aproximadamente 25-35 milhões de anos (THEWISSEN *et al.*, 2009; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; MCGOWEN *et al.*, 2020). Eles se diferenciam dos cetáceos basais pela presença de características derivadas como, por exemplo, maxila levemente côncava e múltiplos forames infra-orbitais que se abrem dorsalmente (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015).

As baleias, ou baleias de barbatanas, como são conhecidos os Mysticeti, são caracterizados pela ausência de dentes e pela presença de barbatanas feitas de queratina (CARWARDINE, 2020). Essas barbatanas possibilitam a alimentação por filtração de pequenos animais, principalmente peixes e crustáceos, característica dessas espécies (CARWARDINE, 2020). Outras características incluem orifício respiratório duplo, crânio simétrico, grande tamanho corporal e da cabeça (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; CARWARDINE, 2020). Mysticeti compreende 15 espécies divididas em quatro famílias, Balaenidae, Neobalaenidae, Eschrichtiidae e Balaenopteridae (THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY, 2022), amplamente conhecidas pelos seus cantos e vocalizações para comunicação (CARWARDINE, 2020).

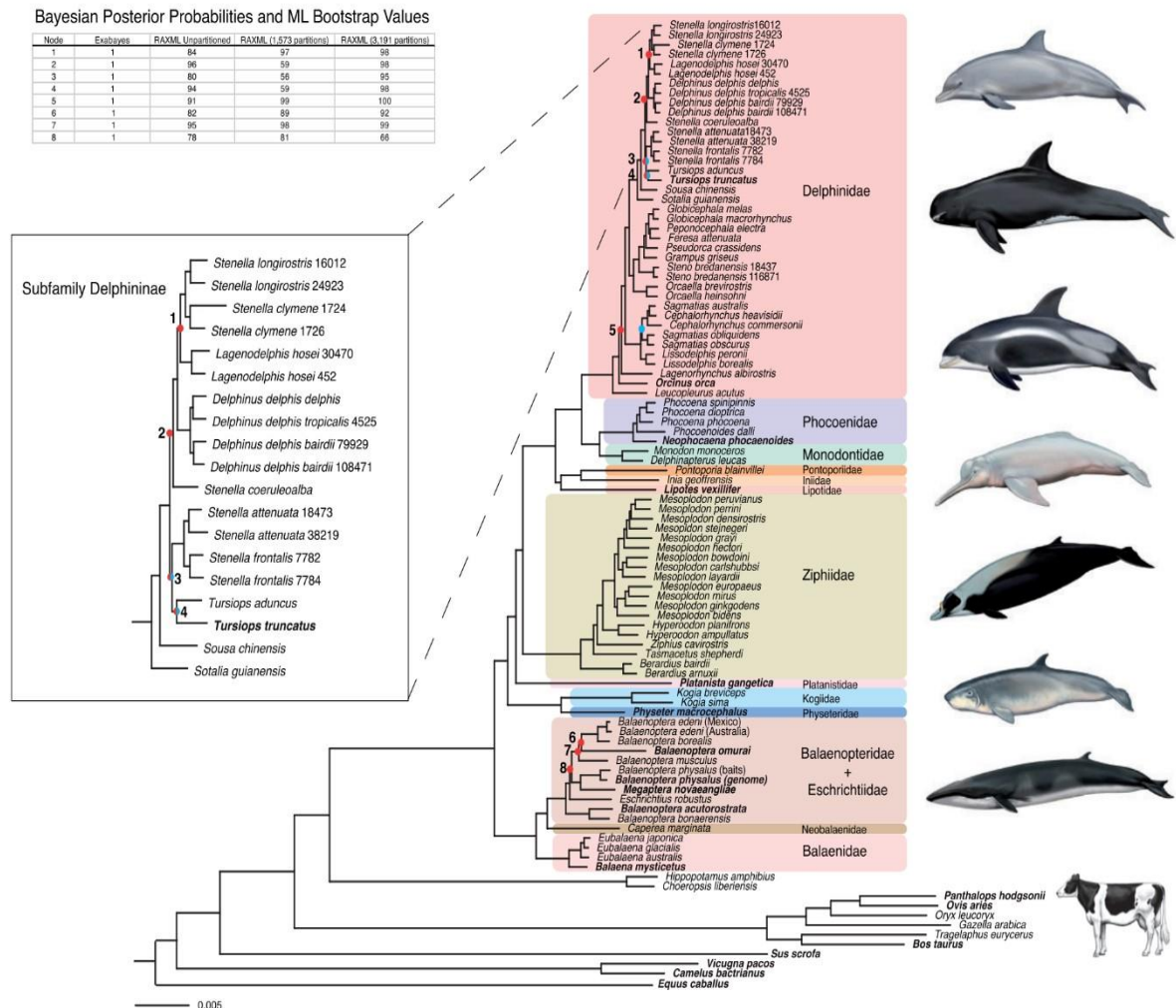
Os misticetos basais surgiram no Oligoceno e apresentavam grandes olhos e dentes afiados (VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWSKI, 2013). A substituição dos dentes pelas barbatanas foi um processo gradual, com formas intermediárias apresentando as duas estruturas (DEMÉRÉ *et al.*, 2008). No registro fóssil, os primeiros exemplares de baleias apresentavam dentes, seguido de fósseis mais recentes que ainda possuíam dentes, mas que apresentavam sulcos ao redor dos alvéolos dentários, indicando o fornecimento de sangue para o palato e a presença de barbatanas (STEELE, THORPE & TUREKIAN, 2011; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Espécies que apresentavam as duas estruturas podem ter utilizado os dentes para captura ativa de presas individuais e as barbatanas rudimentares para filtrar presas menores em maior quantidade (DEMÉRÉ *et al.*, 2008). Esse processo de substituição seria similar ao que ocorre nas baleias modernas, que apresentam dentes na fase embrionária, mas, devido à presença de genes responsáveis pelo desenvolvimento do esmalte não funcionais, esses dentes se degeneraram, enquanto as barbatanas são desenvolvidas (DEMÉRÉ *et al.*, 2008; VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWS-

KI, 2013). No Mioceno, as espécies já teriam perdido os seus dentes e desenvolvido rostros mais longos, para suportar mais barbatanas (VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWSKI, 2013).

Há muita dificuldade em explicar a história evolutiva das baleias modernas com base apenas na morfologia (VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWSKI, 2013). Segundo análises filogenéticas recentes, utilizando uma análise concatenada de mais de 3000 genes, as baleias modernas surgiram há aproximadamente 25,75 milhões de anos (Figura 3) (MCGOWEN *et al.*, 2020). As análises mostraram que Mysticeti apresenta dois grupos monofiléticos, Balaenidae e Balaenopteridae + Neobalaenidae, e que Balaenopteridae é parafilético, incluindo, além de Balaenoptera, os gêneros *Megaptera* e *Eschrichtius*, estando de acordo com estudos anteriores (Figura 3) (MCGOWEN *et al.*, 2020).

Os odontocetos, conhecidos como baleias dentadas, golfinhos e botos, compreendem 77 espécies, das quais uma está possivelmente extinta, divididas em 10 famílias, Physeteridae, Kogiidae, Ziphiidae, Platanistidae, Iniidae, Lipotidae, Pontoporiidae, Monodontidae, Delphinidae e Phocoenidae (THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY, 2022). São caracterizados pela dentição homodonte, crânio assimétrico, um único orifício respiratório em forma de meia-lua e pela maxila que se estende posteriormente, formando o processo supraorbital (“telescoping”), servindo para a inserção de musculatura (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; CARWARDINE, 2020). A característica mais marcante dessas espécies é a presença do “melão”, uma estrutura gordurosa localizada no topo da cabeça, e a capacidade de ecolocalização (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; CARWARDINE, 2020). A ecolocalização é gerada pelos complexos músculos faciais e pela anatomia nasal e consiste na emissão de sons de alta frequência e na interpretação do seu eco para reconhecer o ambiente ao seu redor (AU, 2008; CARWARDINE, 2020). Os odontocetos utilizam a ecolocalização para procurar por presas, evitar predadores e para auxiliar na sua locomoção (CARWARDINE, 2020).

Figura 3 – Reconstrução filogenética de Cetacea com base na análise concatenada de marcadores nucleares.



Fonte: McGowen *et al.*, 2020.

Os primeiros Odontoceti tinham um grau moderado de “telescoping”, com o orifício nasal anterior às órbitas e crânio simétrico (STEELE, THORPE & TUREKIAN, 2011; BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). No final do Oligoceno, os fósseis já apresentam “telescoping” completo, como os odontocetes modernos, com o orifício respiratório entre as órbitas, embora a dentição ainda fosse heterodonte (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Os primeiros cetáceos, no início do Eoceno, apresentavam dentes cerrados, e acredita-se que isso possibilitaria reter a presa dentro da boca ao mesmo tempo em que a água era expulsa (VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWSKI, 2013). Já no Mioceno, essa dentição se tornou cônica e fina e a mandí-

bula mais alongada, possibilitando a captura das presas com o fechamento rápido da mandíbula (VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWSKI, 2013).

As relações filogenéticas dos Odontoceti modernos ainda se encontram em discussão, principalmente devido à rápida diversificação de alguns grupos (VAUGHAN, RYAN & CZAPLEWSKI, 2013; MCGOWEN *et al.*, 2020). Análises moleculares recentes (MCGOWEN *et al.*, 2020), no entanto, parecem ter resolvido, com alto grau de robustez, até as relações de mais difícil resolução. Delphinidae, o grupo mais diverso de cetáceos, ainda apresenta relações filogenéticas em discussão, apesar desta última análise ter conseguido reconstruí-las com alto suporte (MCGOWEN *et al.*, 2020). A família Delphinidae teria surgido há aproximadamente 13 milhões de anos, e passado por rápidos processos de diversificação simultâneos ou seguidos no final do Mioceno, início do Plioceno, que correspondem à maioria das subfamílias observadas atualmente (MCGOWEN *et al.*, 2020).

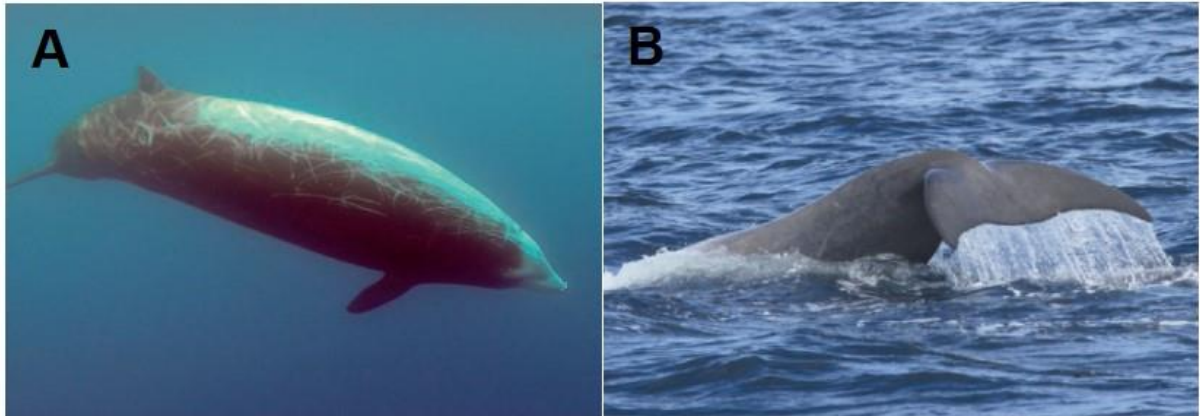
Em relação às espécies de água doce, acreditava-se que os odontocetes que invadiram ambientes de água doce formassem um grupo monofilético (Platanistidae, Pontoporiidae, Iniidae e Lipotidae) (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015). Entretanto, Platanistidae parece ser grupo irmão de todos os odontocetes, com exceção de Physteridae e Kogiidae (Figura 3) (MCGOWEN *et al.*, 2020). Platanistidae em algumas análises moleculares também aparece como grupo irmão de Ziphiidae (BERTA, SUMICH & KOVACS, 2015; FORDYCE, 2017), resultado que não foi corroborado com marcadores nucleares (Figura 3) (MCGOWEN *et al.*, 2020).

1.3 As baleias-bicudas da família Ziphiidae

As baleias-bicudas pertencem à família Ziphiidae, uma das 10 famílias de Odontoceti, ordem Artiodactyla e compreendem 24 espécies distribuídas em 6 gêneros – *Berardius*, *Hyperoodon*, *Indopacetus*, *Mesoplodon*, *Tasmacetus* e *Ziphius* (THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY, 2022). São cetáceos de médio porte, medindo de 3 a 13 metros de comprimento e em geral são caracterizadas por um rosto alongado, dentição reduzida, um par de pregas em forma de “V” localizadas na garganta, nadadeira dorsal pequena e posicionada 2/3 do comprimento total, nadadeiras peitorais pequenas que se encaixam em depressões nas laterais do corpo e nadadeiras caudais, em sua maioria, sem reentrância mediana (Figura 4) (JEFFER-

SON, WEBBER & PITMAN, 2015; MEAD, 2008). São espécies pelágicas e se alimentam principalmente de peixes e lulas de profundidade, buscando capturar em média 30 presas por mergulho (TYACK *et al.*, 2006; MEAD, 2008).

Figura 4 – Exemplos de baleias-bicudas (Ziphiidae) em seu ambiente natural.

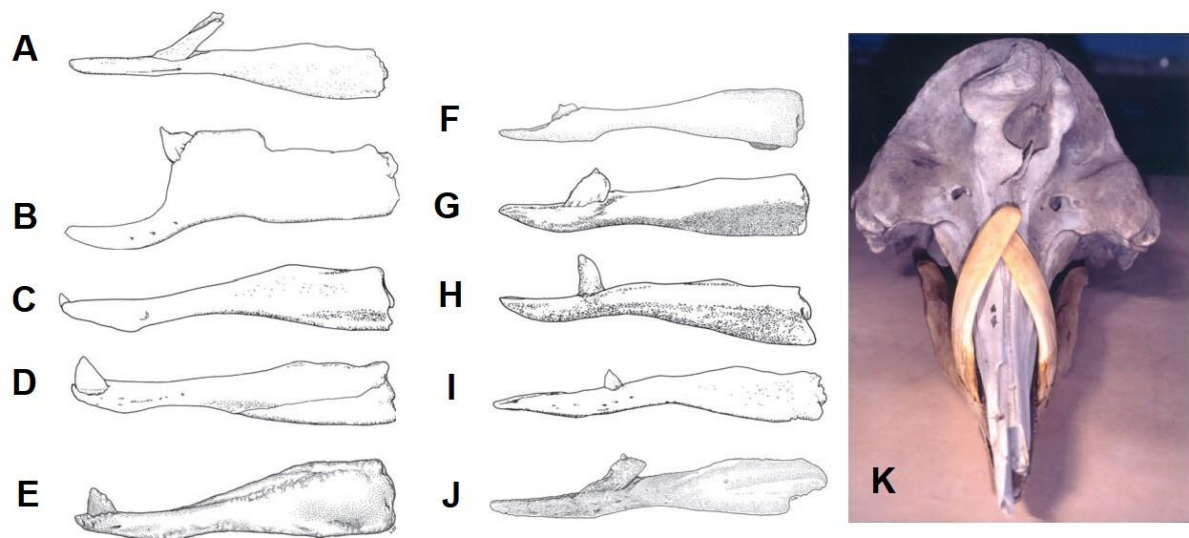


Legenda: (A) *Ziphius cavirostris*. Foto por G. Ocio. (B) *Hyperoodon ampullatus*. Foto por Hal Whitehead's Lab. Fonte: Jefferson, Webber & Pitman, 2015.

A característica mais marcante da família são as diferentes morfologias dos dentes (Figura 5). As espécies de baleias-bicudas apresentam apenas um único par de dentes na mandíbula que eclodem apenas em machos adultos, com exceção do gênero *Tasmacetus*, onde tanto machos quanto fêmeas apresentam o padrão de dentição comumente observado em odontocetos, e do gênero *Berardius*, onde machos e fêmeas apresentam 2 pares de dentes (ELLIS & MEAD, 2017). A mandíbula das baleias-bicudas é maior que a maxila, e os dentes são visíveis nas laterais do rosto (ELLIS & MEAD, 2017). Alguns indivíduos apresentam desgastes na parte interna dos dentes, resultado da fricção com o rosto, indicando que o movimento da mandíbula é prejudicado por essa configuração (PITMAN, 2008). Em algumas espécies, como *Mesoplodon stejnegeri* e *Mesoplodon layardii*, os dentes estão completamente expostos. Os machos de *Mesoplodon layardii* desenvolveram dentes únicos entre todas as espécies de baleias-bicudas (Figura 5). De início, os dentes curvam-se para fora, continuam crescendo, curvando-se para cima e para trás, até que se cruzam acima do rosto formando um arco (ELLIS & MEAD, 2017). Esse arco impede que os indivíduos abram a boca mais que alguns centímetros (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; ELLIS & MEAD, 2017). Outras espécies como *Mesoplo-*

don carlhubbsi e *Mesoplodon densirostris* possuem a maior parte do dente inclusa e apenas a extremidade exposta (ELLIS & MEAD, 2017).

Figura 5 – Variação morfológica da dentição encontrada em Ziphiidae (gênero *Mesoplodon*).



Legenda: (A) *M. layardii* (B) *M. densirostris* (C) *M. mirus* (D) *M. hectori* (E) *M. perrini* (F) *M. grayi* (G) *M. carlhubbsi* (H) *M. stejnegeri* (I) *M. bidens* (J) *M. traversii* (K) Crânio de *Mesoplodon layardii*, mostrando os dentes cruzando acima do rostró. Adaptado de Pitman, 2008.

Segundo Dalebout, Steel e Baker (2008), existem quatro hipóteses para explicar o processo de diversificação de *Mesoplodon* e os padrões de morfologia dos dentes do gênero. Em uma das hipóteses, espécies que possuíam dentes em posição mais apical seriam basais, enquanto espécies com dentes mais centralizados na mandíbula seriam mais derivadas. Essa hipótese não explica os padrões de distribuição geográfica ou como o processo de especiação pode ter ocorrido (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). A segunda hipótese busca explicar as similaridades morfológicas gerais entre espécies e propõe que a especiação ocorreu devido ao isolamento de populações em canyons submarinos, e que, portanto, espécies adjacentes seriam mais parecidas entre si. Entretanto, essa hipótese não faz previsões sobre as diferentes morfologias dos dentes (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). A terceira hipótese sugere que a seleção sexual tem um papel importante na especificação e diversificação de *Mesoplodon*, onde a seleção direcional ou disruptiva na morfologia dos dentes levaria à especiação simpátrica (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). E, por fim, a quarta hipótese sugere que a forma e posição dos dentes

serviria como mecanismo para reconhecimento entre espécies, como mecanismo de isolamento pré-copulatório. Essa hipótese, no entanto, não propõe como o processo de especiação se iniciou, mas prevê que as diferenças na morfologia dos dentes surgiriam a partir de seleção direcional e deslocamento de caracteres (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008).

A ocorrência de espécies com dentes similares dentro de uma mesma bacia oceânica parece contradizer a hipótese de reconhecimento entre espécies (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). Além disso, características relacionadas ao reconhecimento de espécies costumam estar presentes em ambos os sexos, o que não é observado nas baleias-bicudas (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). De maneira geral, essa hipótese não parece explicar a diversidade e distribuição das diferentes formas de dente, apesar de poder ajudar na manutenção das diferentes morfologias em espécies simpátricas (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). No entanto, na maioria dos casos, espécies irmãs de *Mesoplodon* com distribuição sobreposta apresentam diferentes formas de dentes, como previsto pela hipótese da seleção sexual. Assim, o padrão observado sugere que a seleção sexual em dentes para confrontos intraespecíficos, junto da seleção para reconhecimento de espécies, desempenhou um papel importante na diversificação na morfologia dos dentes em *Mesoplodon* (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008).

As baleias-bicudas começaram a se diversificar no Mioceno, tendo *Berardius* como gênero mais basal, e *Mesoplodon* como mais derivado (Figura 3) (MCGOWEN *et al.*, 2020). Apesar de *Tasmacetus* apresentar dentição comum aos outros Odontoceti, e suspeitar-se que ele fosse o gênero mais basal, ele forma um clado com os gêneros de dentição reduzida (MCGOWEN *et al.*, 2020). O gênero *Mesoplodon*, o mais diverso em cetáceos, sofreu uma rápida radiação evolutiva no final do Mioceno, com o surgimento de pelo menos 13 espécies (MCGOWEN *et al.*, 2020). Os três grupos recuperados no gênero (“bidens” – *Mesoplodon bidens*, *M. ginkodens*, *M. europaeus* e *M. mirus*; “layardii” – *M. layardii*, *M. carlhubbsi* e *M. bowdoini*; e “hectori” – *M. hectori*, *M. grayi*, *M. stejnegeri*, *M. densirostris*, *M. perrini* e *M. peruvianus*) (Figura 3) também podem ser observados em reconstruções realizadas com base em íntrons do DNA nuclear (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008). A exceção é *Mesoplodon bidens*, que anteriormente havia sido recuperado como a espécie mais basal de *Mesoplodon* (DALEBOUT, STEEL & BAKER, 2008).

1.4 *Ziphius cavirostris*, a baleia-bicuda-de-Cuvier

O gênero *Ziphius* é monotípico e foi proposto em 1823 por Cuvier ao analisar um fragmento de crânio coletado na França em 1804 e descrever a nova espécie *Ziphius cavirostris* (HEYNING & MEAD, 2008; ELLIS & MEAD, 2017). “*Ziphius*” vem do grego “*Xiphos*”, que significava espada, ou do latim “*Xiphias*”, peixe-espada, e faz alusão ao rostro pontiagudo da espécie; o epíteto específico “*cavirostris*” é a junção de rostro e do latim “*cavus*” (cavidade), se referindo a cavidade pré-nasal presente na base do rostro em machos adultos (Figura 6) (TURNER, 1872; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; ELLIS & MEAD, 2017; CARWARDINE, 2020).

A baleia-bicuda-de-Cuvier (*Ziphius cavirostris*), de início, foi considerada um fóssil devido às condições gerais e à aparência “petrificada” que a forte ossificação conferia ao fragmento (HEYNING & MEAD, 2008), mas, em 1850, M. Paul Gervais comparou o fragmento de Cuvier com um crânio recém-encontrado na França, determinando que os dois crânios eram idênticos e que a *Ziphius* não era um fóssil (TURNER, 1872). A partir de então, naturalistas franceses procuraram na literatura por espécies de cetáceos descritas nos mares adjacentes que pudessem pertencer ao gênero *Ziphius*, encontrando seis possíveis registros, dos quais cinco foram obtidos no Mediterrâneo (TURNER, 1872). Essa busca se estendeu para outras regiões do mundo, e entre 1863 e 1865 outros três possíveis registros foram observados, dois no Cabo da Boa Esperança, África do Sul, e um em Buenos Aires, Argentina (TURNER, 1872).

Figura 6 – Crânios de *Ziphius cavirostris*, onde é possível observar a cavidade característica dos machos da espécie (direita).



Fonte: Heyning & Mead, 2008.

Em 1872, Sir William Turner comparou quatro dos cinco exemplares do Mediterrâneo, os dois da África e o da Argentina com um exemplar das Ilhas Shetland descrito por ele, para determinar se os exemplares pertenciam a gêneros diferentes ou se representariam uma ou mais espécies do gênero *Ziphius* (TURNER, 1872). Apesar de pequenas variações, ele considerou todos os espécimes como *Ziphius cavirostris*, até que novas informações pudessem ser obtidas, e constatou que, caso sua consideração fosse verdadeira, *Ziphius cavirostris* teria extensa distribuição, similar à da baleia cachalote (*Physeter macrocephalus*) (TURNER, 1872).

1.5 Características gerais de *Ziphius cavirostris*

A baleia-bicuda-de-Cuvier apresenta o padrão geral de formato do corpo fusiforme das baleias-bicudas, mas de aparência mais robusta, com nadadeira caudal larga e dorsal pequena e falcada (Figura 7) (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). Adultos atingem em média 6,1 m, sem dimorfismo de tamanho significativo

entre os sexos (HEYNING & MEAD, 2008), podendo atingir até 8,4 m e pesar 3000 kg (ELLIS & MEAD, 2017). Neonatos tem em média 2,7 m e pesam 250-300 kg (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). O rostro é curto e pouco definido, com uma leve inclinação ligando-o à região do “melão”, que é proeminente e bulbosa em machos adultos (HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). O orifício respiratório é em forma de meia-lua, com as extremidades voltadas para trás (LODI & BARBOSA, 2013). Uma característica diagnóstica da espécie é uma leve concavidade no topo da cabeça, separando o “melão” do orifício respiratório, mais aparente em indivíduos adultos (Figura 7) (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015).

Figura 7 – Ilustração de *Ziphius cavirostris* por Uko Gorter.



Fonte: Baird, 2017.

A coloração do corpo varia de cinza escuro a marrom avermelhado, com a região da cabeça e dorso mais claros (HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). Esse contraste não é tão evidente em fêmeas, mas machos costumam apresentar a cabeça completamente branca, e essa coloração avança pelo dorso com a idade (Figura 7) (HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON,

WEBBER & PITMAN, 2015). O padrão de coloração dos neonatos pode representar o padrão ancestral das baleias-bicudas, com o dorso escuro e ventre claro, que também é observado em neonatos do gênero *Mesoplodon* (HEYNING & MEAD, 2008).

Ziphius não é uma espécie social, sendo possível encontrá-los mais frequentemente sozinhos do que em grupos (BAIRD, 2019). A maioria das associações entre indivíduos envolve uma fêmea adulta e um juvenil ou neonato, apesar de esses pares também serem observados na presença de outros indivíduos adultos (BAIRD, 2019). Na Carolina do Norte, no entanto, pares de machos adultos foram visto mergulhando em sincronia por semanas (CIOFFI *et al.*, 2021). Evidências sugerem que, aqueles indivíduos que formam grupos, procuram por presas sozinhos e retornam aos seus grupos durante a ascensão (BAIRD, 2019; AGUILAR DE SOTO *et al.*, 2020; ALCÁZAR-TREVIÑO *et al.*, 2021; CIOFFI *et al.*, 2021). Três hipóteses foram sugeridas para explicar esse comportamento: segregação relacionada aos diferentes comportamentos entre os sexos, competições intraespecíficas prolongadas e alianças entre machos (CIOFFI *et al.*, 2021).

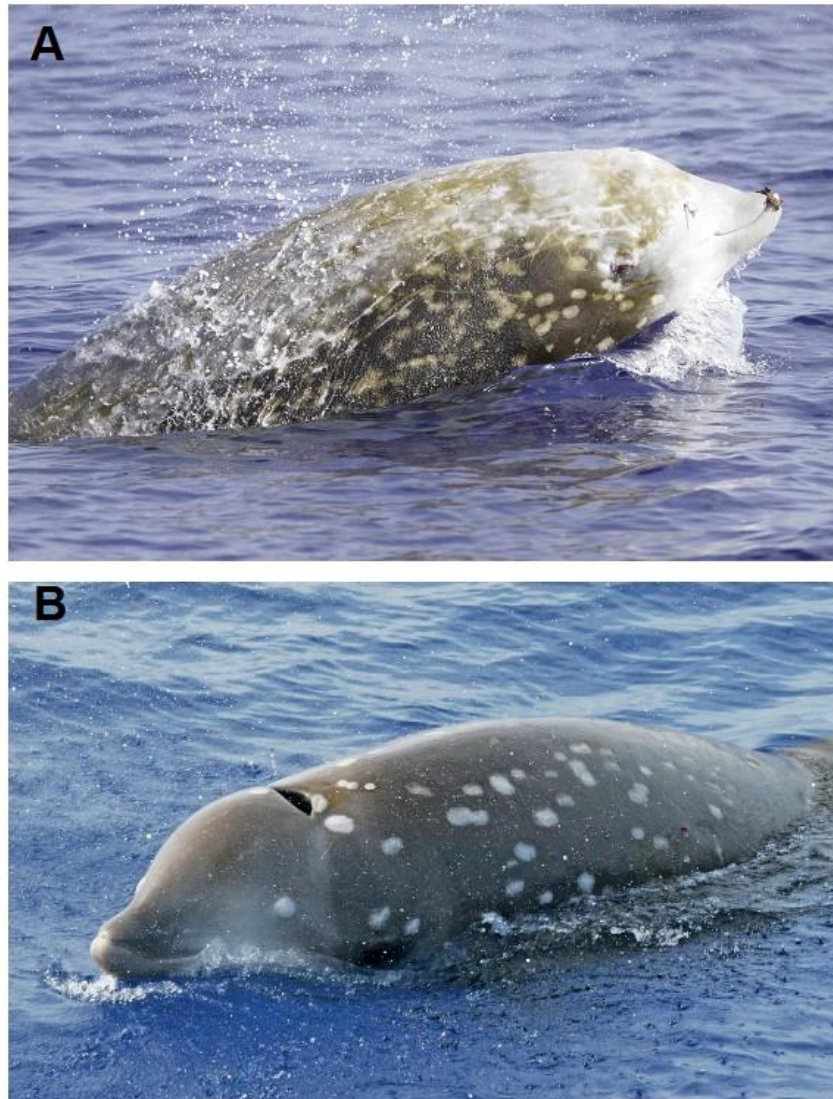
A baleia-bicuda-de-Cuvier apresenta um único par de dentes cônicos, voltados para frente, na extremidade da mandíbula (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). A erupção desse par de dentes normalmente só ocorre em machos adultos, e em fêmeas os dentes permanecem dentro da gengiva (Figura 8) (ELLIS & MEAD, 2017). O dimorfismo sexual na morfologia dos dentes – grandes em machos e finos e pontudos em fêmeas – levou, de início a separação dos sexos em espécies diferentes (ELLIS & MEAD, 2017). Espécimes jovens apresentam cerca de 33/34 pequenos dentes dentro da gengiva (ELLIS & MEAD, 2017). Como observado em outras espécies da família Ziphiidae, *Ziphius* não utiliza os dentes para captura de presas e se alimentam por sucção (ELLIS & MEAD, 2017). Dentes não parecem ser importantes na captura de cefalópodes e há uma tendência à redução do número de dentes funcionais em animais que se alimentam dessas espécies (HEYNING & MEAD, 1996; MACLEOD, 1998). A alimentação por sucção pode, portanto, explicar por que lulas encontradas em seus estômagos não apresentam marcas de perfurações (HEYNING & MEAD, 1996).

Heyning e Mead (1996) dissecaram exemplares dos gêneros *Mesoplodon*, *Berardius* e *Ziphius* e encontraram estruturas que corroboram essa forma de alimentação – a língua pode ser retraída e os ossos hióides são maiores para fixar os mús-

culos que controlam a língua. Somado a isso, as pregas na garganta são distensíveis, expandindo a cavidade oral e criando uma pressão negativa que permite a entrada de água, e da presa, na boca (HEYNING & MEAD, 1996; ELLIS & MEAD, 2017). Foi também observado um acúmulo de tecido superficial ao redor da boca que restringia a sua abertura, considerada uma característica mais eficiente na alimentação por sucção (HEYNING & MEAD, 1996). Além de análises anatômicas, Heyning e Mead (1996) também obtiveram evidências observacionais, analisando espécimes de *Mesoplodon carlhubbsi* em cativeiro e vídeos de *Ziphius cavirostris*, onde, em ambas as situações, foi possível observar a sucção da presa.

Em animais em que os dentes não são utilizados na alimentação, essas estruturas podem se desenvolver para assumir outras funções (MACLEOD, 1998). Estudos afirmam que cicatrizes fornecem um bom indicativo de comportamento agressivo em odontocetes em condições naturais (HEYNING, 1984; ELLIS & MEAD, 2017). Ainda hoje, não há registro confirmados de confronto entre baleias-bicudas, entretanto machos adultos, com exceção de *Mesoplodon ginkgodens*, apresentam extensas cicatrizes lineares (HEYNING, 1984; HEYNING & MEAD, 2008; PITMAN, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; ELLIS & MEAD, 2017). Fêmeas e juvenis apresentam apenas cicatrizes circulares, também presentes em machos adultos, causadas por tubarão-charuto (*Isistius brasiliensis*), em sua maioria, e por lampreias (Figura 8) (HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; ELLIS & MEAD, 2017). Assim, acredita-se em que os dentes em baleias-bicudas sejam utilizados em confrontos intraespecíficos para estabelecer hierarquias reprodutivas (HEYNING, 1984; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; ELLIS & MEAD, 2017; BAIRD, 2019).

Figura 8 – Dimorfismo sexual observado na dentição de adultos de *Ziphius cavirostris*.



Legenda: (A) Macho adulto de *Ziphius*. É possível observar o par de dentes cônicos na mandíbula e as extensas cicatrizes lineares. Foto por Dan J. McSweeney/Wild Whale Research Foundation). Fonte: Baird, 2017. (B) Fêmea adulta de *Ziphius*. Os dentes em fêmeas permanecem na gengiva e não são observadas cicatrizes lineares. Fonte: Carwardine, 2020.

Diferentes padrões de cicatrizes lineares podem ser observados em baleias-bicudas e eles estão associados às diferentes posições dos dentes na mandíbula (HEYNING, 1984). Espécies com dentes apicais, como *Ziphius cavirostris*, *Mesoplodon mirus*, *Mesoplodon hectori* e *Mesoplodon perrini*, podem deixar tanto cicatrizes únicas quanto paralelas, pois essa posição dos dentes permite que apenas um ou os dois dentes entrem em contato com o oponente (“Jousting”) (HEYNING, 1984; ELLIS

& MEAD, 2017). Essa é uma condição ancestral em baleias-bicuda e evoluiu da forma de confronto encontrado em odontocetes (“bite and rake”) (ELLIS & MEAD, 2017). Espécies com dentes em posição mais centralizada, mas que não estão projetados acima do rosto, como *Mesoplodon bidens* e *Mesoplodon grayi*, deixam cicatrizes únicas, pois o contato com o oponente é lateral e apenas um dente é utilizado (HEYNING, 1984).

Em espécies em que os dentes estão centralizados e se projetam acima do rosto, como *Mesoplodon densirostris* e *Mesoplodon stejnegeri*, são possíveis, em teoria, tanto cicatrizes únicas quanto paralelas (HEYNING, 1984). Foi sugerida a hipótese de que, nesses casos, as cicatrizes longitudinais paralelas no dorso dos indivíduos são consistentes com uma aproximação “dorsum-to-dorsum”, onde um dos indivíduos se aproxima do oponente com o ventre para cima (ELLIS & MEAD, 2017). Pesquisadores, no entanto, rejeitaram essa hipótese, uma vez que grande parte das cicatrizes não são paralelas (ELLIS & MEAD, 2017). Eles afirmam que são observados zigue-zagues e mudanças de direção que não condizem com a utilização dos dois dentes simultaneamente, mas sim com a aproximação dos oponentes frente-a-frente, golpeando de relance com apenas um dente (ELLIS & MEAD, 2017). Essa forma de confronto pode ser comparada ao observado em outros mamíferos, como bodes, veados e antílopes (ELLIS & MEAD, 2017).

Baleias-bicudas são mergulhadores de profundidade e utilizam a ecolocalização para localizar e capturar presas (JOHNSON *et al.*, 2004; MADSEN *et al.*, 2005; JOHNSON *et al.*, 2006; JOHNSON *et al.*, 2008). *Ziphius* tipicamente apresenta três tipos de mergulhos: mergulhos profundos, para forrageio, mergulhos rasos para respiração, que duram em média 3 a 15 segundos e atingem profundidades de 2 a 3 metros, e mergulhos intermediários (BAIRD, 2019). Em mergulhos profundos, Tyack *et al.* (2006) registraram profundidade máxima atingida por *Ziphius* de 1888 metros em um mergulho de 85 minutos de duração no Mar de Ligúria, Itália, enquanto Baird (2019) registrou 2800 metros em um mergulho de 117 minutos no Havaí. Mergulhos superficiais (<500 m) são silenciosos, enquanto em mergulhos mais profundos (>500 m) é possível identificar a emissão de pulsos curtos (“clicks” e “buzzes”) de ecolocalização e ecos, que podem representar as presas (JOHNSON *et al.*, 2004; TYACK *et al.*, 2006). Os animais vocalizam a partir dos 200 m de profundidade, com clicks de ecolocalização iniciando, em média, a partir dos 475 m e são interrompidos durante a ascendência, em média, a 850 m de profundidade (JOHNSON *et al.*, 2004). Esse

comportamento pode ser uma forma de despistar predadores que possam ter detectado sua vocalização, uma vez que as baleias-bicudas se deslocam em média 1 km horizontalmente a partir do momento que cessam a ecolocalização (AQUILAR DE SOTO *et al.*, 2020). Não foram observadas diferenças nas taxas de mergulho e ascendência e profundidade durante o dia e noite (BAIRD *et al.*, 2008), sugerindo que não há migração vertical das presas (BAIRD *et al.*, 2006).

As baleias-bicudas iniciam o mergulho por natação ativa, mas o movimento da nadadeira caudal é reduzido após 50-100 m de descida, sem que haja redução da velocidade (TYACK *et al.*, 2006). Diferente do observado em focas, que expiram todo o ar dos pulmões antes de mergulhar, as baleias-bicudas retêm um pouco de ar, como sugerido pela movimentação inicial da nadadeira caudal (TYACK *et al.*, 2006). Como observado em outros mergulhadores de profundidade, com o aumento da pressão ambiente durante o mergulho, ocorre o colapso dos pulmões, expulsando o ar dos alvéolos para o sangue ou de volta para a traqueia, onde a taxa de difusão do ar para o sangue é reduzida (TYACK *et al.*, 2006). A velocidade vertical de ascendência é menor que a de mergulho, e Tyack *et al.* (2006) sugerem que os últimos metros de subida sejam alimentados pela força de flutuação do ar expandindo nos pulmões, mais do que por natação ativa. Além disso, acredita-se que essa ascendência lenta e silenciosa permita a detecção visual de predadores que possam estar na região (BAIRD, 2019).

Após mergulhos profundos, as baleias-bicudas realizam uma sequência de mergulhos intermediários, sem intenção de forrageio (TYACK *et al.*, 2006; BAIRD *et al.*, 2008; BAIRD, 2019; AQUILAR DE SOTO *et al.*, 2020). Esses mergulhos parecem estar relacionados a luminosidade, uma vez que eles quase não ocorrem durante a noite (BAIRD, 2019). Especulava-se que esses mergulhos fossem realizados porque os indivíduos estavam supersaturados de nitrogênio e permanecer na superfície aumentava o risco de embolia (TYACK *et al.*, 2006). Assim, caso esses mergulhos tivessem papel na descompressão, os animais deveriam atingir profundidades próximas a do colapso do pulmão e subir lentamente, permitindo a difusão do nitrogênio do sangue e tecidos (TYACK *et al.*, 2006). Contudo, os mergulhos podem atingir profundidades maiores que a profundidade de colapso do pulmão, sendo improvável sua função na descompressão (BAIRD *et al.*, 2008). Uma hipótese alternativa é que as baleias-bicudas realizam esses mergulhos como uma forma de passar menos tempo na superfície e evitar predadores, como as orcas (*Orcinus orca*) e tu-

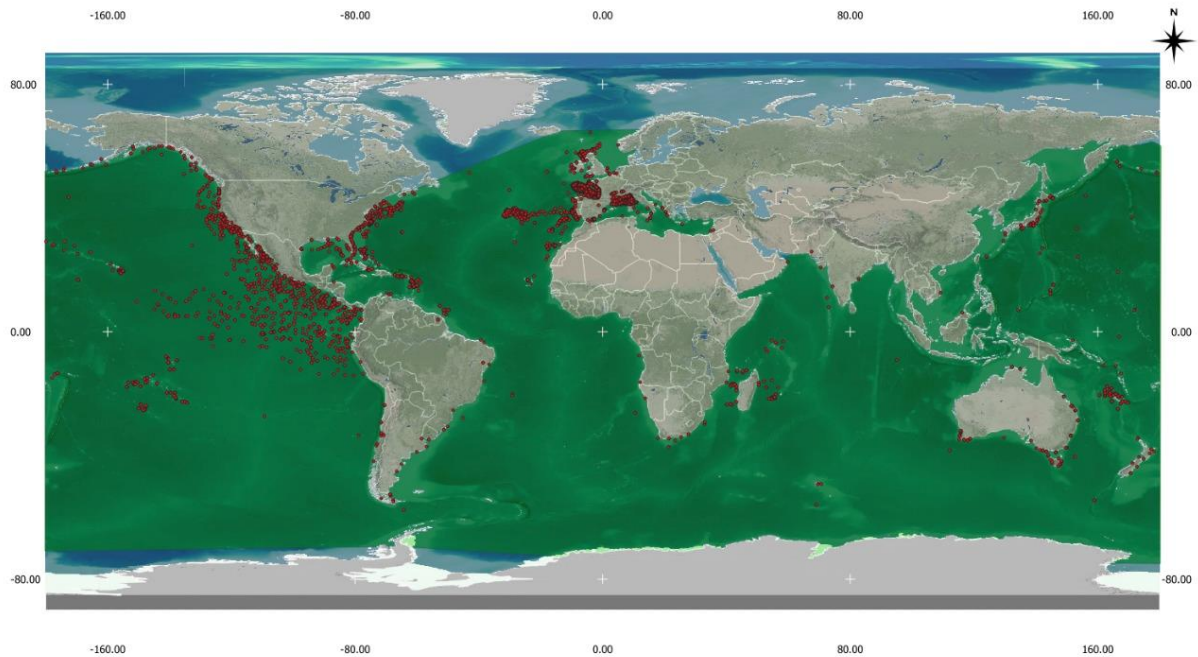
barões (BAIRD *et al.*, 2008; AGUILAR DE SOTO *et al.*, 2020). Essa sequência de mergulhos é feita sem nenhum tipo de vocalização e os indivíduos podem emergir a centenas de metros de onde iniciaram o mergulho (AGUILAR DE SOTO *et al.*, 2020).

1.6 Distribuição geográfica de *Ziphius cavirostris*

A distribuição de *Ziphius cavirostris* foi inferida por meio de registros de encaixe e, portanto, pode não representar a realidade. *Ziphius* é uma espécie monotípica e cosmopolita, com a distribuição mais abrangente dentre as espécies de baleias-bicudas, podendo ser encontrada na maioria dos oceanos, com exceção de regiões de baixa profundidade (<200 m) e altas latitudes em regiões polares (Figura 9) (HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). Pode ser encontrado em diversos mares fechados, como no Golfo do México, Mar do Caribe, Mar de Okhotsk, Golfo da Califórnia e no Mar Mediterrâneo, onde é a única espécie de baleia-bicuda frequentemente encontrada e onde parece formar uma população geneticamente isolada (DALEBOUT *et al.*, 2005; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; CARWARDINE, 2020).

Ziphius costuma ser encontrado em regiões oceânicas com topografia complexa, sendo comumente associado a *canyons* submarinos, como observado em outras espécies de baleias-bicudas (HOOKER, WHITEHEAD & GOWANS, 1999; MACLEOD & ZUUR, 2005), em água mais profundas na plataforma continental ou próximo ao talude (FRANTZIS *et al.*, 2003; MACLEOD & MITCHELL, 2006b; MOULINS *et al.*, 2007; CARWARDINE, 2020).

Figura 9 – Mapa de ocorrência de *Ziphius cavirostris* (pontos em vermelho), com base nos dados do GBIF, e distribuição atual da espécie (em verde).



Fonte: a autora, 2022.

1.7 Encalhes em massa e as ameaças atuais à espécie

Ziphius cavirostris nunca foi alvo direto de pesca, mas há relatos de capturas acidentais em redes de pesca e durante a pesca de outras espécies em regiões como Indonésia, Taiwan, Peru, Chile e em ilhas do Caribe (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; BAIRD, 2017). Na Califórnia, EUA, entre 1992 e 1994, houve uma mortalidade de 22 a 44 indivíduos, capturados em redes de emalhar (JULIAN & BEESON, 1998). Já durante a pesca da baleia-bicuda-de-Baird (*Berardius bairdii*) no Japão, entre 1948 e 1952, entre 3 e 35 *Ziphius* foram capturados por ano de maneira oportunística, somando 85 indivíduos (OMURA, FUJINO & KIMURA, 1955; HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015). Entre 1965 e 1970, um total de 189 *Ziphius* foram capturados, com capturas anuais variando de 60 indivíduos em 1965 a 13 em 1969, indicando uma redução na captura da espécie devido à redução no esforço de sua pesca pelo seu baixo valor na indústria baleeira (NISHIWAKI & OGURO, 1972).

A principal ameaça para a espécie, no entanto, está relacionada a exposição a ruídos antropogênicos. De maneira ainda pouco compreendida, as baleias-bicudas

encalham em massa ao serem expostas a ruídos causados por explorações sísmicas e sonares ativos (COX *et al.*, 2006; HOOKER *et al.*, 2019). A exposição a esses ruídos possivelmente leva a alterações fisiológicas e comportamentais no padrão de mergulho, que resulta na embolia gasosa e na morte dos indivíduos (HEYNING & MEAD, 2008; JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; BAIRD, 2017).

A doença da descompressão, como a embolia gasosa é também conhecida por mergulhadores, é resultado da supersaturação de nitrogênio dissolvido em tecidos e a consequente liberação de bolhas de gás nitrogênio, causada pela rápida descompressão após mergulho com ar comprimido (FERNÁNDEZ *et al.*, 2005). As baleias-bicudas eram consideradas imunes a essa condição devido a adaptações ainda não bem estabelecidas que reduziriam a carga de nitrogênio durante os mergulhos (HOOKER *et al.*, 2012). Entretanto modelos teóricos mostram que essas espécies apresentam continuamente níveis elevados de nitrogênio nos tecidos, tornando-os propensos à embolia gasosa caso ocorra alguma alteração no seu comportamento de mergulho (COX *et al.*, 2006; HOOKER *et al.*, 2009).

Encalhes anteriores a 1963, quando sonares de média frequência começaram a ser utilizados, envolviam, em média, apenas um indivíduo (FERNÁNDEZ *et al.*, 2005). A primeira vez em que exercícios navais foram associados temporal e espacialmente a encalhes em massa ocorreu em 1991 (COX *et al.*, 2006). Desde então, uma série dessas ocorrências, com indivíduos apresentando embolia gasosa e gordurosa, vem sendo documentada (COX *et al.*, 2006). Nas análises de baleias-bicudas encalhadas em março de 2000 nas Bahamas não foram encontrados indícios de doenças infecciosas que pudesse ter causado a morte dos indivíduos, mas foram observadas hemorragia subaracnóidea na região temporal e hemorragia no ducto coclear, consistente com lesões acústicas (COX *et al.*, 2006). Em indivíduos que encalharam em maio de 2000, na Ilha da Madeira, foram observadas as mesmas lesões das baleias-bicudas de Bahamas, além de hemorragia e congestão no pulmão direito e nos rins (COX *et al.*, 2006). Fernández *et al.* (2005) descreveram pela primeira vez a presença de embolia gordurosa em cetáceos, observada em baleias-bicudas que encalharam em massa nas Ilhas Canárias em 2002, associado a exercícios navais que ocorreram na região. Também foram observadas lesões associadas a embolia gasosa no cérebro, pulmões, nos rins e no fígado (COX *et al.*, 2006).

Tyack *et al.* (2011) estudaram a reação de *Mesoplodon densirostris* ao serem expostos a sonares, apresentando duas hipóteses para a causa da mudança de comportamento. Em uma das hipóteses, é possível que a energia dos harmônicos da frequência fundamental dos sonares de média frequência esteja relacionada a resposta dos indivíduos. Outra hipótese sugere que os sonares apresentam semelhanças acústicas com o chamado de orcas (*Orcinus orca*). O estudo foi realizado em uma área de teste da marinha (Atlantic Undersea Test and Evaluation Center AUTEK), onde os indivíduos foram expostos tanto a sonares de média frequência quanto a gravações de vocalização de orcas. A resposta aos dois estímulos foi semelhante, com a interrupção prematura do forrageamento, lenta ascendência e evasão por dezenas de quilômetros. No caso do chamado das orcas, os indivíduos realizaram a ascendência mais lenta registrada durante o estudo e nadaram durante 10 horas para longe da fonte do chamado, resposta mais prolongada do que observado para o sonar. Para testar a hipótese de resposta a sonares como possível presença de predadores, os indivíduos foram expostos a sinais simulando sonares de média frequência, aumentando o nível do estímulo até obtenção de uma resposta. As baleias-bicudas responderam ao estímulo do sonar 9 minutos após o sinal atingir 138 dB, mas responderam ao chamado das orcas apenas 1 minuto após o sinal atingir 98 dB, não sendo possível confirmar a hipótese. Entretanto, o nível do estímulo de sonar está de acordo com nível de ruído de propulsão de navio (136 dB) que levou outra espécie de baleia-bicuda (*Ziphius cavirostris*) a interromper a emissão de “clicks” e o forrageamento no Mar Mediterrâneo.

1.8 Encalhes de baleias-bicudas na costa brasileira

A maioria dos trabalhos com baleias-bicudas no Brasil limita-se a registros de encalhes e descrição dos indivíduos encontrados. Esses registros, a princípio, são importantes para se obter informações da espécie, uma vez que estudá-las diretamente nem sempre é possível devido ao seu habitat e comportamento (FISCH & PORT, 2013). No entanto, um maior acompanhamento das espécies é necessário para se obter maiores informações sobre seus status de conservação.

Ziphius cavirostris representa a espécie de baleia-bicuda com maior número de encalhes na costa brasileira, com aproximadamente 70 registros entre 1948 e

2020 (Tabela 1 e Figura 10). Outras espécies de baleias-bicudas encontradas são *Mesoplodon hectori* (ZERBINI & SECCHI, 2001), *Mesoplodon mirus* (DE SOUZA *et al.*, 2005), *Mesoplodon densirostris* (CASTELLO & PINEDO, 1980; SIMÕES-LOPES & XIMENEZ, 1993; SECCHI & ZARZUR, 1999), *Mesoplodon layardii* (MN-RJ; MAIA-NOGUEIRA & NUNES, 2005), *Mesoplodon europaeus* (SANTOS *et al.*, 2003; MARTINS *et al.*, 2004), *Mesoplodon grayi* (PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001), *Hyperoodon planifrons* (SIMÕES-LOPES & XIMENEZ, 1993) e *Berardius arnuxii* (SICILIANO & SANTOS, 2003).

Tabela 1 – Encalhes de *Ziphius cavirostris* na costa brasileira no período entre 1948 e 2020 (Continua).

Data	Local	Referência
31/08/1948	Ilha Santo Amaro, SP	CARVALHO, 1969 (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
nov/71	Cabedelo, PB	CARVALHO, 1975 (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
11/09/1974	Praia Grande, SP	SANTOS <i>et al.</i> , 2010
05/09/1978	Praia da Caieira, Fernando de Noronha, PE	LODI & FIORI, 1987 (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
set/87	Camaçari, BA	SIMMAM database (SICILIANO <i>et al.</i> , 1990)
1990	RS	SECCHI <i>et al.</i> , 1993 (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
08/05/1991	Ponta do Cedro, Ilha do Mel, PR	ZANELATTO <i>et al.</i> , 1995
28/05/1992	Praia do Cabo Branco, João Pessoa, PB	LUCENA <i>et al.</i> , 1998 (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
15/04/1993	-	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
01/07/1993	-	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
nov/93	RS	PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001
13/03/1994	Praia do Uruaú, Beberibe, CE	ALVES-JÚNIOR <i>et al.</i> , 1996

Tabela 1 – Encalhes de *Ziphius cavirostris* na costa brasileira no período entre 1948 e 2020 (Continuação).

01/08/1994	-	SIMMAM database
01/01/1996	Praia de Tapioca, Ilha de Itaparica	SIMMAM database (Koga. A.K.)
15/07/1996	Praia do Arembepe, BA	SIMMAM database (Alex Pereira)
jan/97	CE	MEIRELLES <i>et al.</i> , 2009
25/11/1997	Água de Olivença, Ilhéus, BA	BATISTA <i>et al.</i> , 2012 (SIMMAM database - Valéria, Célia, Ramiro, Isabel)
nov/98	Icaraí, Caucaia, CE	MEIRELLES <i>et al.</i> , 2009
29/10/1999	Ilha de Itaparica, BA	Alex Pereira; Ivan Freitas, pers. com. (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
2000s	RS	PRADO <i>et al.</i> , 2016
2000s	RS	PRADO <i>et al.</i> , 2016
2000s	RS	PRADO <i>et al.</i> , 2016
29/01/2000	Mar e Sol, Ilhéus, BA	BATISTA <i>et al.</i> , 2012
18/03/2000	-	SIMMAM database
09/05/2000	RS	PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001
jan/01	CE	MEIRELLES <i>et al.</i> , 2009
fev/01	Praia de Búzios, Nísia Floresta, RN	PANSARD <i>et al.</i> , 2005
jan/02	-	SIMMAM database (CRMA)
fev/03	-	SIMMAM database (Luciano R.A. Souto, Rodrigo Maia Nogueira)
mar/03	-	SIMMAM database (José de Anchieta Cintra da Costa Nunes)
mar/03	-	SIMMAM database (Rodrigo Maia Nogueira, José de A. C. da C. Nunes)
17/03/2003	-	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
06/02/2004	Olivença (Sul), Ilhéus, BA	BATISTA <i>et al.</i> , 2012

Tabela 1 – Encalhes de *Ziphius cavirostris* na costa brasileira no período entre 1948 e 2020 (Continuação).

10/02/2004	-	SIMMAM database
mar/04	Praia de Camurupim, Nísia Floresta, RN	PANSARD <i>et al.</i> , 2005
mar/04	-	SIMMAM database (Mateus Carvalho)
06/04/2004	-	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
22/04/2004	Praia da Conceição / Fernando de Noronha, PE	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
22/04/2004	-	SIMMAM database (Paszkievicz. E./Silva Jr. J.M.)
fev/05	Cabo de São Roque, Maxaranguape, RN	PANSARD <i>et al.</i> , 2005
mar/05	CE	MEIRELLES <i>et al.</i> , 2009
14/02/2006	Praia do Miriri, Rio Tinto, PB	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
10 ou 11/2007	Ilha da Trindade, ES	MAYORGA <i>et al.</i> , 2010
06/11/2007	-	SIMMAM database (Mayorga, L.F.S.P./Barbosa, L.A./Bhering, R.C.C.)
20/03/2008	Praia de Iracema, Fortaleza, CE	AQUASIS
22/10/2008	Pontal do Maceió, Fortim, CE	AQUASIS
2002-2009	RS	MAYORGA <i>et al.</i> , 2010
2002-2009	RS	MAYORGA <i>et al.</i> , 2010
10/02/2009	Baia Formosa, RN	NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2010
22/03/2009	-	SIMMAM database (Fábia de Oliveira Luna/José Zanon de Oliveira Passavante)
04/08/2009	Praia de Itaparica, Vila Velha, ES	MAYORGA <i>et al.</i> , 2010
2010-2013	RS	PRADO <i>et al.</i> , 2016
1991-2010	Banco de Abrolhos, BA	GROCH <i>et al.</i> , 2010

Tabela 1 – Encalhes de *Ziphius cavirostris* na costa brasileira no período entre 1948 e 2020 (Conclusão).

jan/10	Praia de Ipitanga, Lauro de Freitas, BA	OLIVEIRA & SOUTO, 2010
jan/10	-	SIMMAM database (Luciano R. Alardo Souto, Luiz Boaventura)
29/03/2010	Arpoeiras, Acaraú, CE	AQUASIS
21/12/2011	Praia da Cidreira, RS	FEBRONIO <i>et al.</i> , 2021
13/06/2012	Pirambu, SE	FEBRONIO <i>et al.</i> , 2021
02/04/2013	Praia dos Cabrito, Ilha da Trindade, ES	FISCH & PORT, 2013
out/14	Praia de Itaóca, ES	JERDY <i>et al.</i> , 2021
28/04/2015	Praia dos Patos, Itarema, CE	AQUASIS
14/02/2020	Praia Guarda do Embaú	FEBRONIO <i>et al.</i> , 2021
03/02/2021	-	SIMMAM database (Everton Ricardo Santos da Silva)
13/03/2021	-	SIMMAM database (EcoAssociados)
-	Ponta de Pedras, Pernambuco	ZANELATTO <i>et al.</i> , 1995 (apud PINEDO, LAMMARDO & BARRETO, 2001)
-	-	SILVA <i>et al.</i> , 2021
-	-	SILVA <i>et al.</i> , 2021
-	Curimãs, Barroquinha, CE	AQUASIS
-	Canoa Quebrada, Aracati, CE	AQUASIS

Uma série de análises junto aos indivíduos encalhados foram conduzidas ao longo dos últimos anos e sua relação com as atividades antrópicas nas regiões de ocorrência foi estudada. Nascimento *et al.* (2010) afirmaram que pescadores teriam utilizado a gordura de um indivíduo de *Ziphius* para obtenção de “engodo” (atrativo), utilizado na pesca do peixe-voador. Já um espécime de *Mesoplodon europaeus* teve sua carne salgada para consumo dos pescadores (MARTINS *et al.*, 2004). A ingestão de restos de plástico foi relatada para duas espécies na região: *Mesoplodon densirostris* (SECCHI & ZARZUR, 1999) e *Mesoplodon mirus* (SOUZA *et al.*, 2005).

Em 2016, foram encontrados pedaços de rede de pesca obstruindo o esôfago de uma fêmea grávida de *Ziphius cavirostris* (BORTOLOTTO *et al.*, 2016). Não foi possível determinar a origem da rede de pesca, mas esse foi o primeiro registro de impacto antropogênico direto nessas espécies de cetáceos (BORTOLOTTO *et al.*, 2016).

Recentemente, foram observados os primeiros registros de infecção por *Phyllobothrium delphini* e *Crassicauda sp.* e *Crassicauda anthonyi* em *Ziphius* no Brasil (FEBRONIO *et al.*, 2021; JERDY *et al.*, 2022). Este é o primeiro registro de infecção por *P. delphini* em *Ziphius* no mundo (JERDY *et al.*, 2022). *Crassicauda anthonyi* foi descrita pela primeira vez em uma espécie de *Mesoplodon* na França, sendo encontrada posteriormente em *Ziphius* em regiões como Austrália e Atlântico Norte e Pacífico Norte (FEBRONIO *et al.*, 2021). Estes, portanto, são os primeiros registros do parasita no Atlântico Sul e indicam a necessidade de maiores estudos para determinar o perfil epidemiológico dessas espécies de cetáceos na região, e para tomar possíveis medidas para sua conservação (FEBRONIO *et al.*, 2021).

1.9 Diversidade genética de *Ziphius cavirostris*

Ziphius cavirostris pode se apresentar curioso por pequenas embarcações, mas costuma apresentar comportamento evasivo e mergulha ao ser aproximado por elas e pode reagir ao seu barulho a grandes distâncias (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015; BAIRD, 2017). Desta forma, amostras para análises genéticas são extremamente raras e de difícil obtenção, e a maioria dos estudos está concentrada em áreas de alta densidade e abundância da espécie, como no Mediterrâneo, onde pode ser encontrada regularmente, no Havaí (EUA), nas Ilhas Canárias, na Carolina do Norte (EUA) e na Ilha de Guadalupe (México) (HOOKER *et al.*, 2019).

Dalebout *et al.* (2004) sequenciaram espécimes de todas as espécies descritas até então da família Ziphiidae para criar a primeira taxonomia molecular de baleias-bicudas e auxiliar na identificação das espécies. No ano seguinte, Dalebout *et al.* (2005) realizaram o primeiro estudo para avaliar a diversidade genética global da região controle do DNA mitocondrial de *Ziphius*. Foi confirmado que o gênero é monotípico e monofilético e apresenta baixa diversidade genética ($\pi = 1,27\% \pm 0,723\%$).

Ao avaliar a diversidade de *Ziphius*, foram encontrados 33 haplótipos e 23 sítios polimórficos, em um fragmento de 290 pb, agrupados em quatro grupos com forte padrão filogeográfico – grupo “AG”, que representava 80% dos haplótipos do Hemisfério Sul, grupo “HS”, que representava 81% do Pacífico Norte, e grupos “T” e “UZ”, que representavam 39% e 36% do Atlântico Norte, respectivamente (DALEBOUT *et al.*, 2005). A Análise de Variância Molecular (AMOVA) mostrou uma forte diferenciação entre as bacias oceânicas, explicando mais de 42% da variação total, com apenas quatro haplótipos sendo observados nas três regiões e um número similar de haplótipos exclusivos por região (DALEBOUT *et al.*, 2005).

Apesar de ser o maior estudo realizado com espécies de baleias-bicudas até então, essa análise não contava com nenhum espécime do Atlântico Sul, não sendo possível, portanto, estabelecer uma conexão entre o Hemisfério Sul e o Atlântico Norte e avaliar o fluxo gênico entre as regiões. Otley, Smith e Dalebout (2012) descreveram pela primeira vez haplótipos do Atlântico Sul, ao analisarem três espécimes que encalharam nas Ilhas Malvinas. Cada indivíduo apresentava haplótipos diferentes, pertencentes ao grupo “AG”, sendo pelo menos dois destes ainda não descritos.

Morin *et al.* (2012) sequenciaram o mitogenoma completo de 22 indivíduos do Atlântico Norte e do Pacífico, mas as análises filogenéticas mostraram que essas regiões não eram monofiléticas. Foram formados três clados, dos quais apenas um possuía haplótipos de uma única região (Bahamas). Os dois clados restantes apresentavam indivíduos das duas regiões, apesar de haver uma separação clara entre os haplótipos dos dois oceanos em um deles. Ao contrário do observado por Dalebout *et al.* (2005), o baixo padrão filogeográfico encontrado indicaria múltiplos episódios de fluxo gênico nos últimos 2,5 Ma, e os autores sugerem mais estudos para inferir fluxo gênico atual (MORIN *et al.*, 2012).

O primeiro estudo molecular com espécies de baleias-bicudas no Brasil foi realizado em 2021, com objetivo de avaliar se o DNA barcoding seria eficiente em identificar espécies de cetáceos (SILVA *et al.*, 2021). Entretanto, nenhum estudo populacional foi realizado com essas espécies. O grande número de registros de encalhes de *Ziphius* no Brasil, quando comparado à outras espécies da família, parece indicar que a ocorrência da espécie na região seja mais comum do que se pensava (BATISTA *et al.*, 2012), e é fundamental conhecer melhor a espécie, a sua diversidade e ameaças na região. Assim, o presente estudo é o primeiro a obter in-

formações da região controle do DNA mitocondrial de *Ziphius* no Brasil e a incluir sequências do Atlântico Sul na análise populacional mundial realizada para a espécie.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar a estruturação populacional de *Ziphius cavirostris* com base na região controle (D-loop) do DNA mitocondrial.

2.2 Objetivos específicos

- Confirmar por análises moleculares a identificação dos espécimes coletados encalhados no litoral brasileiro utilizando o marcador mitocondrial citocromo b (CytB);
- Analisar a diversidade genética da região controle (D-loop) do DNA mitocondrial dos espécimes brasileiros;
- Utilizar as novas sequências obtidas e sequências disponíveis em literatura e depositadas em bases de dados públicas para analisar a diversidade genética da região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial de *Ziphius cavirostris*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material utilizado

Devido à dificuldade de obtenção de amostras de *Ziphius cavirostris*, foi realizado um levantamento bibliográfico no Google Scholar e no Scopus para encontrar os registros de encalhe da espécie no Brasil e determinar instituições, grupos ou coleções que pudessem ter e ceder amostras. Sete grupos/museus foram contactados, porém apenas a ONG Aquasis, Ceará, tinha amostras disponíveis para o estudo.

Assim, foram analisadas quatro amostras de tecido de espécimes supostamente pertencentes a espécie *Ziphius cavirostris* (Tabela 2). Os indivíduos foram encontrados em avançado estágio de decomposição em praias do Ceará, Brasil, durante monitoramento regular ou por meio de ligação de colaboradores (Figura 10). As amostras de tecido foram preservadas em álcool absoluto, armazenadas em freezer a -20 °C e fazem parte da coleção da Aquasis (Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos) – uma ONG criada há quase 30 anos, que possui um Programa de Mamíferos Marinhos com o objetivo de estudar, resgatar e reabilitar espécies de mamíferos aquáticos que ocorrem no Ceará.

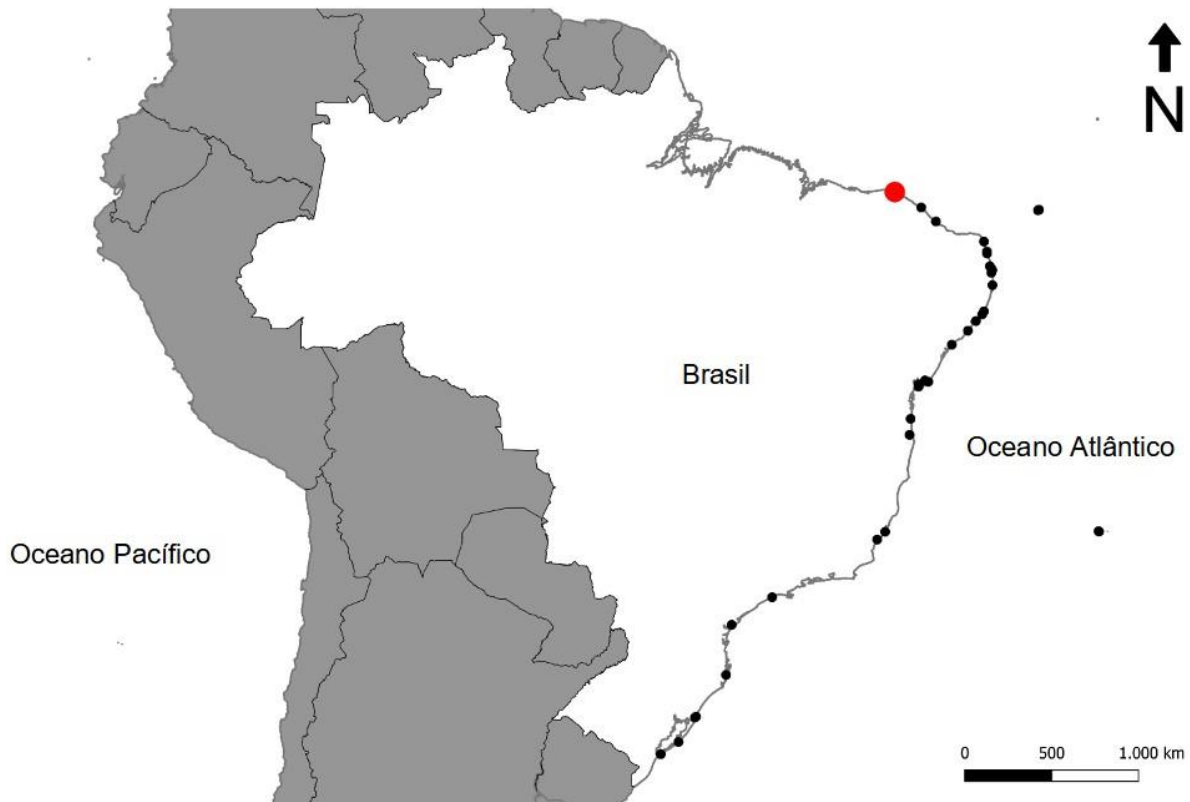
Tabela 2 – Espécimes de *Ziphius cavirostris* encontrados em praias do Ceará, Brasil.

ID	AQUASIS	Registro	Sexo	Data	CT (m)	Classe etária	Local	Código
Z1	02C0811/371	M	29/03/2010	2,17	Filhote	Arpoeiras, Acaraú, Ceará	4	
Z2	02C0812/305	F	20/03/2008	4,7	Juvenil	Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará	4	
Z3	02C0810/315	ND	22/10/2008	5,2	Juvenil	Pontal do Maceió, Fortim, Ceará	4	
Z4	02C0810/683	ND	28/04/2015	3	ND	Praia de Patos, Itarema, Ceará	5	

Legenda: ID – identificação utilizada no presente estudo; M – macho; F – fêmea; ND – não determinado; CT – comprimento total do espécime; Código – estágio de decomposição do indivíduo, código 1 (animais encalhados vivos); código 2 (carcaças frescas); código 3 (animais em moderado estado de

decomposição); código 4 (animais em avançado estado de decomposição) e código 5 (restos mortais e em processo de mumificação), segundo Geraci & Lounsbury, 2005).

Figura 10 – Mapa dos encalhes de *Ziphius cavirostris* entre 1948 e 2020.



Legenda: Registros históricos de encalhes (em preto); localidades dos indivíduos analisados no nosso estudo estão sinalizadas (em vermelho). Fonte: A autora, 2022.

3.2 Extração, amplificação e sequenciamento do DNA

As etapas de extração, amplificação e sequenciamento do DNA foram realizadas no Laboratório de Diagnósticos por DNA (LDD – UERJ). O DNA das amostras foi obtido por meio da extração por fenol/clorofórmio, que se baseia na afinidade das proteínas por solventes orgânicos. Ao adicionar fenol, as proteínas são desnaturadas, separando-se do DNA, que posteriormente é concentrado e precipitado pela adição de etanol absoluto (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Foram amplificadas duas regiões do DNA mitocondrial: um fragmento de 500 pb da porção 5' da região controle do DNA mitocondrial (D-Loop), utilizando os primers M13Dlp1.5-L e Dlp5-H (Tabelas 3 e 4), e um fragmento de 424 pb do citocromo b (cytB), utilizando os primers GLUDG-L e CB2-H (Tabelas 3 e 5). O produto do PCR foi separado por eletroforese em gel de agarose 1,5 % para confirmar a amplificação (Figura 11).

Tabela 3 – Primers utilizados para a amplificação das regiões D-Loop e CytB.

Primers	Sequência (5'-3')	Referência
D-loop		
M13Dlp1. 5-L	TGTAACGACGGCCAGTTCACCCAAAG- CTGRARTTCTA	DALEBOUT <i>et al.</i> 1998
Dlp5-H	CCATCGWGATGTCTTATTTAAGRGGAA	DALEBOUT <i>et al.</i> 1998
cyt-b		
GLUDG-L	TGACTTGAARAACCAYCGTTG	PALUMBI, 1996
CB2-H	CCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA	PALUMBI, 1996

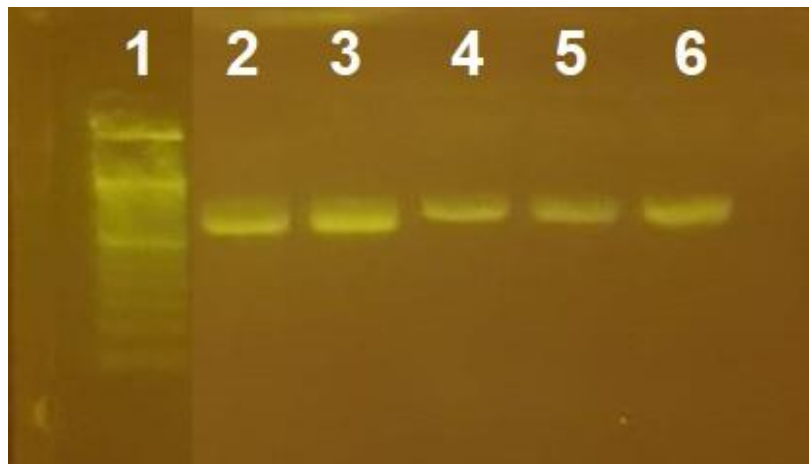
Tabela 4 – Condições termocíclicas utilizadas nas reações de amplificação do DLoop.

Temperatura	Duração	Ciclos
94 °C	2 minutos	
94 °C	30 segundos	
52 °C	30 segundos	35 ciclos
72 °C	40 segundos	
72 °C	2 minutos	

Tabela 5 – Condições termocíclicas utilizadas nas reações de amplificação do CytB.

Temperatura	Duração	Ciclos
95 °C	3 minutos	
95 °C	30 segundos	
50 °C	30 segundos	35 ciclos
72 °C	30 segundos	
72 °C	10 minutos	

Figura 11 – Exemplo de gel de agarose 1,5 % mostrando o resultado das ampliações das regiões analisadas no presente estudo (neste exemplo, D-Loop).



Legenda: 1 – peso molecular de 50 bp; 2 e 3 – controles positivos da reação de PCR; 4 – Amostra Z2; 5 – Amostra Z3; 6 – Amostras Z4.

O produto amplificado foi purificado utilizando ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems™), seguindo as condições especificadas pelo fabricante (Tabela 6). Após a purificação, foram sequenciadas as fitas senso e anti-senso do D-Loop e do CytB de cada amostra, utilizando os respectivos primers. A reação foi realizada utilizando BigDye® Terminator v.3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Inc.) segundo as condições especificadas na Tabela 7.

Tabela 6 – Condições termocíclicas utilizadas na reação de purificação dos produtos de PCR.

Temperatura	Duração
37 °C	15 minutos
80 °C	15 minutos

Tabela 7 – Condições termocíclicas utilizadas na reação de sequenciamento do DLoop e CytB.

Temperatura	Tempo	Ciclos
95 °C	10 segundos	
50 °C	5 segundos	25 ciclos
60 °C	4 minutos	

O produto do sequenciamento foi purificado em resina Sephadex® G-50 de acordo com Sambrook *et al.* (1989). Ao filtrado foi adicionado formamida (Hi-Di Formamide, Applied Biosystems), e a mistura foi aplicada na placa de sequenciamento. As amostras foram submetidas a eletroforese capilar no sequenciador automático ABI 3500 Series Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Inc.). O programa Geneious 4.8.2 (<https://www.geneious.com>) foi utilizado para a verificação e edição das sequências dos espécimes brasileiros e para obtenção das sequências consenso, e o software MEGA 11 (TAMURA, STECHER & KUMAR, 2021) foi utilizado para o alinhamento das sequências.

3.3 Identificação molecular com base no citocromo b (CytB)

Sequências do citocromo b de todas as espécies da família Ziphiidae foram obtidas no Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para criar um alinhamento (n=103; ferramenta de alinhamento ClustalW) de 279 pb que nos permitisse identificar os espécimes brasileiros (Tabela 8). Essa região foi escolhida porque é uma região altamente informativa, possuindo polimorfismos espécie-específicos, e que, por isso, possibilita a identificação utilizando fragmentos pequenos e de amostras muito degradadas (ANDREJEVIC *et al.*, 2019; FARAG *et al.*, 2020).

Uma árvore de Máxima Verossimilhança (ML) foi reconstruída com base no alinhamento, seguindo o modelo de substituição GTR+G+I e utilizando o método de Bootstrap para avaliar a robustez da árvore obtida (1000 reamostragens). O modelo de substituição mais adequado foi selecionado utilizando o MEGA 11 baseado no Critério de Informação de Akaike (AIC).

Tabela 8 – Número de acesso e referência das sequências de CytB disponíveis no Genbank utilizadas para identificação dos exemplares analisados (Continua).

Genbank	Referência	Genbank	Referência
<i>Ziphius cavirostris</i>		<i>Indopacetus pacificus</i>	
AY579561.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	KY364702.1	Submissão direta
AY579562.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	<i>Berardius bairdii</i>	

Tabela 8 – Número de acesso e referência das sequências de CytB disponíveis no Genbank utilizadas para identificação dos exemplares analisados (Continuação).

KC776696.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	NC_005274.1	ARNASON & GULLBERG, 1996
KC776697.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	X92541.1	ARNASON & GULLBERG, 1996
KC776698.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Berardius arnuxii</i>	
KC776699.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579566.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776700.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	HQ400646.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
KC776701.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Mesoplodon stejnegeri</i>	
KC776702.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	MG000980.1	LEE <i>et al.</i> , 2018
KC776703.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579553.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776704.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579554.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776705.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Mesoplodon hectori</i>	
KC776706.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY228110.1	CAPPOZZO <i>et al.</i> , 2005
KC776707.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY228109.1	CAPPOZZO <i>et al.</i> , 2005
KC776708.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	HQ400652.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
KC776709.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579547.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776710.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579548.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776711.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Mesoplodon carlhubbsi</i>	
KC776712.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579539.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776713.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579538.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KC776714.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Mesoplodon europaeus</i>	
KC776715.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	KC776693.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012
KC776716.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	X92537.1	ARNASON & GULLBERG, 1996
KC776717.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	U13139.1	MILINKOVITCH, MEYER & POWELL, 1994
LN997430.1	MONTELLI <i>et al.</i> , 2016	KC776694.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012

Tabela 8 – Número de acesso e referência das sequências de CytB disponíveis no Genbank utilizadas para identificação dos exemplares analisados (Continuação).

NC_021435.1	MORIN <i>et al.</i> , 2012	KC776690.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012
X92540.1	ARNASON & GULLBERG, 1996	KC776689.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012
AF304075.1	MILINKOVITCH, MEYER & POWELL, 1994	Mesoplodon bidens	
Tasmacetus shepherdi		MH922777.1	EINFELDT, PATERSON & FEYRER, 2019
AY579564.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	X92538.1	ARNASON & GULLBERG, 1996
AF334484.1	HAMILTON <i>et al.</i> , 2001	AY579535.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
Mesoplodon traversii		AY579534.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
JX901029.1	THOMPSON <i>et al.</i> , 2012	Mesoplodon hotaula	
Mesoplodon perrini		KF027307.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2014
AF441263.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2002	KC951572.1	LACSAMANA <i>et al.</i> , 2015
AF441262.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2002	JX470546.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2007
AF441260.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2002	KF027306.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2014
AF441259.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2002	JX470547.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2007
Mesoplodon bowdoini		Mesoplodon layardii	
AY579536.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	AY579549.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
Mesoplodon peruvianus		HQ400654.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
AF492414.1	VAN HELDEN <i>et al.</i> , 2002	HQ400659.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
AF304074.1	MILINKOVITCH, MEYER & POWELL, 1994	HQ400658.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
Mesoplodon ginkgodens		HQ400655.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
KR534596.1	YAO, CHEN & HSIAO, 2015	Mesoplodon mirus	
MH019964.1	KIM <i>et al.</i> , 2019	KF435028.1	Submissão direta
AY579544.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	MH922776.1	EINFELDT, PATERSON & FEYRER, 2019

Tabela 8 – Número de acesso e referência das sequências de CytB disponíveis no Genbank utilizadas para identificação dos exemplares analisados (Conclusão).

KF027308.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2014	AY579551.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KF027309.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2014	<i>Hyperoodon ampullatus</i>	
<i>Mesoplodon densirostris</i>		MN536367.1	FEYRER <i>et al.</i> , 2019
KF032877.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012	MN536368.1	FEYRER <i>et al.</i> , 2019
KF032876.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Hyperoodon planifrons</i>	
KF032874.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012	AY579560.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004
KF032872.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012	HQ400647.1	HQ400658.1
KF032871.2	MORIN <i>et al.</i> , 2012	<i>Platanista minor</i>	
<i>Mesoplodon grayi</i>		NC_005275.1	ARNASON & GULLBERG, 1996
HQ400650.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012	X92543.1	ARNASON & GULLBERG, 1996
AY579546.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	<i>Platanista gangetica</i>	
AY579545.1	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	MW468664.1	Submissão direta
KF981442.1	THOMPSON <i>et al.</i> , 2014	MN896023.1	KUMAR <i>et al.</i> , 2021
HQ400651.1	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012		

3.4 Análise da estruturação genética com base na região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial

Sequências da região controle (D-Loop) de *Ziphius cavirostris* foram obtidas no Genbank (Tabela 9) e selecionadas para análise. O software MEGA 11 foi utilizado para o alinhamento de um fragmento de 290 pb (n=126; ferramenta de alinhamento ClustalW), que inclui a região mais variável da região controle em baleias-bicudas (DALEBOUT *et al.*, 2004).

Tabela 9 – Número de acesso e referência das sequências disponíveis no Genbank utilizadas na análise da região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial (Continua).

Genbank	Referência	Genbank	Referência
AB610403	KITAMURA <i>et al.</i> , 2013	DQ068247	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005
AB610404	KITAMURA <i>et al.</i> , 2013	DQ068248	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005
AF036222	DALEBOUT <i>et al.</i> , 1998	HQ400645	OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012
AF036223	DALEBOUT <i>et al.</i> , 1998	KC776696	MORIN <i>et al.</i> , 2012
AF516679	Submissão direta	KC776697	MORIN <i>et al.</i> , 2012
AY029230	Submissão direta	KC776698	MORIN <i>et al.</i> , 2012
AY579530	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	KC776699	MORIN <i>et al.</i> , 2012
AY579531	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2004	KC776700	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068216	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776701	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068217	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776702	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068218	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776703	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068219	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776704	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068220	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776705	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068221	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776706	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068223	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776707	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068224	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776708	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068225	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776709	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068226	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776710	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068227	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776711	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068228	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776712	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068229	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776713	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068230	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776714	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068231	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776715	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068232	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776716	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068233	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KC776717	MORIN <i>et al.</i> , 2012
DQ068234	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KF281707	ALFONSI <i>et al.</i> , 2013
DQ068235	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	KY963295	YUSMALINDA <i>et al.</i> , 2017
DQ068236	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	LN997430	MONTELLI <i>et al.</i> , 2016

Tabela 9 – Número de acesso e referência das sequências disponíveis no Genbank utilizadas na análise da região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial (Conclusão).

DQ068238	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	OM333227*	Presente trabalho
DQ068239	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	OM333228*	Presente trabalho
DQ068240	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	OM333229*	Presente trabalho
DQ068241	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	U70452	HENSHAW <i>et al.</i> , 1997
DQ068242	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	U70453	HENSHAW <i>et al.</i> , 1997
DQ068243	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	U70454	HENSHAW <i>et al.</i> , 1997
DQ068244	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005	U70455	HENSHAW <i>et al.</i> , 1997
DQ068245	DALEBOUT <i>et al.</i> , 2005		

As sequências foram agrupadas em regiões geográficas segundo Dalebout *et al.* (2005) (Tabela 10). Uma rede de haplótipos Median-Joining foi gerada no software PopArt (BANDELT, FORSTER & RÖHL, 1999). O software Arlequin (EXCOFFIER & LISCHER, 2010) foi utilizado para obter os índices de diversidade (diversidades nucleotídica e haplotípica) e para realizar a Análise de Variância Molecular (AMO-VA), para investigar a diversidade entre populações.

Tabela 10 – Agrupamento das sequências por regiões. As sequências foram separadas de acordo com o local de enalhe dos indivíduos.

Regiões	Total de indivíduos
Atlântico Norte	46
Oeste (WNA)	24
Leste (ENA)	9
Mediterrâneo (MED)	13
Pacífico Norte	46
Oeste (WNP)	11
Centro/Leste (ECNP)	35
Hemisfério Sul	33
Índico (IO)	6
Pacífico (SP)	23
Atlântico Sudoeste (WSA)	5

3.5 Reconstrução filogenética

O software MEGA 11 foi utilizado para calcular o Critério de Informação de *Akaike* (AIC) e para selecionar o modelo de substituição nucleotídica mais adequado ao conjunto de dados. Duas metodologias para reconstrução filogenética foram utilizadas – Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI). A Máxima Verossimilhança foi realizada no software MEGA 11, seguindo o modelo de substituição GTR+G+I e utilizando o método de Bootstrap para avaliar a robustez da árvore obtida (1000 reamostragens). A Inferência Bayesiana foi realizada no MrBayes (HUELSENBECK & RONQUIST, 2001), seguindo o mesmo modelo de substituição. Cadeias MCMC (Monte Carlo Markov Chains) foram geradas por 1.500.000 gerações, com amostragens a cada 1.000 gerações, iniciando em uma árvore aleatória. As 25% primeiras amostragens foram descartadas como “burn-in”. Os resultados da Máxima Verossimilhança foram analisados no MEGA 11 e da Inferência Bayesiana no software FigTree 1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

4 RESULTADOS

4.1 Identificação espécimes brasileiros com base no citocromo b

O sequenciamento do CytB resultou em uma sequência de 382 pb para as amostras analisadas e não foram encontrados polimorfismos (Figura 12). As sequências dos indivíduos no Ceará agruparam com as sequências de *Ziphius cavirostris* disponíveis no banco de dados com alto suporte (Figura 13). Apesar do avançado grau de decomposição dos espécimes quando encontrados, nosso resultado corrobora a identificação dos espécimes como *Ziphius cavirostris*.

Não foi possível sequenciar o CytB de uma das amostras (Z1). No entanto, a análise da região controle do DNA mitocondrial permitiu a confirmação de sua identificação como *Ziphius cavirostris* (Figura 14).

Figura 12 – Eletroferograma de exemplo da qualidade de sequenciamento obtido para o citocromo b (CytB) de *Ziphius cavirostris*.

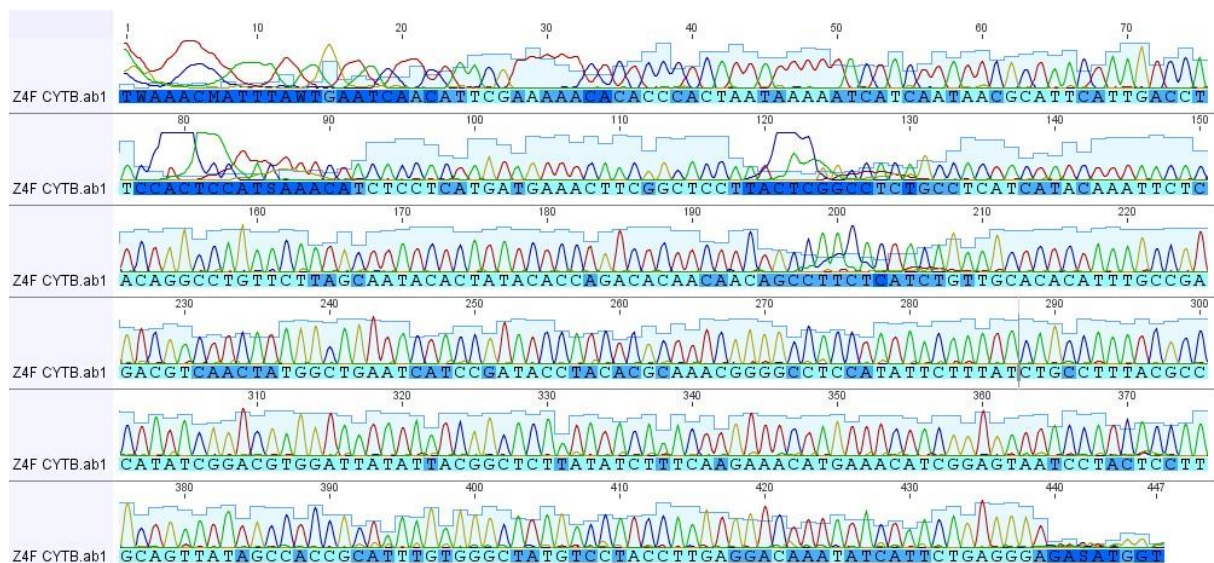
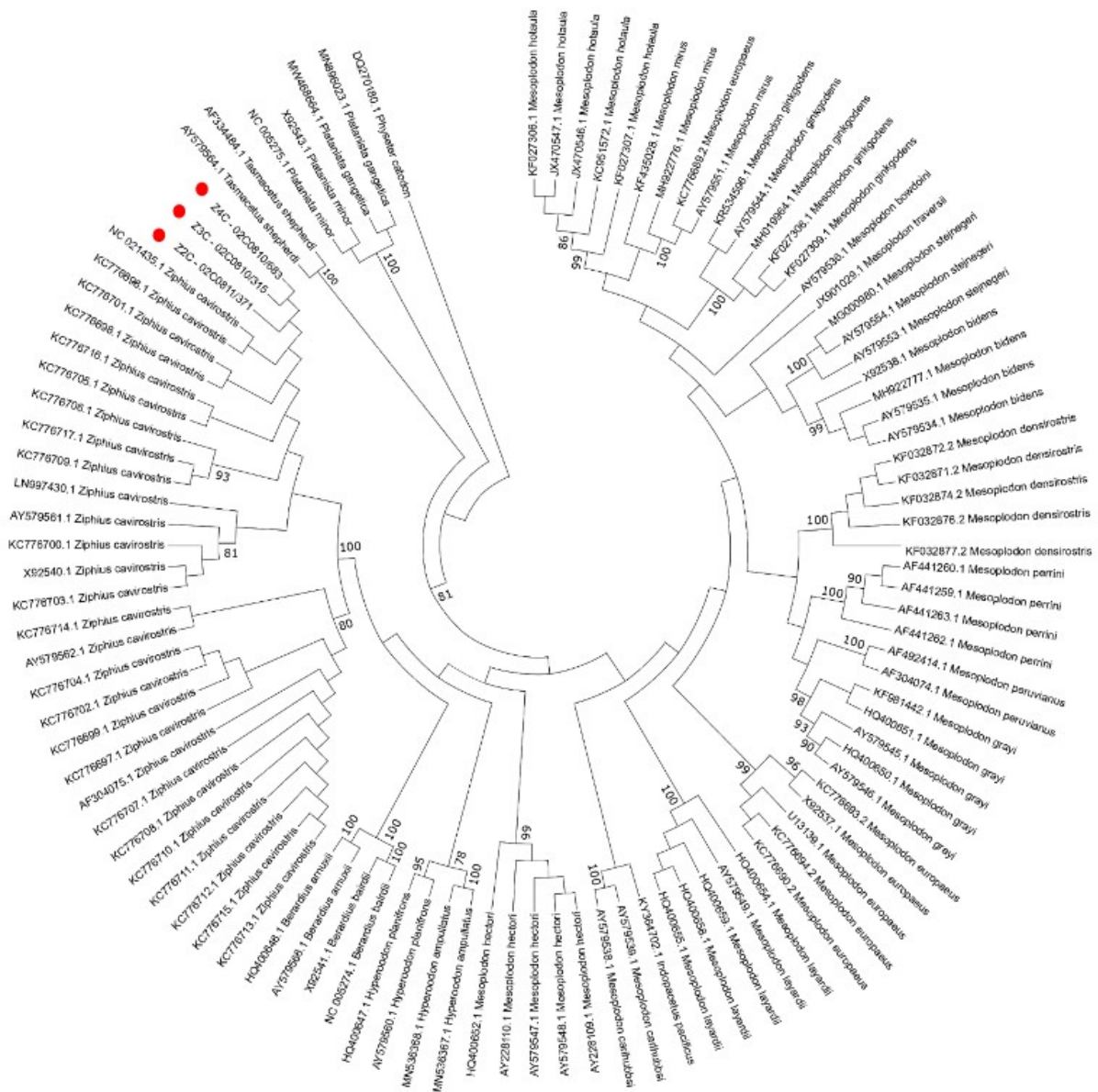


Figura 13 – Árvore de Máxima Verossimilhança (GTR+G+I) com base no CytB da Família Ziphiidae.

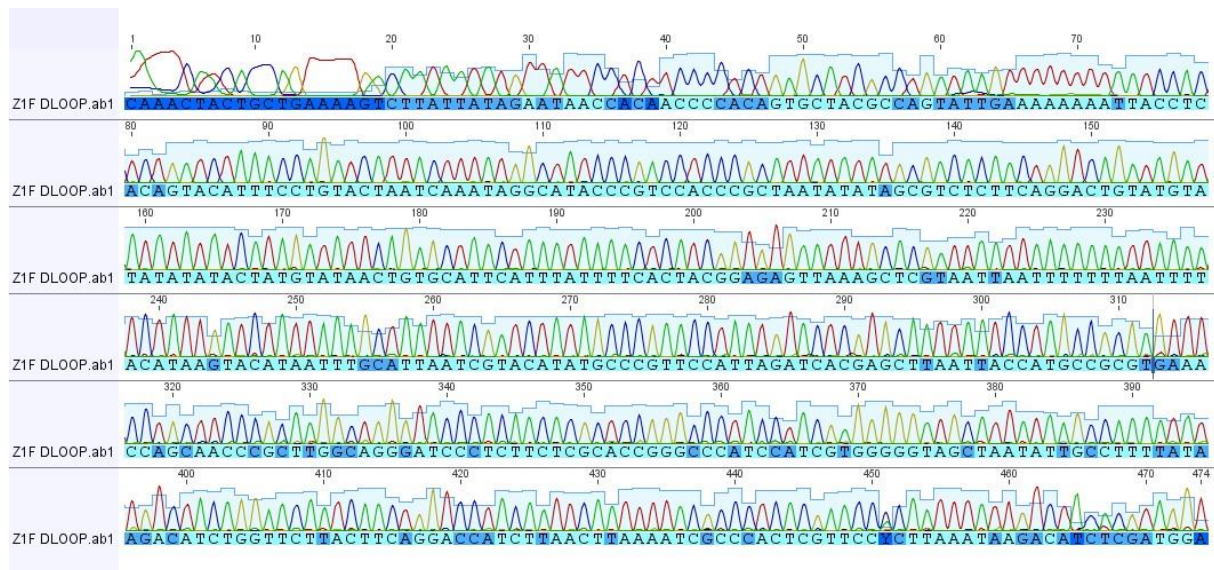


Legenda: Os gêneros *Platania* e *Physeter* foram utilizados como grupo-externo da análise. Os exemplares brasileiros encontram-se sinalizados em vermelho.

4.2 Estruturação genética com base na região controle do DNA mitocondrial

O sequenciamento do D-Loop gerou uma sequência consenso de aproximadamente 490 bp para as amostras de *Ziphius* encontradas no Ceará (Figura 14). Todos os indivíduos compartilhavam o mesmo haplótipo e não foram observados polimorfismos na região amplificada.

Figura 14 – Eletroferograma de exemplo da qualidade de sequenciamento obtido para a região controle (D-Loop) de *Ziphius cavirostris*.



As 126 seqüências de D-Loop utilizadas resultaram em 30 haplótipos, todos já descritos anteriormente (DALEBOUT *et al.*, 2005; OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012), com 20 sítios polimórficos. A diversidade haplotípica encontrada foi 0,9651 +/- 0,0085 e a diversidade nucleotídica foi 0,011818 +/- 0,006734. Os valores observados são inferiores aos encontrados no estudo anterior (DALEBOUT *et al.*, 2005), onde foram observados 33 haplótipos e 23 sítios polimórficos. Alguns haplótipos descritos e depositados no Genbank correspondem a fragmentos menores do que 490 pb, e a inclusão destes resultava na perda de sítios polimórficos e em um número total de haplótipos ainda menor. Assim, a exclusão desses haplótipos resulta no número máximo de haplótipos possíveis.

Todas as amostras brasileiras compartilham o haplótipo A, predominantemente observado no Hemisfério Sul. A maior parte dos haplótipos observados (83,3%) está restrita a uma bacia oceânica (Atlântico Norte, n = 8; Pacífico Norte, n = 8; Hemisfério Sul, n = 9) (Figura 15). Entretanto, 64% destes são representados por apenas um espécime. O haplótipo L é o único haplótipo observado nas três bacias oceânicas. Este haplótipo é também o mais frequentemente observado no Pacífico Norte, seguido do haplótipo E. No Hemisfério Sul, o haplótipo A é o mais frequentemente observado. No Atlântico Norte, o haplótipo mais representativo (Haplótipo T3) foi observado unicamente durante um encalhe em massa no Mediterrâneo (DALEBOUT *et al.*, 2005).

O resultado da AMOVA indica que a maior fonte de diversidade provém da variação dentro das bacias oceânicas (Tabela 10). Análises par-a-par, entretanto, indicam que as três bacias oceânicas são suficientemente diferentes umas das outras (Atlântico Norte vs. Pacífico Norte - $F_{ST} = 0,34821$; $P < 0,0001$; Atlântico Norte vs. Hemisfério Sul - $F_{ST} = 0,36810$; $P < 0,0001$; Pacífico Norte vs. Hemisfério Sul - $F_{ST} = 0,39679$; $P < 0,0001$). É possível observar certo agrupamento filogeográfico observando as sequências do Atlântico Norte, apesar do agrupamento entre sequências do Pacífico Norte e Hemisfério Sul não ser tão bem demarcado (Figura 15).

Figura 15 – Rede de haplótipos Median-Joining com base na região controle do DNA mitocondrial de *Ziphius cavirostris*.

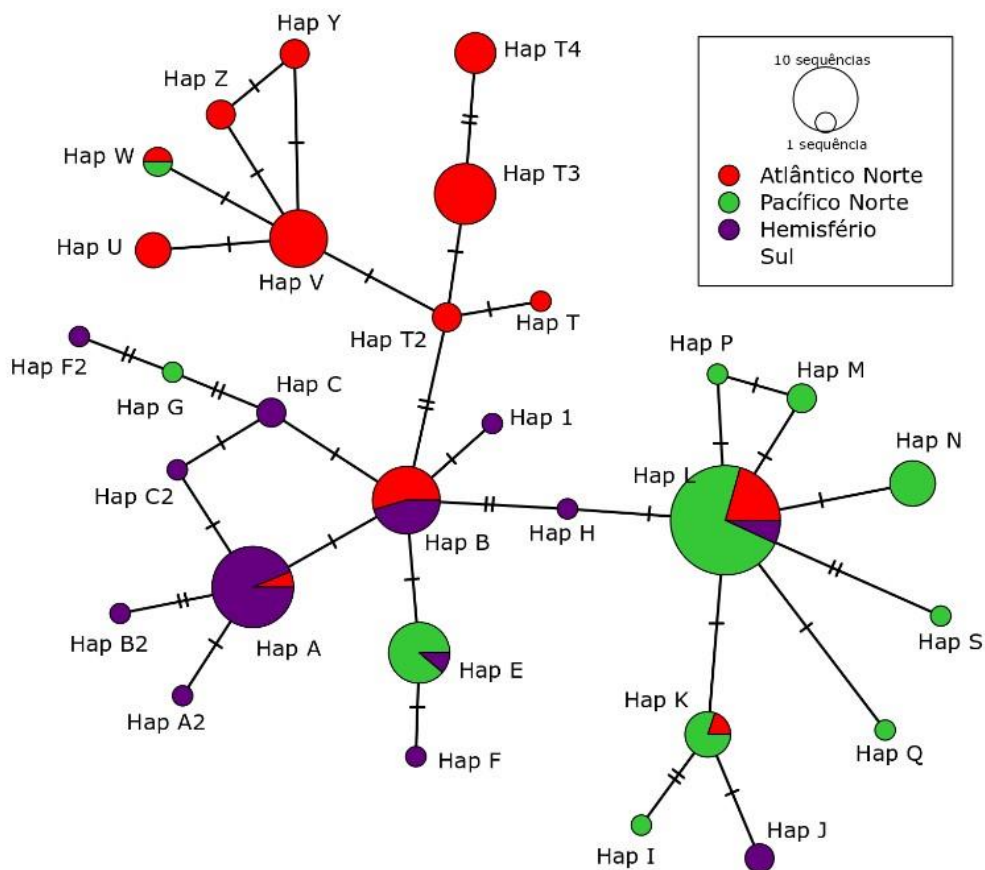


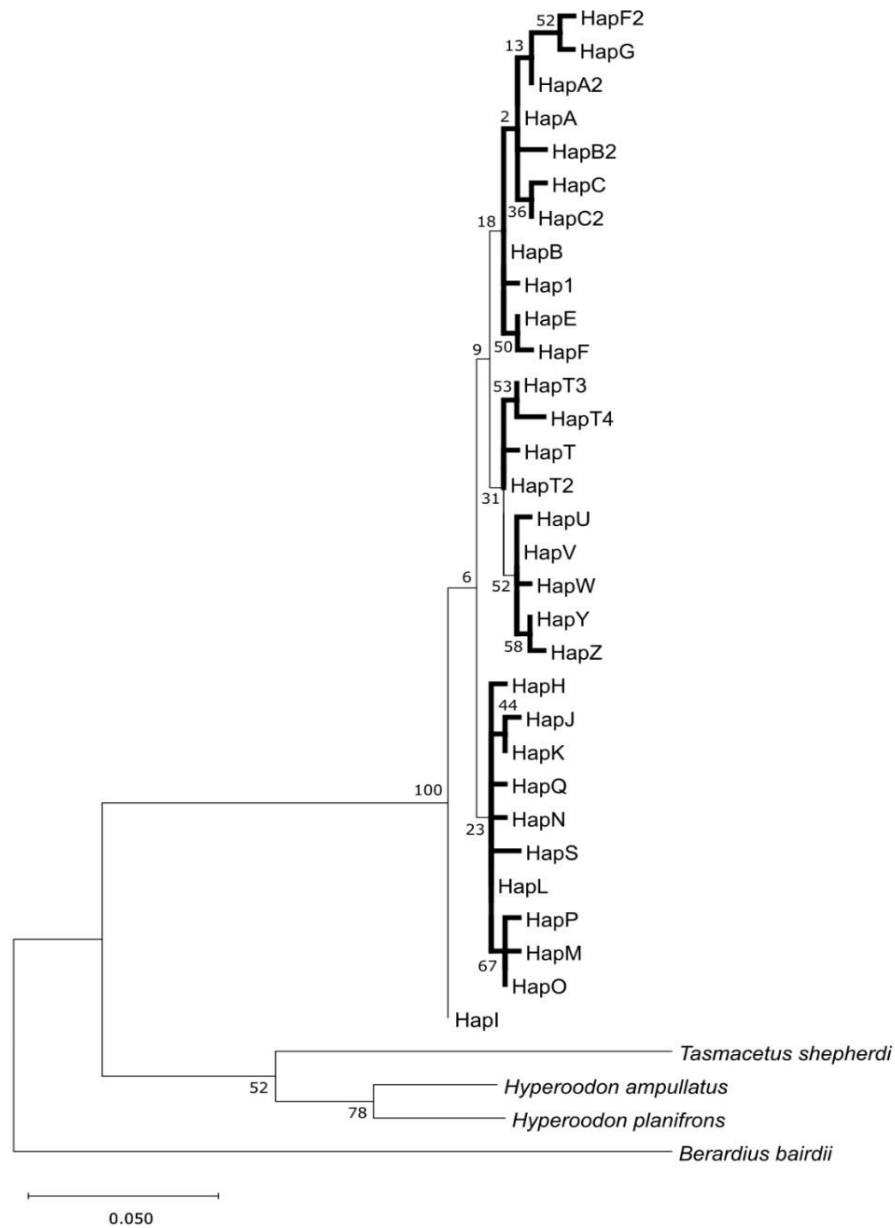
Tabela 11 – Resultado da AMOVA. Agrupamentos realizados de acordo com Dalebout *et al.* (2005).

Fonte da Variação	Variação (%)	Índice de Fixação	p values (10100 permutações)
Entre Bacias Oceânicas	28,67	0,28671	0,00684+/-0,00271
Entre Populações das Bacias Oceânicas	16,39	0,22983	p<0,0001
Dentro das Populações	54,94	0,45064	p<0,0001

4.3 Reconstrução filogenética

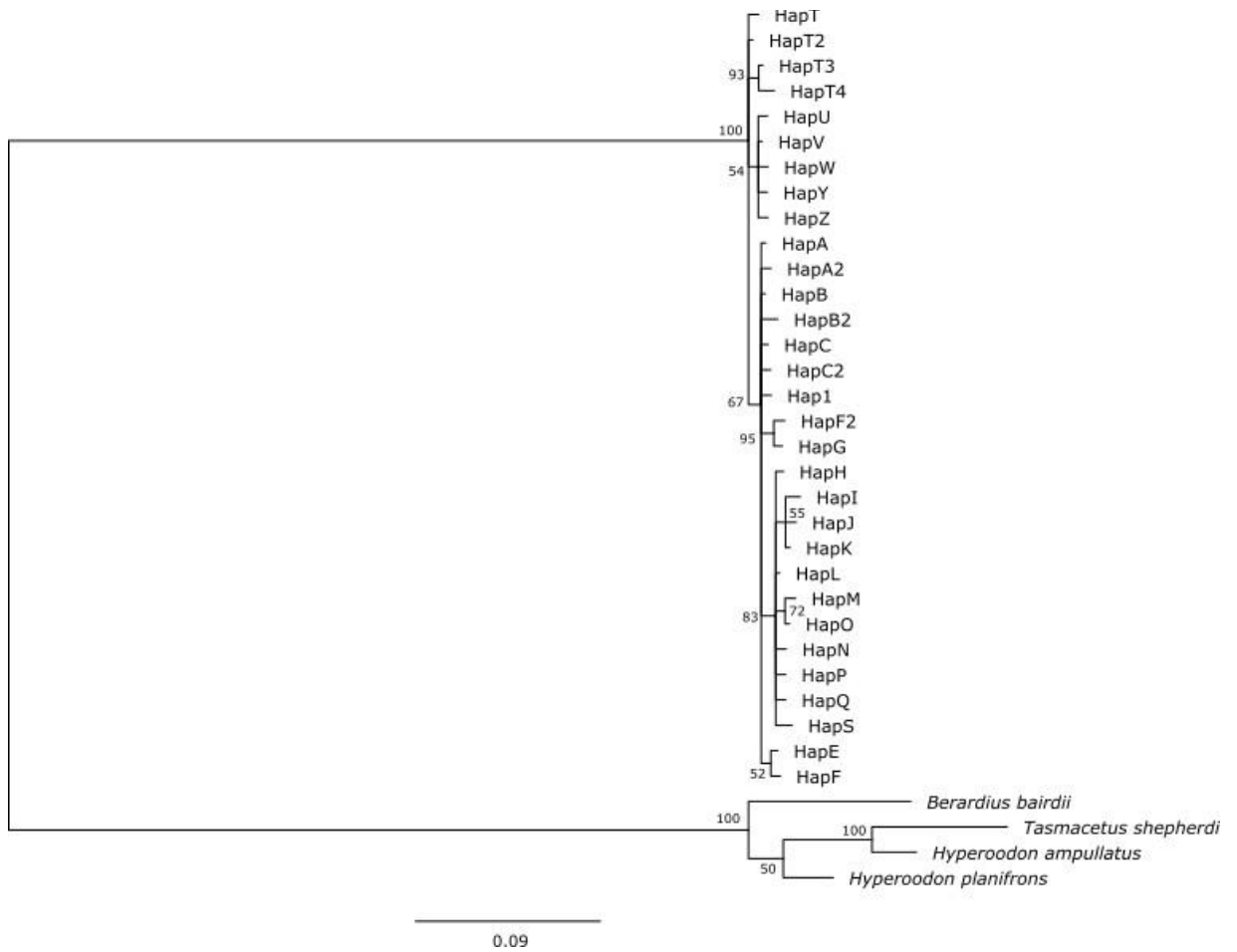
A reconstrução filogenética por Máxima Verossimilhança resultou em nós internos com valores de *bootstrap* muito baixos para suporte dos clados, de forma que não foi possível recuperar com suporte nenhuma relação entre as sequências (Figura 16). Apesar disso, foi possível observar alguns dos clados da rede de haplótipos na filogenia construída. A reconstrução por Inferência Bayesiana resultou em maior suporte para determinados clados, mas a filogenia apresenta maior número de politomias (Figura 17).

Figura 16 – Árvore de Máxima Verossimilhança (GTR+G+I) baseada na região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial.



Legenda: Ramos em negrito representam os grupos descritos por Dalebout *et al.* (2005). As espécies *Tasmacetus shepherdi*, *Hyperoodon ampullatus*, *Hyperoodon planifrons* e *Berardius bairdii* foram utilizadas como grupo-externo.

Figura 17 – Árvore bayesiana baseada na região controle (D-Loop) do DNA mitocondrial.



Legenda: As espécies *Tasmacetus shepherdi*, *Hyperoodon ampullatus*, *Hyperoodon planifrons* e *Berardius bairdii* foram utilizadas como grupo-externo.

5 DISCUSSÃO

As espécies da família Ziphiidae são as menos compreendidas dentre todos os cetáceos. São espécies de difícil estudo por serem mais frequentemente encontradas além da plataforma continental e por passarem a maior parte do tempo debaixo d'água em regiões de grande profundidade. Baleias-bicudas são também de difícil identificação, em especial as fêmeas e juvenis, devido a similaridades entre as espécies. *Ziphius* pode ser confundido com diversas espécies de *Mesoplodon* (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015), de forma que análises genéticas podem auxiliar na identificação correta dos indivíduos.

Quando se considera a identificação molecular de espécies, uma técnica amplamente utilizada é o DNA barcoding, que utiliza a região inicial do gene que codifica a subunidade 1 da citocromo c oxidase (COX-1 ou COI), devido aos seus altos níveis de variação interespecífica (HEBERT *et al.*, 2003). A eficiência na identificação das espécies já foi comprovada em diversos grupos, como peixes (WARD *et al.*, 2005; LOCKE *et al.*, 2010; ASGHARIAN *et al.*, 2011) e aves (HEBERT *et al.*, 2004), dentre outros. Desta forma, consórcios como o *International Barcode of Life* (iBOL: <https://ibol.org/>) foram criados com intuito de estabelecer um banco de dados de referência que auxiliasse na identificação das espécies e que avaliasse a biodiversidade do planeta. Sua utilização em cetáceos, no entanto, é controversa, uma vez que há uma sobreposição entre a diversidade intra e interespecífica do COI em táxons muito próximos (AMARAL, SEQUEIRA & COELHO, 2007; VIRICEL & ROSEL 2012). No caso de *Ziphius*, o COI parece conseguir identificar corretamente os indivíduos (SILVA *et al.*, 2021), entretanto, é aconselhável buscar marcadores mais informativos ou realizar análises com base em múltiplos marcadores (AMARAL, SEQUEIRA & COELHO, 2007).

As regiões mais utilizadas para identificação de cetáceos são o citocromo b (CytB) e a região controle do DNA mitocondrial (D-Loop) (VIRICEL & ROSEL 2012). O CytB é uma região que apresenta polimorfismo espécie-específicos e uma alta taxa de diversidade, possibilitando diferenciar espécie próximas (PARSON *et al.*, 2000; FARAG *et al.*, 2020). CytB também é amplamente utilizado no meio forense, pois é eficiente na identificação de espécies utilizando fragmentos muito pequenos (< 400 pb), se mostrando essencial em casos de amostras muito degradadas (ANDREJEVIC *et al.*, 2019; FARAG *et al.*, 2020). Estudos utilizando CytB em conjunto

com D-Loop são recomendados, porque o D-Loop é a região mais variável do DNA mitocondrial e possibilita a identificação e resolução de relações filogenéticas em casos em que o CytB não consegue esclarecer (FREELAND, 2006; KINGSTON, ADAMS & ROSEL, 2009).

Dalebout *et al.* (2004) realizou a primeira taxonomia molecular de baleias-bicudas e observou que o citocromo b apresentava maior diversidade interespecífica na família, enquanto o D-Loop apresentava maior diversidade intraespecífica. Esse estudo foi realizado com o objetivo de criar um banco de dados de referência para a identificação das espécies de baleias-bicudas, que fosse eficiente para a correta identificação de espécimes que haviam sido incorretamente identificadas por morfologia (DALEBOUT *et al.*, 2004).

Apesar do avançado estágio de decomposição dos indivíduos brasileiros utilizados no presente estudo, foi possível sequenciar um pequeno fragmento do CytB de três dos quatro exemplares. Após comparação com o banco de dados criado por Dalebout *et al.* (2004) e com sequências de outras espécies de baleias-bicudas disponíveis no Genbank, foi possível concluir que os indivíduos pertenciam a espécie *Ziphius cavirostris* (Figura 13). O exemplar Z1 não teve o citocromo b sequenciado, mas teve sua identificação confirmada pelo D-Loop, uma vez que compartilha o haplótipo A com os outros exemplares brasileiros e foi recuperado agrupado com as demais sequências de *Ziphius* com alto suporte (Figuras 16 e 17).

Dentre os Ziphiidae, *Ziphius cavirostris* é a espécie mais estudada da família, mas ainda existem muitas lacunas no conhecimento, em especial quanto a sua ecologia, abundância e taxa de crescimento populacional (BAIRD, BROWNELL & TAYLOR, 2020). A espécie é considerada como pouco preocupante na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas (IUCN 2022/2021-3), mas essa classificação foi dada levando em consideração sua extensa distribuição e estimativas regionais de abundância, acreditando-se que a espécie possivelmente possa chegar a mais 100.000 indivíduos (BAIRD, BROWNELL & TAYLOR, 2020). A população do Mediterrâneo, no entanto, é considerada como vulnerável (BAIRD, BROWNELL & TAYLOR, 2020), e não há estudos e informações suficientes para determinar a vulnerabilidade da espécie no Brasil (BORTOLOTTO *et al.*, 2016).

Ziphius tem a distribuição mais extensa dentre as baleias-bicudas, mas a maioria dos estudos envolvendo a espécie estão concentrados ao redor de ilhas oceânicas, no Mediterrâneo, no Atlântico Norte e em regiões onde ocorrem frequen-

tes exercícios navais (HOOKER *et al.*, 2019; BAIRD, BROWNELL & TAYLOR, 2020). No Havaí, pesquisadores acompanharam a populações de *Ziphius* e de *Mesoplodon densirostris* (baleia-bicuda-de-blainville) durante 21 anos e observaram baixa movimentação e forte fidelidade de sítio (MCSWEENEY *et al.*, 2007). Esse mesmo comportamento foi observado em outras espécies de cetáceos que habitam regiões de grande profundidade do Havaí, como golfinho-de-dentes-rugosos (*Stenobredanensis*), golfinho-rotador (*Stenella longirostris*) e falsa-orca (*Pseudorca crassidens*) (BAIRD *et al.*, 2008). A ocorrência de baleias-bicudas em uma região está normalmente associada à topografia do fundo oceânico (MACLEOD & ZUUR, 2005), mas o padrão de movimentação observado no Havaí sugere mais de um fator determinante para a permanência da espécie (MCSWEENEY *et al.*, 2007). Os autores sugerem que a população possa utilizar a ilha como refúgio de predadores, apesar de orcas (*Orcinus orca*) já terem sido documentadas na região e de marcas de mordidas de tubarões já terem sido observadas em alguns indivíduos (MCSWEENEY *et al.*, 2007). O principal fator, no entanto, seria a abundância de presas ao redor da ilha quando comparado com outras regiões do Pacífico Tropical, onde a produtividade é baixa (MCSWEENEY *et al.*, 2007). A fidelidade de sítio de *Ziphius* também foi observada em outras regiões como no Mar de Ligúria, na Califórnia, nas Ilhas Canárias e na Carolina do Norte (SCHORR *et al.*, 2014; FALCONE *et al.*, 2017; SUÁREZ, 2018; BAIRD, 2019; FOLEY *et al.*, 2021). A estruturação populacional da espécie ainda não é bem conhecida, mas esse comportamento pode indicar a existência de subpopulações regionais (BAIRD, BROWNELL & TAYLOR, 2020).

Variações na morfologia do crânio e no padrão de pigmentação também levaram pesquisadores a sugerirem populações regionais distintas (DALEBOUT *et al.*, 2005; REID & VAN HALDEREN, 2013). Análises moleculares mostraram que todas as sequências disponíveis utilizadas eram monofiléticas, corroborando a classificação de *Ziphius* como uma única espécie, com distribuição cosmopolita (DALEBOUT *et al.*, 2005). Foi observada uma diversidade genética relativamente baixa ($\pi = 1,27\% \pm 0,723\%$), proveniente em sua maioria da variação entre bacias oceânicas (DALEBOUT *et al.*, 2005). Foram observados quatro grupos de haplótipos – clados AG, predominante no Hemisfério Sul, HS, predominante no Pacífico Norte, T e UZ, predominantes no Atlântico Norte (DALEBOUT *et al.*, 2005). Esses grupos, no entanto, não são monofiléticos e não apresentam polimorfismos fixados (DALEBOUT *et al.*, 2005). Posteriormente, no entanto, análises preliminares realizadas por Morin

et al. (2012) resultaram em um baixo padrão filogeográfico. A discordância entre os resultados das duas análises, a falta de sequências do Atlântico Sul, além do baixo número de sequências do Oceano Índico, indica a necessidade de mais estudos para esclarecer o padrão filogeográfico da espécie.

Os quatro grupos de haplótipos previamente descritos podem, em parte, ser visualizados na reconstrução por Máxima Verossimilhança (Figura 16). O valor de bootstrap mínimo para suporte de clados é controverso. Segundo Felsenstein (1985) valores acima de 95% seriam significativos e indicariam suporte ao clado (SOLTIS & SOLTIS, 2003). Outros estudos, no entanto, sugerem que valores significativos podem ser tão baixos quanto 70% (SOLTIS & SOLTIS, 2003). O suporte para os quatro grupos de haplótipos foi inferior a 50% e não é possível corroborá-los. Alguns nós terminais obtiveram valores de bootstrap acima de 50%, mas, ao levar em consideração os valores dos nós ancestrais a eles, o suporte seria reduzido (SOLTIS & SOLTIS, 2003), de forma que também não é possível esclarecer outras relações entre os haplótipos. Uma reconstrução por Inferência Bayesiana também foi realizada na tentativa de recuperar os quatro grupos. Essa filogenia, no entanto, teve ainda menos sucesso em recuperá-los (Figura 17). Com exceção do clado UZ, que teve valor de suporte similar nas duas filogenias, a Inferência Bayesiana não recuperou outro clado, além de resultar em maior número de politomias. Esse resultado indica a incerteza na resolução na relação entre os haplótipos de *Ziphius* e a necessidade de novos estudos para melhor determinar a diversidade genética da espécie.

Os resultados obtidos na presente análise filogeográfica (Figura 15), corroboram apenas em parte os resultados previamente publicados por Dalebout *et al.* (2005). Apesar de comparações par-a-par entre bacias oceânicas indicarem significativa diferenciação entre elas, o resultado da AMOVA indica que a maior fonte da diversidade provém de dentro das bacias oceânicas (Tabela 10). A presença do haplótipo L nas três bacias oceânicas e a falta de estruturação filogeográfica indica múltiplos episódios de diversificação (MORIN *et al.*, 2012), seguido do contato secundário entre as populações do Pacífico Norte e Atlântico Norte, com base na presença dos haplótipos W e K na população do Atlântico Norte. Os quatro grupos sugeridos por Dalebout *et al.* (2005) podem ser observados na rede de haplótipos (Figura 15), mas ainda não foi possível comprovar o monofiletismo. Destes, apenas o grupo T está restrito a uma única região. A maioria das sequências deste grupo (76,92 %), no entanto, pertence a indivíduos envolvidos em um encalhe em massa

no Mediterrâneo (DALEBOUT *et al.*, 2005) e 70 % destes compartilham o haplótipo T3. A organização social de *Ziphius* ainda não é conhecida, mas uma população endêmica foi sugerida para o Mediterrâneo com base na presença de haplótipos exclusivos, além da presença de menos de 10.000 indivíduos maduros (DI SCIARA & TONAY, 2021).

Não há informações disponíveis sobre a movimentação de *Ziphius* no Hemisfério Sul e, conseqüentemente, sobre sua estruturação populacional. Estudos com baleia-bicuda-de-gray (*Mesoplodon grayi*) mostram que essa espécie de baleia-bicuda apresenta altos níveis de diversidade do DNA mitocondrial e nuclear quando comparado a outros Odontoceti (WESTBURY *et al.*, 2021). No entanto, analisando espécimes da Nova Zelândia, Austrália e África do Sul, não foi possível diferenciar indivíduos entre as três regiões ou observar estruturação populacional (WESTBURY *et al.*, 2021). *Mesoplodon grayi* é encontrada principalmente em latitudes menores que 30 °S, com diversos registros na região antártica e subantártica (JEFFERSON, WEBBER & PITMAN, 2015) e parece não encontrar restrições para sua migração e fluxo gênico.

No Atlântico Sul, Otley, Smith e Dalebout (2012) obtiveram as três primeiras sequências de *Ziphius*, proveniente de indivíduos que encalharam nas Ilhas Malvinas. Acredita-se que um dos espécimes compartilhava o haplótipo A (o fragmento obtido era relativamente pequeno), enquanto os dois outros representavam, cada um, um haplótipo não descrito anteriormente (OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012). Esses dados, no entanto, não puderam ser utilizados nas nossas análises devido ao tamanho reduzido da sequência. Os quatro indivíduos brasileiros foram encontrados no Ceará, nordeste do Brasil, e compartilham o haplótipo A. Devido à proximidade com o Equador e com o Hemisfério Norte, esperava-se que os indivíduos compartilhassem haplótipos com a população do Atlântico Norte. O resultado encontrado, no entanto, indica um comportamento de *Ziphius* possivelmente similar ao observado em *Mesoplodon grayi*, com altas taxas de dispersão e fluxo gênico por todo o Hemisfério Sul. Uma hipótese para a aparente falta de barreiras ao fluxo gênico de *Ziphius* é a utilização do Oceano Antártico para dispersão, como ocorre com *M. grayi*, uma vez que estudos mostraram que sua distribuição pode ser mais extensa do que se pensava, chegando a regiões subpolares e até polares (MACLEOD & MITCHELL, 2006). Com base no presente resultado obtido para *Ziphius*, a alta taxa de dispersão

no Hemisfério Sul parece se estender para latitudes ainda mais elevadas, chegando próximo ao Equador.

A diversidade do DNA mitocondrial de *Ziphius* está em uma faixa intermediária a de cetáceos com distribuição cosmopolita (DALEBOUT *et al.*, 2005). Baleias jubartes (*Megaptera novaeangliae*) apresentam o dobro da diversidade, enquanto cachalotes (*Physeter macrocephalus*) e orcas (*Orcinus orca*) apresentam diversidade consideravelmente menor, normalmente associada à organização social matrifocal da espécie (DALEBOUT *et al.*, 2005; VACHON, WHITEHEAD & FRASIER, 2018; WHITEHEAD, 2020; DAY *et al.*, 2021). Vachon, Whitehead e Frasier (2018) realizaram uma revisão da literatura para determinar os fatores que influenciam a diversidade genética nos cetáceos. Nessa revisão, os autores concluíram que a organização social e a extensão latitudinal da distribuição eram os fatores mais significativos na diversidade genética do DNA mitocondrial. A diversidade intermediária de *Ziphius* sugere que sua organização social não seja matrifocal (DALEBOUT *et al.*, 2005). Esperar-se-ia, no entanto, que *Ziphius* apresentasse uma diversidade maior do que a obtida devido a sua extensa distribuição. O resultado observado pode estar associado ao reduzido número de informações e sequências disponíveis no Hemisfério Sul, em especial no Oceano Índico e no Atlântico Sul, indicando que a diversidade da espécie observada até então esteja subestimada.

A alta taxa de diversidade do DNA mitocondrial observada em algumas espécies de animais marinhos no Hemisfério Sul parece estar associada a eventos de vicariância decorrentes das flutuações de temperatura durante o Pleistoceno, que resultou em populações distintas no Atlântico e no Indo-Pacífico, seguido de um processo de migração unidirecional em direção ao Atlântico pela Corrente das Agulhas, no sul da África (GRAVES & MCDOWELL, 1995; ALVARADO BREMER *et al.*, 1998; BUONACCORSI, MCDOWELL & GRAVES, 2001; VIÑAS, ALVARADO BREMER & PLA, 2004; MARTINEZ *et al.*, 2006). Esse processo é a principal hipótese para o padrão de estruturação genética observada em diversas espécies de peixes que migram grandes distâncias, como *Thunnus obesus* (ALVARADO BREMER *et al.*, 1998; MARTINEZ *et al.*, 2006), *Thunnus alalunga* (VIÑAS, ALVARADO BREMER & PLA, 2004), peixes-espada (ALVARADO BREMER *et al.*, 2005), tubarões (DUNCAN *et al.*, 2006) e também em golfinhos (AMARAL *et al.*, 2012). Esse padrão é caracterizado por menor diversidade genética nas populações do Atlântico e em diferentes frequências dos haplótipos entre as bacias oceânicas (VIÑAS, ALVARADO BRE-

MER & PLA, 2004; DUNCAN *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2007). Com base nos dados levantados, este padrão não parece se aplicar a *Ziphius*, uma vez que não foi possível recuperar uma forte estruturação genética entre os oceanos. No entanto, ainda são necessários mais dados da espécie no Atlântico Sul para podermos descartar a hipótese.

Este estudo é o primeiro a incluir sequências do Atlântico Sul em análises filogeográficas de baleias-bicudas. Apesar do tamanho amostral limitado, este é um dos estudos no Brasil com o maior número de *Ziphius* analisados. Apesar disso, a inclusão das sequências dessa região e a reanálise dos dados globais disponíveis para a espécie estão de acordo com resultados encontrados anteriormente (MORIN *et al.*, 2012), indicando suporte para as conclusões observadas. Dos sete espécimes de *Ziphius* disponíveis para a região, cinco compartilham o haplótipo A e os dois restantes possuem haplótipos exclusivos relacionados a ele (OTLEY, SMITH & DALEBOUT, 2012). O total de sequências ainda é muito baixo para chegar a conclusões sobre a diversidade da espécie na região, mas a espécie pode repetir o padrão de baixa diversidade genética no Atlântico Sul observado em outras espécies (VIÑAS, ALVARADO BREMER & PLA, 2004; DUNCAN *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2007; MILMANN *et al.*, 2021). Ainda são necessários mais esforços para conhecer a espécie no Atlântico, principalmente na porção oeste, de onde ainda não há sequências disponíveis. Somente assim será possível solucionar estruturação populacional da espécie.

No Brasil, apesar do relativo alto número de encalhes dentre as espécies de baleias-bicudas, há poucos trabalhos publicados com *Ziphius*, e a maioria deles se limitam a registros (Tabela 1). Os encalhes ocorrem, em sua maioria, na região nordeste, onde a plataforma continental é menor, com regiões de grande profundidade relativamente próximas da costa (Figura 10) (BORTOLOTTTO *et al.*, 2016). Essa mesma região é de interesse da indústria de gás e petróleo, e os impactos que essa exploração pode ter nas espécies ainda não é conhecido (BORTOLOTTTO *et al.*, 2016). Estudos recentes detectaram parasitas nunca antes encontrados em baleias-bicudas na região, e que causam infecções de significativa mortalidade para esses animais (FEBRONIO *et al.*, 2021; JERDY *et al.*, 2022). Infecções por parasitas podem estar relacionadas, entre outros fatores, à contaminação e degradação ambiental, e mudanças climáticas (JERDY *et al.*, 2022). Outras infecções preocupantes para a espécie foram observadas nas Ilhas Canárias, onde foi detectado infecção por

Herpesvírus (FELIPE-JIMÉNEZ *et al.*, 2021b) em três indivíduos e um caso de *Morbilivírus* (FELIPE-JIMÉNEZ *et al.*, 2021a). Acredita-se que tenha ocorrido transmissão local desses vírus, de regiões próximas no Atlântico Centro-Norte (FELIPE-JIMÉNEZ *et al.*, 2021a; FELIPE-JIMÉNEZ *et al.*, 2021b). Entretanto, a observação de uma mesma linhagem de Morbilivírus em bacias oceânicas diferentes pode indicar que o padrão de migração, ainda não bem conhecido de *Ziphius*, possa disseminar o vírus e causar eventos de elevada mortalidade como a observado em botos-cinza (*Sotalia guianensis*) no Brasil (GROCH *et al.*, 2018; GROCH *et al.*, 2020).

É preciso conhecer uma espécie para poder protegê-la (LI & ROSSO, 2021). O conhecimento disponível sobre as baleias-bicudas ainda é muito limitado e não podemos inferir os impactos que as ameaças já conhecidas e recém-descobertas tem sobre as populações, sendo necessário uma maior colaboração entre cientistas para a obtenção desse conhecimento (LI & ROSSO, 2021). As baleias-bicudas fazem parte da fauna marinha da costa brasileira e estudá-las é fundamental para compreender os impactos aos quais estão suscetíveis na região e para propor ações para preservá-las.

CONCLUSÃO

Com base nas sequências obtidas do citocromo b (CytB) e da região controle (D-Loop) dos indivíduos encontrados na costa brasileira, foi possível confirmar suas identificações como *Ziphius cavirostris*. Resultado similar foi encontrado na reconstrução filogenética utilizando a região controle do DNA mitocondrial, corroborando a identificação. As sequências obtidas são as primeiras disponíveis para a espécie no Brasil e as primeiras do Atlântico Sul utilizadas em um estudo populacional.

A presente análise populacional é a mais abrangente até então, e foi realizada utilizando 126 sequências disponíveis para as regiões do Atlântico Norte, Pacífico Norte, Indo-Pacífico e Atlântico Sul, incluindo novas sequências e sequências previamente publicadas. Reconstruções filogenéticas, por meio de técnicas de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana, foram realizadas para esclarecer a relação entre os haplótipos descritos para a espécie. O resultado obtido é similar ao observado por Morin *et al.* (2012) e não corrobora os agrupamentos de haplótipos observados por Dalebout *et al.* (2005).

Estas análises indicam uma baixa estruturação genética e filogeográfica, com a maior parte da diversidade sendo observada dentro das bacias oceânicas. Análises par-a-par, no entanto, indicam significativa diferenciação entre elas. Como observado por Morin *et al.* (2012), *Ziphius* parece ter sofrido diversos episódios de fluxo gênico, como sugerido pela recuperação do haplótipo L nas três bacias oceânicas e pela recuperação dos haplótipos W e K no Atlântico Norte.

A diversidade genética mundial de *Ziphius* está em uma faixa intermediária, quando comparado à de outras espécies cosmopolitas. Dada a distribuição da espécie, esperava-se que a diversidade fosse maior. O número reduzido de sequências disponíveis para o Atlântico Sul e para o Oceano Índico podem, no entanto, estar causando uma subestimativa da diversidade total, indicando que um maior esforço para coleta de dados nessas regiões é necessário para determinar a diversidade de *Ziphius cavirostris*.

Os resultados obtidos sugerem que o Hemisfério Sul não oferece barreiras para a migração da espécie. Entretanto, essa hipótese não pode ser confirmada antes da obtenção de mais dados da região do Atlântico Sul. Assim, será possível determinar se *Ziphius* dispersa livremente pelo Hemisfério Sul, como observado em

Mesoplodon grayi, ou se existe uma distribuição assimétrica do Indo-Pacífico para o Atlântico, como observado em diversas outras espécies de animais marinhos.

Não é possível obter conclusões quanto a diversidade genética regional da espécie no Atlântico Sul, uma vez que o número de sequências para a região é reduzido. Mais da metade dos indivíduos do Atlântico Sul compartilham o haplótipo A, e os haplótipos restantes estão relacionados a ele. Esperava-se que os indivíduos brasileiros compartilhassem haplótipos com o Atlântico Norte, devido à proximidade geográfica, o que não foi observado, podendo indicar que indivíduos do Hemisfério Sul dispersem até próximo do Equador.

Por fim, a falta de compreensão da diversidade de *Ziphius cavirostris* no Atlântico Sul, somado aos recentes estudos sobre possíveis novas ameaças indicam a necessidade de novos estudos para melhor compreender essa espécie que frequenta a costa brasileira.

REFERÊNCIAS

- ALCÁZAR-TREVIÑO, J. *et al.* Deep-diving beaked whales dive together but forage apart. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 288, n. 1942, 2021.
- ALVARADO BREMER, J. R. *et al.* Genetic evidence for inter-oceanic subdivision of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) populations. *Marine Biology*, v. 132, p. 547-557, 1998.
- ALVARADO BREMER, J. R. *et al.* Comparative phylogeography of Atlantic bluefin tuna and swordfish: the combined effects of vicariance, secondary contact, introgression, and population expansion on the regional phylogenies of two highly migratory pelagic fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 36, p. 169–187, 2005.
- ALVES-JÚNIOR, T. T. Registros de Cetáceos para o Litoral do Estado do Ceará, Brasil. *Arq. Ciên. Mar.*, v. 30, n. 1-2, p. 79-92, 1996.
- AMARAL, A. R.; SEQUEIRA, M.; COELHO, M. M. A first approach to the usefulness of cytochrome c oxidase I barcodes in the identification of closely related delphinid cetacean species. *Marine and Freshwater Research*, v. 58, p. 505-510, 2007.
- AMARAL, A. R. *et al.* Influences of past climatic changes on historical population structure and demography of a cosmopolitan marine predator, the common dolphin (genus *Delphinus*). *Molecular Ecology*, v. 21, n. 19, p. 4854-4871, 2012.
- ANDREJEVIC, M. *et al.* Identification of a broad spectrum of mammalian and avian species using the short fragment of the mitochondrially encoded cytochrome b gene. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, v. 15, n. 2, 2019.
- ASGHARIAN, H. *et al.* Cytochrome c oxidase subunit 1 barcode data of fish of the Nayband National Park in the Persian Gulf and analysis using meta-data flag several cryptic species. *Molecular Ecology Resources*, v. 11, p. 461-472, 2011.
- AU, W. W. L. Echolocation. In: Perrin, W. F.; Würsig, B.; Thewissen, J. G. M. *Encyclopedia of Marine Mammals*. 2 Ed. Academic Press, California, 2008, p. 348-357.
- BAIRD, R. W. *et al.* Site fidelity and association patterns in a deep-water dolphin: Rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) in the Hawaiian Archipelago. *Marine Mammal Science*, v. 24, n. 3, p. 535–553, 2008.
- BAIRD, R. W. *et al.* Diving behaviour of Cuvier's (*Ziphius cavirostris*) and Blainville's (*Mesoplodon densirostris*) beaked whales in Hawai'i. *Canadian Journal of Zoology*, v. 84, n. 8, p. 1120-1128, 2006.
- BAIRD, R. W. Behavior and ecology of not-so-social odontocetes: Cuvier's and Blainville's beaked whales. In: Würsig, B. *Ethology and Behavioral Ecology of Odontocetes*. *Ethology and Behavioral Ecology of Marine Mammals*. Springer, Cham., 2019, cap. 14, p. 305–329.
- BAIRD, R. W.; BROWNELL JR., R. L.; TAYLOR, B. L. *Ziphius cavirostris*. The IUCN

Red List of Threatened Species 2020: e.T23211A50379111. Disponível em <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T23211A50379111.en>. Acesso em 24 de abril de 2022.

BAIRD, R. W. Cuvier's Beaked Whale: *Ziphius cavirostris*. In: Würsig, B.; Thewissen, J.G.M.; Kovacs, K. M. *Encyclopedia of Marine Mammals*. 3 Ed. Academic Press, 2017, p. 234–237.

BANDELT, H.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intra-specific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, v. 16, n. 1, p. 37-48, 1999.

BATISTA, R. L. G. *et al.* Cetaceans registered on the coast of Ilhéus (Bahia), north-eastern Brazil. *Biotaneotropica*, v. 12, n. 1, p. 31-38, 2012.

BERTA, A.; SUMICH, J. L.; KOVACS, K. M. *Marine Mammals Evolutionary Biology*, 3 Ed. Academic Press, 2015.

BORTOLOTTI, G. A. *et al.* Anthropogenic impact on a pregnant Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) stranded in Brazil. *Marine Biodiversity Records*, v. 9, n. 30, 2016.

BUONACCORSI, V. P.; MCDOWELL, J. R.; GRAVES, J. E. Reconciling patterns of inter-ocean molecular variance from four classes of molecular markers in blue marlin (*Makaira nigricans*). *Molecular Ecology*, v. 10, p. 1179–1196, 2001.

CARVALHO, J. P. Sobre a provável ocorrência da “Baleia de Cuvier” no litoral de São Paulo. *Rev. Nac. Pesca*, v. 10, n. 82, p. 8-11, 1969.

DE CARVALHO, C. T. Ocorrências de mamíferos marinhos no litoral do Brasil. *Bol. Técn. Inst. Florestal, São Paulo*, v. 16, p. 13-32, 1975.

CARWARDINE, M. *Handbook of Whales, Dolphins and Porpoises*. Bloomsbury, London, 2020.

CASTELLO, H. P.; PINEDO, M. C. *Mesoplodon densirostris* (Cetacea, Ziphiidae), primeiro registro para o Atlântico Sul Ocidental. *Boletim do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo*, v. 29, n. 2, p. 91-94, 1980.

CASTRO, A. L. F. *et al.* Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). *Molecular Ecology*, v. 16, p. 5183–5192, 2007.

CIOFFI, W. R. *et al.* Adult male Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*) engage in prolonged bouts of synchronous diving. *Marine Mammal Science*, v. 37, p. 10851100, 2021.

DALEBOUT, M. L. *et al.* Molecular genetic identification of southern hemisphere beaked whales (Cetacea: Ziphiidae). *Molecular Ecology*, v. 7, p. 687–694, 1998.

DALEBOUT, M. L. *et al.* A Comprehensive and Validated Molecular Taxonomy of Beaked Whales, Family Ziphiidae. *Journal of Heredity*, v. 95, n. 6, p. 459–473, 2004.

- DALEBOUT, M. L. *et al.* Worldwide structure of mtDNA diversity among Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*): implications for threatened populations. *Molecular Ecology*, v. 14, p. 3353–3371, 2005.
- DALEBOUT, M. L.; STEEL, D.; BAKER, C. S. Phylogeny of the Beaked Whale Genus *Mesoplodon* (Ziphiidae: Cetacea) Revealed by Nuclear Introns: Implications for the Evolution of Male Tusks. *Systematic Biology*, v. 57, n. 6, p. 857-875, 2008.
- DAY, J. *et al.* Australian sperm whales from different whaling stocks belong to the same population. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v. 31, n. 6, p. 1452-1465, 2021.
- DEMÉRÉ, T. A. *et al.* Morphological and Molecular Evidence for a Stepwise Evolutionary Transition from Teeth to Baleen in Mysticete Whales. *Systematic Biology*, v. 57, n. 1, p. 15-37, 2008.
- DUNCAN, K. M. *et al.* Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular Ecology*, v. 15, p 2239–2251, 2006.
- ELLIS, R.; MEAD, J. G. *Beaked Whales: A Complete Guide to Their Biology and Conservation*. Johns Hopkins University Press, 2017.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, v. 10, p. 564-567, 2010.
- FALCONE, E. A. *et al.* Diving behaviour of Cuvier's beaked whales exposed to two types of military sonar. *Royal Society Open Science*, v. 4, n. 8, 2017
- FARAG, M. R. *et al.* Forensic applications of mitochondrial cytochrome b gene in the identification of domestic and wild animal species. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2020.
- FEBRONIO, A. M. B. *et al.* Crassicaudiasis in three geographically and chronologically distant Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*) stranded off Brazil. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 16, p. 262-269, 2021.
- FISCH, F.; PORT, D. Novo registro de encalhe de *Ziphius cavirostris* (Cuvier, 1823) (Cetacea: Ziphiidae) na Ilha da Trindade, Brasil. *Biotemas*, v. 6, n. 3, p. 286-291, 2013.
- FLOWER, W.H. On whales, past and present, and their probable origin. *Nature*, v.28, 226-230, 1883.
- FOLEY, H. F. *et al.* Residency and movement patterns of Cuvier's beaked whales *Ziphius cavirostris* off Cape Hatteras, North Carolina, USA. *Marine Ecology Progress Series*, v. 660, p. 203–216, 2021.
- FORDYCE, R. E. Cetacean Evolution. In: *Encyclopedia of Marine Mammals*, 3 Ed. Academic Press, 2017, p. 180-185.

- FRANTZIS, A. *et al.* Current knowledge of the cetacean fauna of the Greek Seas. *Journal of Cetacean Research and Management*, v. 5, n. 3, p. 219-232, 2003.
- FREELAND, J. R. *Molecular Ecology*. British: Wiley, 2005.
- GEISLER, J. H.; THEODOR, J. M. Hippopotamus and whale phylogeny. *Nature*, v. 458, E1-E4, 2009.
- GERACI, J. R.; LOUNSBURY, V. J. *Marine mammals ashore: a field guide for strandings*. National Aquarium in Baltimore, A Texas A&M Sea Grant Publication, 2005.
- GRAVES, J. E.; MCDOWELL, J. R. Inter-ocean genetic divergence of Istiophorid billfishes. *Marine Biology*, v. 122, n. 2, p. 193-203, 1995.
- GROCH, K. R. *et al.* Encalhe de cetáceos na região do banco dos Abrolhos e banco Royal Charlotte, Brasil. In: REUNIÃO DE TRABALHO DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUÁTICOS DA AMÉRICA DO SUL (RT), 14, 24-28 de outubro de 2010, Florianópolis, SC, Brasil. *Painéis apresentados no XIV Reunião de Trabalho de Especialistas em Mamíferos Aquáticos da América do Sul (RT)*, 2010.
- GROCH, K. R. *et al.* Guiana Dolphin Unusual Mortality Event and Link to Cetacean Morbillivirus, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 24, n. 7, p. 1349–1354, 2018.
- GROCH, K. R. *et al.* The Pathology of Cetacean Morbillivirus Infection and Comorbidities in Guiana Dolphins During an Unusual Mortality Event (Brazil, 2017–2018). *Veterinary Pathology*, v. 57, p. 845-857, 2020.
- HENSHAW, M. D. *et al.* Identifying beaked whales (Family Ziphiidae) using mtDNA sequences. *Marine Mammal Science*, v. 13, n. 3, p. 487-495, 1997.
- HEBERT, P. D. N. *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.
- HEYNING, J. E. Functional morphology involved in intraspecific fighting of the beaked whale, *Mesoplodon carlhubbsi*. *Canadian Journal of Zoology*, v. 62, n. 8, p. 1645-1654, 1984.
- HEYNING, J. E.; MEAD, J. G. Suction Feeding in Beaked Whales: Morphological and Observational Evidence. *Contributions in Science*, v. 464, p. 1-12, 1996.
- HEYNING, J. E.; MEAD, J. G. Cuvier's Beaked Whale: *Ziphius cavirostris*. In Perrin, W. F.; Würsig, B.; Thewissen, J. G. M. *Encyclopedia of Marine Mammals*. 2 Ed. Academic Press, California, 2008, p. 294-295.
- HEYNING, J. E. Marine Mammal Evolution and Taxonomy. In: STEELE, J. H.; THORPE, S. A.; TUREKIAN, K. K. *Encyclopedia of Ocean Sciences*, Volume 3, 2 Ed. Academic Press, 2011, p. 589-595.
- HOOKE, S. K.; WHITEHEAD, H.; GOWANS, S. Marine Protected Area Design and the Spatial and Temporal Distribution of Cetaceans in a Submarine Canyon. *Conservation Biology*, v. 13, n. 3, p. 592-602, 1999.

- HOOKER, S. K. *et al.* Future Directions in Research on Beaked Whales. *Frontiers in Marine Science*, v. 5, 2019.
- HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, v. 17, p. 754-755, 2001.
- IRWIN, D. M.; ÁRNASON, U. Cytochrome b Gene of Marine Mammals: Phylogeny and Evolution. *Journal of Mammalian Evolution*, v. 2, n. 1, p. 37-55, 1994.
- JEFFERSON, T. A.; WEBBER, M. A.; PITMAN, R. L. *Marine Mammals of the World: A Comprehensive Guide to Their Identification*, 2 Ed. Academic Press, 2015, p. 109113.
- JERDY, H. *et al.* First report on *Phyllobothrium delphini* infection and *Crassicauda* sp. parasitism resulting in osseous metaplasia in a Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) from the Brazilian region. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 17, p. 60-64, 2022.
- JOHNSON, M. *et al.* Beaked whales echolocate on prey. *Proceedings Biological Sciences*, v. 271, n. 6, 2004.
- JOHNSON, M. *et al.* Foraging Blainville's beaked whales (*Mesoplodon densirostris*) produce distinct click types matched to different phases of echolocation. *The Journal of Experimental Biology*, v. 209, p. 5038-5050, 2006.
- JOHNSON, M. *et al.* Echolocation behaviour adapted to prey in foraging Blainville's beaked whale (*Mesoplodon densirostris*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 275, n. 1631, p. 133-139, 2008.
- JULIAN, F.; BEESON, M. Estimates of marine mammal, turtle, and seabird mortality for two California gillnet fisheries: 1990-1995. *Fishery Bulletin*, n. 96, n. 2, p. 271-284, 1998.
- KINGSTON, S. E., ADAMS, L. D.; ROSEL, P. E. Testing mitochondrial sequences and anonymous nuclear markers for phylogeny reconstruction in a rapidly radiating group: molecular systematics of the Delphininae (Cetacea: Odontoceti: Delphinidae). *BMC Evolutionary Biology*, v. 9, n. 245, 2009.
- KITAMURA, S. *et al.* Two genetically distinct stocks in Baird's beaked whale (Cetacea: Ziphiidae). *Marine Mammal Science*, v. 29, n. 4, p. 755-766, 2013.
- LI, S.; ROSSO, M. Lack of knowledge threatens beaked whales. *Science*, v. 371, n. 6531, p. 791, 2021
- LOCKE, S. A.; MCLAUGHLIN, D. J.; MARCOGLIESE, D. J. DNA barcodes show cryptic diversity and a potential physiological basis for host specificity among Diplostomoidea (Platyhelminthes: Digenea) parasitizing freshwater fishes in the St. Lawrence River, Canada. *Molecular Ecology*, v. 19, p. 2813-2827, 2010.
- LODI, L.; BARBOSA, M. *Baleias, botos e golfinhos do Brasil: Guia de identificação*. 1 Ed. Technical Books, 2013.

LODI, L.; FIORI, B. Observações sobre o comportamento do golfinho rotador; *Stenella longirostris* (Cetacea, Delphinidae) na Ilha de Fernando de Noronha – Brasil. In: REUNIÃO DE TRABALHO DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUÁTICOS DA AMÉRICA DO SUL, 2, 4-8 agosto de 1986, Rio de Janeiro, *Anais da 2a. Reunião de Trabalho de Especialistas em Mamíferos Aquáticos da América do Sul*, 4-8 agosto de 1986, Rio de Janeiro, 1987, p. 60-68.

LUCENA, A., PALUDO, D., & LANGGUTH, A. New records of Odontoceti (Cetacea) from the coast of Paraíba, Brazil. *Rev. Nordestina Biol.*, v. 12, n. 1/2, p. 19-27, 1998.

MAIA-NOGUEIRA, R.; NUNES, J. A. C. C. Record of the Layard's beaked whale, *Mesoplodon layardii* (Gray, 1856), in northeastern Brazil. *LAJAM*, v. 4, n. 2, p. 137-139, 2005.

MACLEOD, C. D. Intraspecific scarring in odontocete cetaceans: an indicator of male 'quality' in aggressive social interactions? *Journal of Zoology*, v. 244, n. 1, p. 71-77, 1998.

MACLEOD, C. D.; MITCHELL, G. Key areas for beaked whales worldwide. *Journal of Cetacean Research and Management*, v. 7, n. 3, p. 309-322, 2006.

MACLEOD, C. D.; ZUUR, A. F. Habitat utilization by Blainville's beaked whales off Great Abaco, northern Bahamas, in relation to seabed topography. *Marine Biology*, v. 147, p. 1-11, 2005.

MADSEN, P. T. *et al.* Biosonar performance of foraging beaked whales (*Mesoplodon densirostris*). *The Journal of Experimental Biology*, v. 208, p. 181-194, 2005.

MARTINEZ, P. *et al.* Genetic diversity and historical demography of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, n. 39, p. 404-416, 2006.

MARTINS, A. M. A. *et al.* The most northern record of Gervais' beaked whale, *Mesoplodon europaeus* (Gervais, 1855), for the Southern Hemisphere. *LAJAM*, v. 3, n. 2, p. 151-155, 2004.

MAYORGA, L. F. S. P.; BARBOSA, L. A.; BHERING, R. C. C. B. First stranding records of *Ziphius cavirostris* (Cetacea, Odontoceti) on the coast of Espírito Santo, Brazil. *Biotemas*, v. 23, n. 3, p. 223-226, 2010.

MAYORGA, L. *et al.* Strandings of cetaceans on the Espírito Santo coast, southeast Brazil, 1975-2015. *ZooKeys*, v. 948, p. 129-152, 2020.

MCGOWEN, M. R. *et al.* Phylogenomic Resolution of the Cetacean Tree of Life Using Target Sequence Capture. *Systematic Biology*, v. 69, n. 3, p. 479-501, 2020.

MCSWEENEY, D. J. *et al.* Site Fidelity, Associations, and Movements of Cuvier's (*Ziphius cavirostris*) And Blainville's (*Mesoplodon densirostris*) Beaked Whales off the Island of Hawai'i. *Marine Mammal Science*, v. 23, n. 3, p. 666-687, 2007

- MEAD, J. G. Beaked Whales, Overview. In Perrin, W. F.; Würsig, B.; Thewissen, J. G. M. *Encyclopedia of Marine Mammals*. 2 Ed. Academic Press, California, 2008, p. 94-97.
- MEIRELLES, A. *et al.* Cetacean strandings on the coast of Ceará, north-eastern Brazil (1992–2005). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 89, n. 5, p. 1083-1090, 2009.
- MILMANN, L. *et al.* New genetic evidences for distinct populations of the common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) in the Southern Hemisphere. *Polar Biology*, v. 44, p. 1575-1589, 2021.
- MONTELLI, S. *et al.* Back to Water: Signature of Adaptive Evolution in Cetacean Mitochondrial tRNAs. *PLoS ONE*, v. 11, n. 6, e0158129, 2016.
- MORIN, P. A. *et al.* Preliminary analysis of mitochondrial genome phylogeography of Blainville's, Cuvier's and Gervais' beaked whales. International Whaling Commission, Cambridge, SC/64/SM14, 17. 2012. Relatório técnico.
- MOULINS, A. *et al.* Aspects of the distribution of Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) in relation to topographic features in the Pelagos Sanctuary (north-western Mediterranean Sea). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, v. 87, n. 1, p. 177-186, 2007.
- DO NASCIMENTO, L. F. *et al.* O uso do óleo de uma baleia bicuda Cuvier, *Ziphius cavirostris*, para a pesca do voador, *Hirundichthys affinis*, na Praia de Baía FormosaRN. In: REUNIÃO DE TRABALHO DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUÁTICOS DA AMÉRICA DO SUL (RT), 14, 24-28 de outubro de 2010, Florianópolis, SC, Brasil. *Painéis apresentados no XIV Reunião de Trabalho de Especialistas em Mamíferos Aquáticos da América do Sul (RT)*, 2010.
- NISHIWAKI, M.; OGURO, N. Catch of the Cuvier's beaked whales off Japan in recent years. *The Scientific Reports of The Whales. Research Institute*, n. 24, p. 35-41, 1972.
- OLIVEIRA, M. C. de S. *et al.* Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio de reação em cadeia da polimerase [recurso eletrônico]. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. 2007.
- DE OLIVEIRA, G. A. B.; SOUTO, L. R. A. Encalhe de baleia bicuda-de-Cuvier (*Ziphius cavirostris*) prenhe na Bahia, nordeste do Brasil. In: REUNIÃO DE TRABALHO DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUÁTICOS DA AMÉRICA DO SUL (RT), 14, 24-28 de outubro de 2010, Florianópolis, SC, Brasil. *Painéis apresentados no XIV Reunião de Trabalho de Especialistas em Mamíferos Aquáticos da América do Sul (RT)*, 2010.
- OTLEY, H.; SMITH, J.; DALEBOUT, M. L. Beaked whale strandings on the Falkland Islands and South Georgia, South Atlantic Ocean, between 1866 and 2008. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 92, n. 8, p. 1851-1864, 2012.

- OMURA, H.; FUJINO, K.; KIMURA, S. Beaked Whale *Berardius bairdi* of Japan, with Notes on *Ziphius cavirostris*. *Scientific Reports of the Whales Research Institute*, n. 10, p. 89-132, 1955.
- PALUMBI, S.R. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: HILLIS, D.M.; MORITZ, C.; MABLE, B. K. *Molecular systematics*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1996, p. 205–247.
- PANSARD, K. C. A. *et al.* Ocorrência de *Ziphius cavirostris* (G. Cuvier, 1823) no litoral de Rio Grande do Norte (RN), nordeste do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Mastozoologia, 3, 12-16 de outubro de 2005, Aracruz, Espírito Santo, Brazil, p. 87.
- PARSON, W. *et al.* Species identification by means of the cytochrome b gene. *International Journal of Legal Medicine*, v. 114, n. 1-2, p. 23-28, 2000.
- PINEDO, M. C.; LAMMARDO, M. P.; BARRETO, A. S. Review of *Ziphius cavirostris*, *Mesoplodon grayi* and *Lagenodelphis hosei* (Cetacea: Ziphiidae and Delphinidae) in brazilian waters, with new records from southern Brazil. *Atlântica*, v. 23, p. 67-76, 2001.
- PITMAN, R. Mesoplodont Whales (*Mesoplodon spp.*). In: Perrin, W. F.; Würsig, B.; Thewissen, J. G. M. *Encyclopedia of Marine Mammals*. 2 Ed. Academic Press, California, 2008, p. 721-725.
- PRADO, J. H. F. *et al.* Long-Term Seasonal and Interannual Patterns of Marine Mammal Strandings in Subtropical Western South Atlantic. *PLoS ONE*, v. 11, n. 1, e0146339, 2016.
- PROTHERO, D. R. *et al.* On the Unnecessary and Misleading Taxon “Cetartiodactyla”. *Journal of Mammalian Evolution*, v. 29, p. 93-97, 2022.
- REID, A.; VAN HALDEREN, L. Impact of Deep Sea Oil Development on New Zealand marine wildlife. In: *Wildlife Management Reports*, n. 268, 2013.
- SAMBROOK, M.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2 Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989, 956p.
- SANTOS, M. C. O. *et al.* A Gervais' beaked whale (*Mesoplodon europaeus*) washed ashore in southeastern Brazil: extra limital record? *Aquatic Mammals*, v. 29.3, p. 404–410, 2003.
- SANTOS, M. C. *et al.* Cetacean records along São Paulo state coast, Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 58, n. 2, p. 123-142, 2010.
- SCHORR, G. S. *et al.* First long-term behavioral records from Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*) reveal record-breaking dives. *PLoS ONE*, v. 9, n. 3, e92633, 2014.
- DI SCIARA, G. N.; TONAY, A. M. *Conserving Whales, Dolphins & Porpoises in the Mediterranean Sea, Black Sea and adjacent areas*. ACCOBAMS, 2021, 160 p. Relatório técnico.

- SECCHI, E. *et al.* Progress on the knowledge of cetaceans in southern Brazil In: *Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals*, 10, 11-15 de novembro de 1993, Galveston, Texas, USA, p. 97.
- SECCHI, E. R.; ZARZUR, S. Plastic debris ingested by a Blainville's beaked whale, *Mesoplodon densirostris*, washed ashore in Brazil. *Aquatic Mammals*, v. 25, n. 1, p. 21-24, 1999.
- SICILIANO, S.; SANTOS, M. C. O. On the occurrence of the Arnoux's beaked whale (*Berardius arnuxii*) in Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 83, p. 887-888, 2003.
- SICILIANO, S.; LODI, L.; BOROBIA, M. In: REUNION DE TRABAJO DE ESPECIALISTAS EN MAMÍFEROS ACUATICOS DE AMERICA DEL SUR, 4, 12-15 de novembro de 1990, Valdivia, Chile. *Novos registros de mamíferos marinhos na costa brasileira*. 4a. Reunion de Trabajo de Especialistas en Mamíferos Acuáticos de América del Sur, Valdivia, Chile, 67.
- SILVA, V. S. *et al.* Integrating morphology and DNA barcoding to assess cetacean diversity in Brazil. *Mammal Research*, v. 66, n. 2, 2021.
- SLAZAY, F. S. The Hapalodectinae and a phylogeny of the Mesonychidae (Mammalia, Condylarthra). *American Museum novitates*, n. 2361, p. 1-26, 1969.
- SIMÕES-LOPES, P. C.; XIMENEZ, A. Annotated list of the cetaceans of Santa Catarina coastal waters, southern Brazil. *Biotemas*, v. 6, n. 1, p. 67-92, 1993.
- SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. Applying the Bootstrap in Phylogeny Reconstruction. *Statistical Science*, v. 18, n. 2, p. 256-267, 2003.
- DE SOUZA, S. P. *et al.* A True's beaked whale (*Mesoplodon mirus*) on the coast of Brazil: adding a new beaked whale species to the Western Tropical Atlantic and South America. *LAJAM*, v. 4, n. 2, p. 129-136, 2005.
- SUÁREZ, C. R. *Abundance estimate, survival and site fidelity patterns of Blainville's (Mesoplodon densirostris) and Cuvier's (Ziphius cavirostris) beaked whales off El Hierro (Canary Islands)*. Tese (Mestrado em Filosofia) - University of St Andrews, UK, p. 89. 2018
- TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, v. 38, p. 3022-3027, 2021.
- THE SOCIETY FOR MARINE MAMMALOGY. List of Marine Mammal Species and Subspecies, Disponível em <https://marinemammalscience.org/science-and-publications/list-marine-mammal-species-subspecies/>. Acesso em 05 maio 2022.
- THEWISSEN, J. G. M. *et al.* Skeletons of terrestrial cetaceans and the relationship of whales to artiodactyls. *Nature*, v. 413, n. 6853, p. 277-281, 2001.
- THEWISSEN, J. G. M. *et al.* Whales originated from aquatic artiodactyls in the Eocene epoch of India. *Nature*, v. 450, n. 7173 p. 1190-1194, 2007.

- THEWISSEN, J. G. M. *et al.* From Land to Water: the Origin of Whales, Dolphins, and Porpoises. *Evo Edu Outreach*, v. 2, p. 272-288, 2009.
- TURNER. On the Occurrence of *Ziphius cavirostris* in the Shetland Seas, and a Comparison of its Skull with that of Sowerby's Whale (*Mesoplodon Sowerby*). *Earth and Environmental Science Transactions of The Royal Society of Edinburgh*, v. 26, n. 4, p. 759-780, 1872.
- TYACK, P. L. *et al.* Extreme diving of beaked whales. *The Journal of Experimental Biology*, v. 209, p. 4238-4253, 2006.
- TYACK, P. L. *et al.* Beaked Whales Respond to Simulated and Actual Navy Sonar. *PLoS ONE*, v. 6, n. 3, e17009, 2011.
- VACHON, F.; WHITEHEAD, H.; FRASIER, T. R. What factors shape genetic diversity in cetaceans? *Ecology and Evolution*, v. 8, n. 3, p. 1554-1572, 2018.
- VAUGHAN, T. A.; RYAN, J. M.; CZAPLEWSKI, N. J. Cetacea. In: *Mammalogy*, 6 Ed. Jones & Bartlett Learning, 2013.
- VIÑAS, J.; ALVARADO BREMER, J. R.; PLA, C. Inter-oceanic genetic differentiation among albacore (*Thunnus alalunga*) populations. *Marine Biology*, v. 145, p. 225-232, 2004.
- VIRICEL, A.; ROSEL, P. E. Evaluating the utility of *cox1* for cetacean species identification. *Marine Mammal Science*, v. 28, n. 1, 37-62, 2012.
- WARD, R. *et al.* DNA Barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences*, v. 360, n. 1462, p. 1847-1857, 2005.
- WESTBURY, M. V. *et al.* Ocean-wide genomic variation in Gray's beaked whales, *Mesoplodon grayi*. *Royal Society Open Science*, v. 8, n. 3, 2021.
- WHITEHEAD, H. Cultural specialization and genetic diversity: Killer whales and beyond. *Journal of Theoretical Biology*, v. 490, 2020.
- YAMADA, T. K. *et al.* Description of a new species of beaked whale (*Berardius*) found in the North Pacific. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2019.
- YUSMALINDA, N. L. A. *et al.* Species Identification of Stranded Cetaceans in Indonesia Revealed by Molecular Technique. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, v. 9, n. 2, p. 465-474, 2017.
- ZANELATTO, R. C. *Ziphius cavirostris* Cuvier, 1823 (Cetacea, Ziphiidae) on the Brazilian coast, with notes on biometry. *Iheringia, Sér Zool.*, v. 79, p. 141-147, 1995.
- ZERBINI, A.N.; SECCHI, E. R. Occurrence of Hector's beaked whale, *Mesoplodon hectori*, in Southern Brazil. *Aquatic Mammals*, v. 27. 2, p. 149-153, 2001.