

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos**  
**Trópicos/PPG-DIBICT**

**EWERTON VIEIRA DOS SANTOS**

**PROCESSOS ECOLÓGICOS MOLDAM O TAMANHO DO GENOMA EM PEIXES**  
**RECIFAIS DA FAMÍLIA POMACENTRIDAE**

**MACEIÓ - AL**  
**Fevereiro/2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos**  
**Trópicos/PPG-DIBICT**

**EWERTON VIEIRA DOS SANTOS**

**PROCESSOS ECOLÓGICOS MOLDAM O TAMANHO DO GENOMA EM PEIXES**  
**RECIFAIS DA FAMÍLIA POMACENTRIDAE**

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

**Orientador: Prof. Dr. Uedson Pereira Jacobina**

**MACEIÓ - AL**  
**Fevereiro/2020**

**Catlogação na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos - CRB-4 - 2062

S237p Santos, Ewerton Vieira dos.  
Processos ecológicos moldam o tamanho do genoma em peixes recifais da família Pomacentridae / Ewerton Vieira dos. - 2020.  
43 f. : il. : figs. ; tabs. color.

Orientador: Uedson Pereira Jacobina  
Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos. Maceió, 2020.

Inclui bibliografias.

1.Eucariotos.2. Peixes recifais. 3. Pomacentridae. 4. Peixes – Genética. 5. Nichos ecológicos. I. Título.

CDU: 597.556.33

# Folha de aprovação

**Ewerton Vieira dos Santos**

## **ECOLOGICAL PROCESSES SHAPE THE GENOME SIZE IN REEF FISHES OF THE POMACENTRIDAE FAMILY**

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

Dissertação aprovada em 18 de fevereiro de 2020.

*Uedson Jacobina*

Prof. Dr. Uedson Pereira Jacobina/UFAL  
Orientador

*Jamille de A. Bitencourt*

Profa. Dra. Jamille de Araújo  
Bitencourt/UESB  
(membro titular)

*Tamí Mott*

Profa. Dra. Tamí Mott/UFAL  
(membro titular)

*Marcelo Ricardi Vicari*

Prof. Dr. Marcelo Ricardo Vicari/UEPE  
(membro titular)

MACEIÓ - AL

Fevereiro/2020

*Dedico a todos que amo  
minha esposa, filhos, pais e irmãos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me conduzido durante toda a minha trajetória de vida.

À minha esposa Bruna, por ter me incentivado a continuar nos estudos e ter sido suporte para a nossa família durante os momentos de minha ausência no decorrer desse processo.

Aos meus filhos Davi e Arthur, que ao proporcionarem momentos de brincadeiras comigo, fazem-me esquecer os estresses da vida e me ensinam a ser feliz somente com o olhar e o sorriso deles.

Aos meus pais Nunes e Rosinalva, por toda a educação que me deram e por continuarem me ajudando nos cuidados com minha família.

Aos meus irmãos, pelo companheirismo e ajuda durante nossa história de vida.

Aos meus sogros Ademir e Vitória, pelo incentivo nos meus estudos e por terem ajudado nos cuidados com minha família.

Ao orientador Prof. Uedson Pereira Jacobina, pela confiança, pela amizade, e por ter sido um grande incentivador de superação dos meus limites.

Aos Prof. Pablo Ariel Martinez, pela contribuição nos métodos utilizados para as análises da pesquisa.

À Profa. Tamí Motti, por ter acompanhado e contribuído no meu crescimento na produção científica, e também ter reconhecido minhas limitações e esforços enfrentados.

Aos revisores, Profs Marcelo Ricardo Vicari e Gustavo Souza que também contribuiu no melhoramento da minha pesquisa desde o início, assim como, a Profa. Jamille de Araújo Bitencourt que mesmo revisando apenas a defesa da dissertação deixa sua primorosa contribuição.

Aos amigos do LabSIM, pela contribuição na apresentação de trabalhos em congressos.

Aos amigos do Labmar, por toda ajuda e incentivo na minha qualificação profissional.

Aos amigos da turma do mestrado, por sempre me socorrerem nos momentos de desespero e por toda a cumplicidade.

*“A natureza é o único livro que oferece um conteúdo valioso em todas as suas folhas.”*

*Johann Goethe*

## RESUMO

O tamanho do genoma varia amplamente entre os eucariotos. No entanto, os impulsionadores evolutivos que moldam essa variação são basicamente desconhecidos em Pomacentridae. Informações do tamanho do genoma estão disponíveis para vários táxons de Actinopterygii, como é o caso de representantes de Pomacentridae, que têm se diversificado principalmente em ambientes recifais. No presente estudo, avaliamos por meio de métodos filogenéticos comparativos, quais traços ecológicos e ambientais modulam o tamanho do genoma em 49 espécies dessa família. Assim como, procuramos entender de que forma o tamanho do genoma evolui, avaliando cinco modelos de evolução de caracteres contínuos: evolução neutra, especiação, irradiação adaptativa, seleção normalizadora e a ausência de sinal filogenético. Nossas análises filogenéticas em um contexto temporal, revelaram que houveram expansões e retrações no tamanho do genoma com convergências e paralelismos em diferentes espécies. Além disso, encontramos uma forte relação entre o tamanho do genoma com amplitude de temperatura e salinidade, isto é, espécies com genomas maiores tendem a ocupar uma maior amplitude de nicho. Ao analisarmos os clados denominados I e II, verificamos trajetórias evolutivas distintas, principalmente envolvendo o clado I, que demonstrou uma forte associação com nível trófico, latitude média e profundidade. Nossos dados revelam o poder adaptativo do tamanho do genoma em moldar a história de vida das espécies de Pomacentridae, independente das suas relações de parentesco.

**Palavras-chave:** Actinopterygii, Métodos Filogenéticos Comparativos, Convergência, Paralelismo, Amplitude de Nicho Ecológico.



## ABSTRACT

Genome size varies widely among eukaryotes. However, the evolutionary drivers that shape this variation are largely unknown in Pomacentridae. Genome size information is available for several Actinopterygii taxa, as is the case with representatives of Pomacentridae, which has diversified mainly in reef environments. In the present study, we evaluated by means of comparative phylogenetic methods, which ecological traits shape the variation of genome size in 49 species of this family. As well, we try to understand how the genome size evolves, evaluating five continuous character evolution models: neutral evolution, speciation, adaptive irradiation, normalizing selection and the absence of a phylogenetic signal. Our phylogenetic analyses, in a temporal context, revealed that there were expansions and retractions in the genome size with convergences and parallelisms in different species. However, we found a strong relationship between genome size with temperature and salinity range, that is, species with larger genomes tend to occupy a greater niche range. When analysing the clades named I and II, we verify distinct evolutionary trajectories, mainly involving clade I, which showed a strong association with trophic level, medium latitude and depth. Our data reveal the adaptive power of the genome size to modify the life history of Pomacentridae species, regardless of their kinship relationships.

**Key-word:** Actinopterygii, Phylogenetic Comparative Methods, Convergence, Parallelism, Ecological Niche Range.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Árvore filogenética com tempo de divergência das espécies representantes da família Pomacentridae obtida por meio de inferência bayesiana. Os números e barras nos nós representam as idades estimadas e intervalos de densidade de probabilidade superior (HPD) de 95% de idade do nó, respectivamente. Ao lado direito variação do tamanho do genoma (a)..... 28
- Figura 2. Reconstrução ancestral das espécies avaliadas de Pomacentridae revelando: em (a) variações do tamanho do genoma, e em (b) amplitude de temperatura de superfície. As imagens dos peixes sequenciadas de cima para baixo *Pomacentrus imitator*, *Amphiprion melanopus*, *Stegastes aureus*, *Abudefduf septemfasciatus*, *Dascyllus aruanus* e *Dascyllus trimaculatus*, foram obtidas do site de domínio público *bold systems* (<http://www.boldsystems.org/index.php/>)..... 30
- Figura 3. Distribuição das espécies do clado I de peixes da família Pomacentridae. Em (a) distribuição mundial; em (b) gráfico da relação tamanho do genoma versus profundidade, realizado através de análise de regressão múltipla; em (c) plotagem tridimensional demonstrando a profundidade do tamanho do genoma versus localização georreferenciada. A coloração dos círculos e dos peixes correspondem variação do tamanho do genoma demonstrada na barra em degradê. .... 31
- Figura S1. Distribuição das espécies do clado ii de peixes da família Pomacentridae. Em (a) distribuição mundial; em (b) gráfico da relação tamanho do genoma versus profundidade, realizado através de análise de regressão múltipla; em (c) plotagem tridimensional demonstrando a profundidade do tamanho do genoma versus localização georreferenciada. A coloração dos círculos e dos peixes correspondem variação do tamanho do genoma demonstrada na barra em degradê. .... 42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Correlação entre tamanho do genoma e traços ecológicos das espécies da família Pomacentridae representadas na filogenia completa. ....	29
Tabela 2. Correlação entre tamanho do genoma e traços ecológicos das espécies da família Pomacentridae representadas na filogenia do clado I. ....	30
Tabela 3. Sumário de parâmetros e modelos de seleção para o tamanho do genoma das espécies da família Pomacentridae. Em destaque melhor modelo atribuído. ....	32
Tabela S1. Correlação entre tamanho do genoma e traços ecológicos das espécies da família Pomacentridae representadas na filogenia do clado II. ....	42

## SUMÁRIO

1	Apresentação.....	13
2	Revisão de Literatura.....	14
2.1	Origem e quantificação do termo tamanho do genoma .....	14
2.2	Variação do tamanho do genoma.....	14
2.3	Correlações com tamanho do genoma .....	15
2.4	A família Pomacentridae.....	16
2.5	Diversificação em Pomacentridae .....	17
	Referências.....	18
3.	PROCESSOS ECOLÓGICOS MOLDAM O TAMANHO DO GENOMA EM PEIXES RECIFAIS DA FAMÍLIA POMACENTRIDAE .....	21
3.1.	Introdução.....	22
3.2.	Material e Métodos .....	24
3.2.1.	Reconstrução Filogenética e Tempo de Divergência .....	24
3.2.2.	Tamanho do Genoma.....	25
3.2.3.	Obtenção de dados ecológicos das espécies.....	25
3.2.4.	Métodos Filogenéticos Comparativos.....	25
3.3.	Resultados.....	27
3.3.1.	Relações Filogenéticas Pomacentridae.....	27
3.3.2.	Tamanho do Genoma.....	28
3.3.3.	Métodos Filogenéticos comparativos.....	29
3.4.	Discussão .....	32
	Considerações Finais .....	35
	Referências.....	36
	Conclusão.....	41
	Material Suplementar.....	42

# 1 Apresentação

A presente dissertação visa contribuir para um melhor entendimento sobre a história de vida de uma das principais famílias de peixes que habitam recifes de corais, Pomacentridae. Muitos de seus representantes desempenham um importante papel ecológico, embora algumas espécies já se encontram em estado de extinção por possuir características marcantes em padrões de coloração, sendo alvos de exploração com vistas econômicas para aquarioria.

Para tanto, dividimos esta dissertação em dois capítulos. O primeiro é uma revisão de literatura, onde são abordados aspectos sobre a origem e quantificação do tamanho do genoma, e o levantamento de alguns estudos que procuram correlacionar informações do tamanho do genoma com outros traços biológicos das espécies. Além disso, foram abordadas informações sobre a história de vida de algumas espécies de Pomacentridae.

No segundo capítulo, apresentamos a proposta de artigo principal, que será submetido a *Experimental Marine Biology and Ecology*. O objetivo foi avaliar quais fatores ecológicos/ambientais modulam a diversidade do tamanho do genoma em Pomacentridae, utilizando métodos filogenéticos comparativos e modelos evolutivos.

## 2 Revisão de Literatura

### 2.1 Origem e quantificação do termo tamanho do genoma

A constância notável no conteúdo do DNA nuclear de todas as células em todos os indivíduos de uma mesma espécie animal, foi relatada por Vendrely e Vendrely (1948). No entanto, só em 1950 essa constância da quantidade do DNA nuclear passou a ser denominado “Valor C” por Hewson Swift. Valor C passou a significar ‘classes’ constantes de conteúdo de DNA (Swift, 1950). Atualmente, o termo valor C é usado concomitantemente ao termo tamanho do genoma. Já a origem do termo tamanho do genoma surgiu em 1968 com Ralph Hinegardner, quando questionou se o conteúdo do DNA celular refletia-se ao tamanho do genoma (Hinegardner, 1968). Esse termo se tornou comum no início da década de 1970 (Ohno, 1970). Desde então, o termo tamanho do genoma é usado para expressar o conteúdo de DNA haploide, ou valor C, não sendo estritamente correto para os poliploides, em que o valor C inclui vários genomas (Kraaijeveld, 2010). Esse conteúdo é medido em termos de massa picogramas (pg = trilionésimos [ $10^{-12}$ ] de um grama), ou como o número total de pares de bases nucleotídicas tipicamente em megabases (Mb ou Mbp [milhões de pares de bases] 1pg = 978 Mb (Dolezel et al., 2003).

### 2.2 Variação do tamanho do genoma

A variação do tamanho do genoma pode ser guiada por diferentes mecanismos evolutivos como mutações (inserção, deleção, replicações, duplicações) (Gregory, 2005), assim como, elementos transponíveis (ETs). Essas mudanças, podem afetar características dos organismos, influenciando em processos de adaptação e especiação (Gregory, 2005; Carducci et al., 2019). Entre os eucariotos, a variação do tamanho do genoma tem se mostrado um traço altamente variável ao longo das linhagens (Gregory, 2005). Nos animais, por exemplo, o menor tamanho do genoma é encontrado em um nematoide parasita de plantas *Pratylenchus coffeae*, 0,02 pg, já o maior tamanho do genoma é encontrado no peixe pulmonado africano, *Protopterus aethiopicus*, 132,83 pg (Gregory, 2019). Porém, essa variação não está relacionada com a complexidade organizacional geral dos organismos (Mirsky e Ris, 1951). Por exemplo, alguns protistas unicelulares, em especial *Polychaos dubium* com  $670 \times 10^9$  pb, têm genomas muito maiores que os humanos com  $3,2 \times 10^9$  pb (Gregory, 2001). A falta de correlação entre o

conteúdo de DNA e a complexidade orgânica foi denominada “paradoxo do valor C” (Thomas, 1971). O termo paradoxo do valor C implicava ausência de conhecimento mais aprofundado sobre os DNAs repetitivos, devido falta de compreensão de algumas funcionalidades do genoma eucariótico (Biscotti, Olmo e Heslop-Harrison, 2015). No entanto foi sugerido e aceito até então, a substituição do termo “paradoxo do valor C” para “enigma do valor C” (Gregory, 2001), implicando uma série de questões a serem descobertas e discutidas pela ciência, principalmente envolvendo análises relacionadas a quantidade de DNAs repetitivos (Biscotti, Olmo e Heslop-Harrison, 2015).

### 2.3 Correlações com tamanho do genoma

O surgimento de várias técnicas moleculares de mensuração do DNA (Gregory, 2001), principalmente alinhadas aos avanços computacionais, permitiram analisar os tamanhos do genoma de milhares de eucariotos. Dados do tamanho do genoma estão disponíveis em bancos de dados on-line, por exemplo para animais (*Animal Genome Size Database*: <http://www.genomesize.com/>) (Gregory, 2019), plantas (*Plant DNA C-values Database*: <https://cvalues.science.kew.org/>) (Leitch et al., 2019) e fungos (*Fungal Genome Size Database*: (<http://www.zbi.ee/fungal-genomesize/index.php>) (Kullman, Tamm e Kullman, 2005). A disponibilidade de informações sobre as espécies em banco de dados de domínio público têm permitido revisitar descobertas anteriores e testar novas hipóteses (Pellicer et al., 2018). Como por exemplo, é possível testar hipóteses adaptativas das espécies utilizando informações georreferenciadas disponibilizadas em bancos de dados como *Global Biodiversity Information Facility – GBIF* (<https://www.gbif.org/>) (Yesson et al., 2007). Assim como há disponibilidade gratuita de dados climáticos ambientais de toda superfície oceânica (*Ocean Rasters for Analysis of Climate and Environment - Bio-Oracle*: <http://www.bio-oracle.org/explore-data.php>) (Tyberghein et al., 2012).

Estudos têm correlacionado o tamanho do genoma com uma gama de características mensuráveis ao nível celular e traços ecológicos dos organismos (Gregory, 2005; Hultgren et al., 2018; Sclavi e Herrick, 2019). Com isso, várias tendências relacionando o tamanho do genoma foram associadas. Entre essas tendências destacamos (i) a redução do conteúdo de DNA durante a evolução no processo de especiação (Nagato, Yamamoto e Yamashita, 1981; Francino, 2005); (ii) a diversificação em organismos que apresentam genomas menores é mais rápida em relação aos

organismos com genomas maiores (Hinegardner, 1968; Hinegardner e Rosen, 1972; Hardie e Hebert, 2004); (iii) a diminuição do tamanho do genoma é relacionada a especialização das espécies, a exemplo dos casos descritos de peixes poecilídeos (Cimino, 1974). Porém, esta predição do tamanho do genoma menor para peixes especialistas, foram contestados por Smith e Gregory (2009). Para eles a especialização estaria ligada a poucas espécies de um grupo; (iv) tamanhos de genomas maiores foram correlacionados a nichos mais amplos, influenciando no sucesso adaptativo de peixes em ambientes com diferentes concentrações salinas, como é caso dos salmonídeos (Allendorf e Thorgaard, 1984), e gobídeos (Adrian-Kalchhauser et al., 2017); e (v) genomas menores geralmente têm taxas metabólicas maiores e vivem em ambientes tropicais (Xia, 1995; Leiva, Calosi e Verberk, 2019). Todas essas tendências aqui citadas, serviram de base para a discussão deste estudo.

#### **2.4 A família Pomacentridae**

Pomacentridae é uma família de peixes com barbatanas raiadas pertencendo a classe dos Actinopterygii, com cerca de 405 espécies classificadas em 29 gêneros (Froese e Pauly, 2019). Dois desses gêneros, *Amphiprion* e *Premnas* (subfamília Amphiprioninae), são comumente chamados de peixes-palhaço ou *anemonefish*, enquanto os outros gêneros (por exemplo, *Pomacentrus*), são comumente chamados de donzelinhas (Froese e Pauly, 2019). Essa família esteve alocada na ordem Perciformes, mas atualmente é considerada na ordem Ovalentaria no clado Percomorpha (Nelson, Grande e Wilson, 2016). Os membros desta família são classificados em quatro subfamílias: Amphiprioninae, Chrominae, Lepidozyginae e Pomacentrinae (Allen, 1991). Os pomacentrídeos apresentam ampla distribuição, espalhados em regiões tropicais dos Oceanos Índico, Atlântico e Pacífico (Nelson, Grande e Wilson, 2016). Embora predominantemente marinha, sendo a maioria associada a recifes de corais, algumas espécies se estendem em ambientes estuarinos e de água doce, geralmente preferindo águas mais rasas (Froese e Pauly, 2019). Os membros dessa família são conhecidos por suas constituições de baixa vulnerabilidade, alta resiliência e territorialidade (Nelson, Grande e Wilson, 2016; Froese e Pauly, 2019). Muitas espécies de Pomacentridae são de cores vivas, sendo populares no apelo a aquariorfilia (Froese e Pauly, 2019).



## 2.5 Diversificação em Pomacentridae

Pomacentridae é monofilética (Jang-Liaw et al., 2002; Cooper, Smith e Westneat, 2009). O primeiro registro fóssil de Pomacentridae data entre 50 a 60 milhões de anos (Mya) durante o Eoceno, encontrado em Monte Bolca, Itália (Bellwood e Sorbini, 1996). Estudos têm sustentado a predição de que a diversificação dessa família foi guiada pelo processo de radiação adaptativa (Cooper e Westneat, 2009; Litsios et al., 2012; Aguilar-Medrano, Reyes-Bonilla e Polly, 2015). Evolução por radiação adaptativa é comumente utilizada para se referir a uma linhagem que divergiu rapidamente, de modo que seus descendentes ocupem uma ampla variedade de nichos ecológicos vagos (Gavrilets e Losos, 2009). Tal modelo de evolução, parece ser bastante próprio para essa família, devido ao fato da maioria de suas espécies habitarem os ambientes intrincados de recifes de coral. No entanto, tem sido demonstrado que algumas espécies de Pomacentridae se diversificaram em hábitos alimentares distintos (Lobato et al., 2014). Alguns pomacentrídeos apresentaram diferenciação na forma e função do crânio conforme a adaptação alimentar (Cooper e Westneat, 2009); e os peixes-palhaço desenvolveram uma especiação ecológica através de mutualismo com anêmonas do mar em busca de proteção (Litsios et al., 2012). Tais características associadas aos seus modos de diversificação os tornam excelentes modelos para avaliar quais traços ecológicos estariam associados a mudanças do tamanho do genoma, levando em consideração as suas trajetórias filogenéticas em um contexto temporal.

## Referências

- ADRIAN-KALCHHAUSER, I.; SVENSSON, O.; KUTSCHERA, V. E.; ALM ROSENBLAD, M.; PIPPEL, M.; WINKLER, S.; SCHLOISSNIG, S.; BLOMBERG, A.; BURKHARDT-HOLM, P. The mitochondrial genome sequences of the round goby and the sand goby reveal patterns of recent evolution in gobiid fish. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 12–14, 2017.
- AGUILAR-MEDRANO, R.; REYES-BONILLA, H.; POLLY, P. D. Adaptive radiation of damselfishes (Perciformes, Pomacentridae) in the eastern Pacific. **Marine Biology**, v. 162, n. 11, p. 2291–2303, 2015.
- ALLEN, G. R. **Damselfishes of the world**. Melle, Germany: Mergus, 1991.
- ALLENDORF, F. W.; THORGAARD, G. H. Tetraploidy and the evolution of salmonid fishes. *In*: **Evolutionary genetics of fishes**. Boston: Springer, 1984. p. 1–53.
- BELLWOOD, D. R.; SORBINI, L. A review of the fossil record of the Pomacentridae (Teleostei: Labroidei) with a description of a new genus and species from the Eocene of Monte Bolca, Italy. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 117, n. 2, p. 159–174, 1996.
- BISCOTTI, M. A.; OLMO, E.; HESLOP-HARRISON, J. S. (PAT). Repetitive DNA in eukaryotic genomes. **Chromosome Research**, v. 23, n. 3, p. 415–420, 2015.
- CARDUCCI, F.; BISCOTTI, M. A.; FORCONI, M.; BARUCCA, M.; CANAPA, A. An intriguing relationship between teleost Rex3 retroelement and environmental temperature. **Biology Letters**, v. 15, n. 9, p. 20190279, 2019.
- CIMINO, M. C. The nuclear DNA content of diploid and triploid Poeciliopsis and other poeciliid fishes with reference to the evolution of unisexual forms. **Chromosoma**, v. 47, n. 3, p. 297–307, 1974.
- COOPER, W. J.; SMITH, L. L.; WESTNEAT, M. W. Exploring the radiation of a diverse reef fish family: Phylogenetics of the damselfishes (Pomacentridae), with new classifications based on molecular analyses of all genera. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 52, n. 1, p. 1–16, 2009.
- COOPER, W. J.; WESTNEAT, M. W. Form and function of damselfish skulls: Rapid and repeated evolution into a limited number of trophic niches. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 2009.
- DOLEZEL, J.; BARTOS, J.; VOGLMAYR, H.; GREILHUBER, J. Nuclear DNA content and genome size of trout and human. **Cytometry**, v. 51A, p. 127–128, 2003.
- FRANCINO, M. P. An adaptive radiation model for the origin of new gene functions. **Nature Genetics**, v. 37, n. 6, p. 573–577, 2005.
- FROESE, R.; PAULY, D. **FishBase**. Disponível em: <[www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)>. Acesso em: 8 fev. 2019.
- GAVRILETS, S.; LOSOS, J. B. Adaptive Radiation: Contrasting Theory with Data. **Science**, v. 323, n. February, p. 732–737, 2009.
- GREGORY, T. R. Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C - value enigma. **Biological Reviews**, v. 76, p. 65–101, 2001.

- GREGORY, T. R. Genome Size Evolution in Animals. *In: The Evolution of the Genome*. Amsterdam: Elsevier, 2005. p. 3–87.
- GREGORY, T. R. **Animal Genome Size Database**. Disponível em: <<http://www.genomesize.com>>. Acesso em: 9 ago. 2019.
- HARDIE, D. C.; HEBERT, P. D. Genome-size evolution in fishes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 61, n. 9, p. 1636–1646, 2004.
- HINEGARDNER, R. Evolution of Cellular DNA Content in Teleost Fishes. **The American Naturalist**, v. 102, n. 928, p. 517–523, 1968.
- HINEGARDNER, R. Evolution of genome size. *In: AYALA, F. J. (Ed.). . Molecular Evolution*. Sunderland: Sinauer Associates, 1976. p. 179–199.
- HINEGARDNER, R.; ROSEN, D. E. Cellular DNA Content and the Evolution of Teleostean Fishes. **The American Naturalist**, v. 106, n. 951, p. 621–644, 1972.
- HULTGREN, K. M.; JEFFERY, N. W.; MORAN, A.; GREGORY, T. R. Latitudinal variation in genome size in crustaceans. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 2, p. 348–359, 2018.
- JANG-LIAW, N. H.; TANG, K. L.; HUI, C. F.; SHAO, K. T. Molecular phylogeny of 48 species of damselfishes (Perciformes: Pomacentridae) using 12S mtDNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 25, n. 3, p. 445–454, 2002.
- KRAAIJEVELD, K. Genome Size and Species Diversification. **Evolutionary Biology**, v. 37, n. 4, p. 227–233, 2010.
- KULLMAN, B.; TAMM, H.; KULLMAN, K. **The database should be cited as follows**. Disponível em: <[www.zbi.ee/fungal-genomesize/](http://www.zbi.ee/fungal-genomesize/)>. Acesso em: 30 jan. 2020.
- LEITCH, I.; JOHNSTON, E.; PELLICER, J.; HIDALGO, O.; BENNETT, M. **Plant DNA C-values Database**. Disponível em: <[www.cvalues.science.kew.org/](http://www.cvalues.science.kew.org/)>. Acesso em: 30 jan. 2020.
- LEIVA, F. P.; CALOSI, P.; VERBERK, W. C. E. P. Scaling of thermal tolerance with body mass and genome size in ectotherms: a comparison between water- and air-breathers. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 374, n. 1778, p. 20190035, 2019.
- LITSIOS, G.; SIMS, C. A.; WÜEST, R. O.; PEARMAN, P. B.; ZIMMERMANN, N. E.; SALAMIN, N. Mutualism with sea anemones triggered the adaptive radiation of clownfishes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 12, n. 1, 2012.
- LOBATO, F. L.; BARNECHE, D. R.; SIQUEIRA, A. C.; LIEDKE, A. M. R.; LINDNER, A.; PIE, M. R.; BELLWOOD, D. R.; FLOETER, S. R. Diet and diversification in the evolution of coral reef fishes. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 1–11, 2014.
- MIRSKY, A. E.; RIS, H. The desoxyribonucleic acid content of animal cells and its evolutionary significance. **Journal of General Physiology**, v. 34, n. 4, p. 451–462, 1951.
- NAGATO, Y.; YAMAMOTO, K.; YAMASHITA, H. Variation of DNA content in Asian Rice. **The Japanese Journal of Genetics**, v. 56, n. 5, p. 483–493, 1981.
- NELSON, J. S.; GRANDE, T. C.; WILSON, M. V. H. **Fishes of the World**. 5th. ed. New York: John Wiley & Sons, 2016.
- OHNO, S. **Evolution by gene duplication**. New York: Springer-Verlag, 1970.

- PELLICER, J.; HIDALGO, O.; DODSWORTH, S.; LEITCH, I. J. Genome size diversity and its impact on the evolution of land plants. **Genes**, v. 9, n. 2, p. 88, 2018.
- SCLAVI, B.; HERRICK, J. Genome size variation and species diversity in salamanders. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 32, n. 3, p. 278–286, 2019.
- SMITH, E. M.; GREGORY, T. R. Patterns of genome size diversity in the ray-finned fishes. **Hydrobiologia**, v. 625, n. 1, p. 1–25, 2009.
- SWIFT, H. The Constancy of Desoxyribose Nucleic Acid in Plant Nuclei. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 36, n. 11, p. 643–654, 1950.
- THOMAS, C. A. The Genetic Organization of Chromosomes. **Annual Review of Genetics**, v. 5, n. 1, p. 237-256, 1971.
- TYBERGHEIN, L.; VERBRUGGEN, H.; PAULY, K.; TROUPIN, C.; MINEUR, F.; CLERCK, O. DE. Bio-ORACLE: A global environmental dataset for marine species distribution modelling. **Global Ecology and Biogeography**, v. 21, n. 2, p. 272–281, 2012.
- VENDRELY, R.; VENDRELY, C. La teneur du noyau cellulaire en acide déoxyribonucléique à travers les organes, les individus et les espèces animales. **Experientia**, v. 4, n. 11, p. 434–436, 1948.
- XIA, X. Body temperature, rate of biosynthesis, and evolution of genome size. **Molecular biology and evolution**, v. 12, n. 5, p. 834–42, 1995.
- YESSON, C.; BREWER, P. W.; SUTTON, T.; CAITHNESS, N.; PAHWA, J. S.; BURGESS, M.; GRAY, W. A.; WHITE, R. J.; JONES, A. C.; BISBY, F. A.; CULHAM, A. How global is the global biodiversity information facility? **PLoS ONE**, v. 2, n. 11, 2007.

### 3. PROCESSOS ECOLÓGICOS MOLDAM O TAMANHO DO GENOMA EM PEIXES RECIFAIS DA FAMÍLIA POMACENTRIDAE

Ewerton Vieira dos Santos<sup>1</sup>, Pablo Ariel Martinez<sup>2</sup> & Uedson Pereira Jacobina<sup>1</sup>

1- Laboratório de Sistemática Integrativa Molecular, Campus-Penedo/ Universidade Federal de Alagoas, Avenida Beira Rio s/n, Penedo CEP 57200-000, Alagoas, Brasil, Phone/Fax: +55823551-2784;

2- PIBiLab - Laboratório de Pesquisas Integrativas em Biodiversidade, Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Brasil.

#### Resumo

O tamanho do genoma varia amplamente entre os eucariotos. No entanto, os impulsionadores evolutivos que moldam essa variação são basicamente desconhecidos em Pomacentridae. Informações do tamanho do genoma estão disponíveis para vários táxons de Actinopterygii, como é o caso de representantes de Pomacentridae, que têm se diversificado principalmente em ambientes recifais. No presente estudo, avaliamos por meio de métodos filogenéticos comparativos, quais traços ecológicos e ambientais modulam o tamanho do genoma em 49 espécies dessa família. Assim como, procuramos entender de que forma o tamanho do genoma evolui, avaliando cinco modelos de evolução de caracteres contínuos: evolução neutra, especiação, irradiação adaptativa, seleção normalizadora e a ausência de sinal filogenético. Nossas análises filogenéticas em um contexto temporal, revelaram que houveram expansões e retrações no tamanho do genoma com convergências e paralelismos em diferentes espécies. Além disso, encontramos uma forte relação entre o tamanho do genoma com amplitude de temperatura e salinidade, isto é, espécies com genomas maiores tendem a ocupar uma maior amplitude de nicho. Ao analisarmos os clados denominados I e II, verificamos trajetórias evolutivas distintas, principalmente envolvendo o clado I, que demonstrou uma forte associação com nível trófico, latitude média e profundidade. Nossos dados revelam o poder adaptativo do tamanho do genoma em moldar a história de vida das espécies de Pomacentridae, independente das suas relações de parentesco.

**Palavras-chave:** Actinopterygii, Métodos Filogenéticos Comparativos, Convergência, Paralelismo, Amplitude de Nicho Ecológico.

### 3.1. Introdução

Variações do tamanho do genoma têm um papel central na história evolutiva dos eucariotos, a qual têm-se demonstrado um traço altamente variável ao longo da diferenciação das linhagens (Gregory, 2005). A variação do tamanho do genoma pode ser guiada por diferentes mecanismos genéticos, associados a mutações do tipo inserção, deleção e duplicação, que muitas vezes são moldados por elementos transponíveis (ETs) (Gregory, 2005; Shao, Han and Peng, 2019). De fato, estes processos podem acarretar em mudanças nas características associadas aos processos de adaptação e especiação dos organismos (Sclavi and Herrick, 2019; Souza et al., 2019; Carducci et al., 2019).

Nos últimos anos, avanços científicos relacionados ao entendimento dos aspectos evolutivos das espécies, como reconstruções filogenéticas robustas a partir de dados moleculares, implementação de métodos filogenéticos comparativos atrelados a distribuição e ecologia das espécies, têm permitido compreender os fatores que moldam a diversidade das espécies (Felsenstein, 1988; Blomberg, Garland and Ives, 2003; Gouy, Guindon and Gascuel, 2010; Harmon et al., 2010; Drummond et al., 2012; Tamura et al., 2013). Essas informações possibilitaram revisitar descobertas anteriores, como é o caso das relações restritas ao tamanho do genoma (Detrich and Amemiya, 2010; Dai et al., 2019). Com isso, as possibilidades de testar hipóteses que explicam as diferenças de diversidade do tamanho do genoma entre táxons e a sua associação a fatores geográficos e ambientais aumentaram (Smith and Gregory, 2009; Sclavi and Herrick, 2019; Leiva, Calosi and Verberk, 2019).

Estudos filogenéticos comparativos têm encontrado relação entre a evolução do tamanho do genoma com o nicho climático ou as taxas de crescimento em plantas como em bromeliaceae (Müller et al., 2019) e caesalpinias (Souza et al., 2019). Em crustáceos, a diversidade do tamanho do genoma tem sido associada a diferentes estratégias de história de vida, como traços fisiológicos e ecológicos (Hessen and Persson, 2009); profundidade e tamanho do corpo (Jeffery et al., 2017); latitude (Hultgren et al., 2018). Em grupos de salamandras têm se encontrado uma associação do tamanho do genoma à área geográfica e nicho climático (Sclavi and Herrick, 2019). Em peixes, a correlação entre tamanho do genoma e variações térmicas ambientais foram encontradas em alguns grupos de Actinopterygii (Smith and Gregory, 2009), como é o caso Nototheniídeos antárticos (Detrich and Amemiya, 2010). Já efeitos da salinidade têm sido associados a

distribuição dos gobiídeos (Adrian-Kalchhauser et al., 2017). Contudo, essas relações não levaram em consideração as relações filogenéticas entre as espécies estudadas.

No ambiente marinho, os peixes pomacentrídeos da Ordem Ovalentaria é um dos grupos mais diversos que habitam ambientes recifais, os quais têm-se sugerido uma diversificação por radiação adaptativa (Nelson, 2014; Aguilar-Medrano, Reyes-Bonilla and Polly, 2015). Pomacentridae é monofilética (Jang-Liaw et al., 2002; Cooper, Smith and Westneat, 2009), de ampla distribuição, espalhada em regiões tropicais dos Oceanos Índico, Atlântico e Pacífico (Nelson, 2004). É predominantemente marinha, sendo a maioria associada a recifes de corais, embora algumas espécies se estendam em ambientes estuarinos e de água doce (Bellwood and Sorbini, 1996). Condições abióticas, como temperatura, salinidade e distribuição latitudinal, além de condições bióticas como nível trófico, têm sido alguns dos principais determinantes na distribuição dos táxons marinhos (Smith and Gregory, 2009). Para pomacentrídeos, a temperatura e a profundidade parecem ser as principais barreiras que moldam a sua distribuição (Aguilar-Medrano et al., 2015), uma vez que, seus representantes preferem águas rasas, cujas variações abióticas apresentam uma amplitude de normalidade (Allen, 1991). Embora, alguns dos seus representantes adentrem altas profundidades (Lieske and Myers, 1994).

Nos últimos anos, variáveis abióticas marinhas têm sido disponibilizadas em banco de dados para todas as regiões do mundo (Tyberghein et al., 2012), assim como, dados georreferenciados e informações ecológicas das espécies têm sido cada vez mais refinadas (Yesson et al., 2007). Além disso, informações do tamanho do genoma de Pomacentridae foram disponibilizadas para várias espécies, com informações representativas dos principais gêneros, o que nos permitem testar se as mudanças do tamanho do genoma foram determinantes na diversificação desse grupo em ambientes tropicais.

Neste estudo, avaliamos por meio de métodos filogenéticos comparativos e análise de regressão múltipla, quais fatores modularam a variação do tamanho do genoma em Pomacentridae, visando entender se as variações no seu tamanho foram processos determinísticos associados com a radiação desse grupo nos diferentes oceanos Atlântico, Índico e Pacífico.

## 3.2. Material e Métodos

### 3.2.1. Reconstrução Filogenética e Tempo de Divergência

Reconstruímos a filogenia em Pomacentridae utilizando marcadores mitocondriais e nucleares por espécie, obtidos do banco de dados de domínio público os marcadores mitocondriais COI (652pb), 12S (910pb), 16S (545pb), Cytb (1072pb) e nucleares RAG1 (903pb) e RAG2 (802pb) (ver em material suplementar, lista completa das espécies e números de acesso). Cada gene foi alinhado e sua partição foi avaliada separadamente. Alinhamos as sequências de cada gene usando o método ClustalW no MEGA6 (Tamura et al., 2013). Todos os alinhamentos foram inspecionados e corrigidos, quando necessário, visualmente. Usamos Partitionfinder (Lanfear et al., 2012) para selecionar o melhor modelo de substituição seguindo Critério de Informação de Akaike (AIC). Identificamos GTR+G+I como o melhor modelo entre as partições para o nosso conjunto de dados, por testes de razão de verossimilhança. Utilizamos o software SeaView4 (Gouy et al., 2010) para concatenar os diferentes loci. A matriz final compreendeu 4884pb.

Usamos o BEAST para inferir simultaneamente a filogenia e estimar os tempos de divergência entre as espécies de Pomacentridae. Utilizamos três pontos de calibração, um ponto de calibração de um fóssil para o nó basal dos Pomacentridae para obter estimativas do tempo de divergência absoluto. O fóssil é o primeiro registro de Pomacentridae (Monte Bolca, Itália) datado de aproximadamente 50 a 60 milhões de anos atrás (Mya) (Bellwood and Sorbini, 1996). Além disso, utilizamos mais dois fósseis para pontos de calibração internos com idades mínimas, *Dascyllus shandogianus* (20.4 -15.9 Mya), *Chromis* (7.2. 5.3 Mya), acessados no *Paleobiology Database* em 02 de novembro de 2019 (<https://paleobiodb.org/#/>). Obtivemos árvores ultra métricas por inferência Bayesiana (IB) no BEAST 1.8.2 com *Yule and birth-death priors* (Drummond et al., 2012). A IB consistiu em duas corridas independentes com 50 milhões de gerações cada, com amostragem a cada 5.000 árvores. Inspecionamos visualmente a convergência das cadeias no Tracer 1.5 (Drummond et al., 2012), para verificar se tinham alcançado a convergência, atestando que os valores de ESS (*Effective Sample Size*) estivessem acima 200. Por fim, obtivemos uma árvore consenso 50% *majority-rule* pós *burn-in*. Visualizamos a árvore no FigTree v1.3.1 (Rambaut and Drummond, 2009) (Figura 1).



### 3.2.2. Tamanho do Genoma

O tamanho do genoma ou Valor C (em picogramas), foi obtido a partir de um conjunto de dados disponibilizados no site <http://www.genomesize.com/> (Gregory, 2019). Para os pomacentrídeos têm sido disponibilizadas informações de tamanho do genoma para 49 espécies, constituintes dos principais gêneros. Para as espécies que apresentaram mais de um valor C, utilizamos o valor médio (Figura 1 [a]).

### 3.2.3. Obtenção de dados ecológicos das espécies

Coletamos informações ecológicas das espécies que possuíam o tamanho do genoma conhecido. As variáveis obtidas foram: o nível trófico, intervalo de profundidade e o tipo de habitat (Marinho, ou associados a estuarinos/lagoas) no site *FishBase* (<https://www.fishbase.se/search.php>) (Froese and Pauly, 2019).

Dados de ocorrência das espécies foram obtidos no site da *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF) (<https://www.gbif.org/>) (Yesson et al., 2007). Nós checamos essas coordenadas georreferenciadas com informações nos sites *Fishbase* e *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) (<https://www.iucn.org/>), com a finalidade de descartar os pontos duplicados e coordenadas errôneas. Após tais tratamentos, essas coordenadas foram utilizadas para o cálculo da Área em km<sup>2</sup> através do mínimo polígono convexo (Mohr, 1947) e da Latitude Média de cada espécie utilizando o pacote *adehabitatHR* no R 3.6.0 (Calenge, 2015). A distribuição foi plotada usando o software QGIS v. 2.18 (QGIS Development Team, 2014).

Para testar a hipótese adaptativa para o tamanho do genoma, dados climáticos de variáveis marinhas que envolvem amplitude de nicho (Temperatura, Salinidade e Produtividade Primária), foram extraídas no site *Bio-Oracle* (*Ocean Rasters for Analysis of Climate and Environment*) (<http://www.bio-oracle.org/explore-data.php>) (Tyberghein et al., 2012), coletadas em pixels de tamanho de grid de 5 arcmin (c. 9,2 km<sup>2</sup>), para o período presente. Selecionamos os arquivos das camadas dos valores médios, tanto para a superfície, quanto para a profundidade média de cada ponto georreferenciado por registro de cada espécie. Ao fim, obtivemos a amplitude dessas variáveis calculando o valor máximo menos o valor mínimo de cada uma das variáveis (Olalla-Tárraga et al., 2015).

### 3.2.4. Métodos Filogenéticos Comparativos

Levando em consideração as relações filogenéticas, avaliamos a relação entre o tamanho do genoma e os traços ecológicos e ambientais das espécies, entre os quais

analisamos o fator biótico nível trófico e os seguintes fatores abióticos: Amplitudes da Temperatura de Superfície, Amplitudes da Temperatura da Profundidade Média, Amplitudes da Salinidade da Superfície e Amplitudes da Salinidade da Profundidade Média. Também analisamos a relação entre o tamanho do genoma com a Área Geográfica, Latitude Média, Amplitude de Profundidade, e habitat Ambiente Estuário/Lagoa, neste item estão relacionadas as espécies que conseguem adentrar nesses ambientes, além das Amplitude de Produtividade Primária da Superfície e Amplitude de Produtividade Primária da Profundidade Média. Todos esses traços avaliados são comumente relacionados como fatores ecológicos limitantes de distribuição dessas espécies (Hultgren et al., 2018; Pinheiro et al., 2018; Qiu et al., 2019; Souza et al., 2019; Dai et al., 2019).

As correlações entre o tamanho do genoma e os fatores ecológicos e ambientais foram investigados de duas maneiras: (i) considerando todos Pomacentridae e (ii) utilizando os clados filogenéticos I e II separadamente (ver resultados). A correlação potencial foi avaliada pela análise através de mínimos quadrados generalizados filogenéticos PGLS, que incorpora informações filogenéticas por meio de uma matriz de comprimento de ramificação (Grafen, 1989). Para esta, utilizamos a função `ppls` com pacote `Caper` no R 3.6.0 (Orme et al., 2013). Como a normalidade não é uma suposição para as análises de correlação de Pearson e como várias transformações (por exemplo, raiz quadrada ou log) não melhoraram a assimetria dos dados de tamanho do genoma, usamos dados não transformados para todas as análises. Para avaliar a variação do coeficiente de PGLS em relação a latitude e o tamanho do genoma, foi realizada uma análise de regressão múltipla. A função `scatter3D` no pacote `Plotly` (<https://plot.ly/r/>) foi usada para criar um gráfico de dispersão tridimensional para visualizar como o tamanho do genoma depende linearmente da profundidade, tendo longitude e latitude como variáveis preditoras. Um plano 3D de tendência e análises estatísticas padrão também foram realizadas usando o mesmo pacote, mas sem considerar as análises estatísticas filogenéticas. O software `CoreDRAW` versão X7 foi usado para plotar dados gráficos e desenhar a topologia em árvore.

Estimamos o sinal filogenético com  $K$  de Blomberg usando a função `phylosig` com o pacote `Phytools` implementado no R 3.6.0 (Revell, 2012). Para esse índice, um valor próximo de 0 é diagnóstico de uma estrutura filogenética fraca ou inexistente, enquanto valores próximos a 1 são esperados se os dados seguirem um modelo de evolução por movimento browniano (BM) (Blomberg et al., 2003).

Para analisar o modo de evolução do tamanho do genoma, testamos modelos de evolução de caracteres contínuos (Pagel, 1999) com o pacote geiger (Harmon et al., 2008) em R 3.6.0. Avaliamos cinco modelos evolutivos: (i) Modelo de evolução neutra (Browniano) (Felsenstein, 1985) que representava inicialmente a evolução de atributos sob deriva genética, mas outros processos, incluindo seleção, podem também ser modelados por esse modelo evolutivo; (ii) Modelo de especiação (kappa) (Pagel, 1999), que é um modelo pontual (especiação) de evolução de traços, em que a divergência de caracteres está relacionada ao número de eventos de especiação entre duas espécies; (iii) Modelo de radiação adaptativa (Early-burst) (Harmon et al., 2010), o qual tem sido associado para os Pomacentrídeos (ver Cooper, Smith e Westneat, 2009), ele é também chamado de modelo ACDC (aceleração-desaceleração; Blomberg et al., 2003), ajustando-se a um modelo em que a taxa de evolução aumenta ou diminui exponencialmente ao longo do tempo; (iv) modelo de Ornstein-Uhlenbeck (OU), que utiliza processo com um único ótimo com modelagem para evolução adaptativa (Butler and King, 2004); e (v) um modelo que pressupõe a ausência de efeito filogenético (White), que assume que os dados provêm de uma única distribuição normal, sem estrutura de covariância entre as espécies (Harmon et al., 2008).

O melhor modelo evolutivo foi selecionado pelo critério de informação de Akaike (AIC) (Akaike, 1973): onde o menor valor de AIC, com pelo menos diferença de duas unidades, é considerado como indicativo de forte apoio ao melhor modelo em relação a outros modelos candidatos (Burnham and Anderson, 2002). Por último, nós realizamos a reconstrução do estado ancestral do tamanho do genoma com o método da Máxima Verossimilhança para traços contínuos, com o pacote Phytools R 3.6.0 (Revell, 2012) (Figura 2).

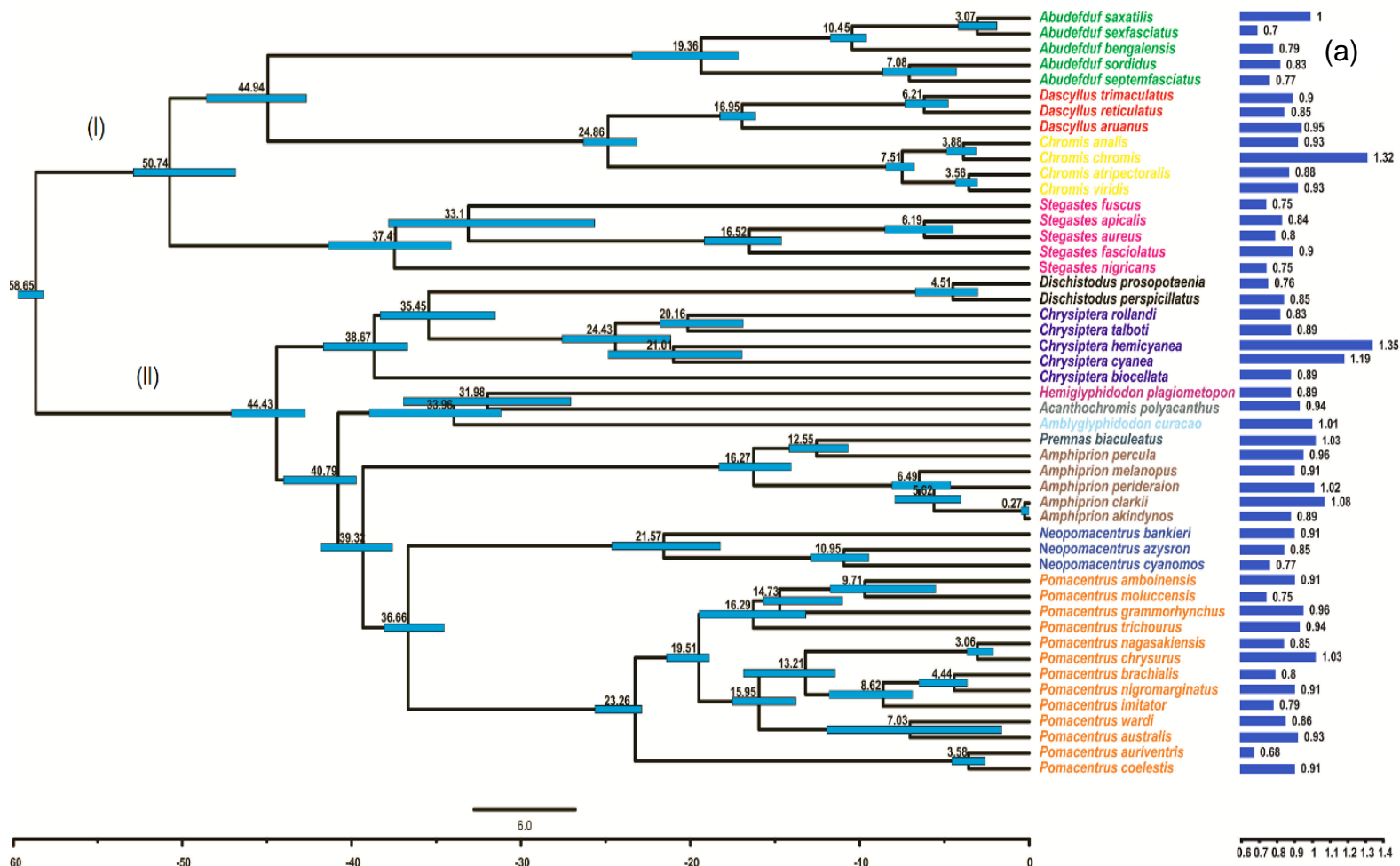
### **3.3. Resultados**

#### **3.3.1. Relações Filogenéticas Pomacentridae**

As análises filogenéticas revelaram um alto suporte entre os clados analisados, na maior parte com probabilidades posterior maior que 0,95 ou igual a 1, sendo congruente às filogenias publicadas para família (Cooper, Smith and Westneat, 2009; Lobato et al., 2014). Nossa árvore, revelou a presença de dois clados que denominamos de clado I e II, sendo altamente suportados (PP=1) (Figura 1). O clado I agrupa representantes dos gêneros *Abudefduf*, *Dascyllus*, *Chromis* e *Stegastes*, enquanto o clado II agrupa os

gêneros *Dischitodus*, *Chrysiptera*, *Hemiglyphidodon*, *Acanthochromis*, *Amblyglyphidodon*, *Premnas*, *Amphiprion*, *Neopomacentrus* e *Pomacentrus*. Tais clados possivelmente se diversificaram à ~ 58 MYA durante o Eoceno onde houveram cladogenesis que originou os clados que denominamos I e II. Além disso, verificamos que tanto o Eoceno, quanto o Mioceno foram mais propícios a eventos cladogenéticos na família. Nesse cenário, podemos observar que o tamanho do genoma expandiu e retraiu independentemente da sua trajetória filogenética e das eras geológicas (Figura 1).

**Figura 1.** Árvore filogenética com tempo de divergência das espécies representantes da família Pomacentridae obtida por meio de Inferência Bayesiana e calibração fóssil. Os números e barras nos nós representam as idades estimadas e intervalos de densidade de probabilidade superior (HPD) de 95% de idade do nó, respectivamente. Ao lado direito variação do tamanho do genoma (a).



### 3.3.2. Tamanho do Genoma

Pomacentridae mostrou variação no tamanho do genoma de 1,98 vezes, com menor valor-C de 0,68 pg para *Pomacentrus auriventris* e o maior 1,35 pg para *Chrysiptera hemicyanea* (Figura 1 [a]). A variação do tamanho do genoma entre os pomacetrídeos não

mostrou tendência marcante entre as espécies irmãs, de modo que o tamanho dos genomas diferenciou em cada espécie, independente do gênero ou subfamília que constituem.

### 3.3.3 Métodos Filogenéticos comparativos

Nossos resultados utilizando toda a topologia demonstraram que das variáveis analisadas, o tamanho do genoma mostrou uma associação positiva com a amplitude de Temperatura de Superfície ( $p < 0,001$ ,  $r^2 = 0,23$ ), e a amplitude de Salinidade de Superfície ( $p < 0,05$ ,  $r^2 = 0,10$ ) (Tabela 1, Figura 2). Como podemos observar na Figura 2, a espécie com o menor tamanho do genoma *Pomacentrus auriventris* (0,68 pg) apresenta a menor amplitude de temperatura de superfície, já no outro extremo as espécies com os maiores tamanhos do genoma *Chrysiptera hemicyanea* (1,35 pg) e *Chromis chromis* (1,32 pg), ocupam áreas com ampla variação de temperatura de superfície. Para as demais variáveis estudadas, não encontramos evidência estatística que tenham uma associação com o tamanho do genoma ( $p > 0,05$ ). Os resultados obtidos utilizando apenas o clado (I), demonstraram que das variáveis analisadas, o tamanho do genoma mostrou uma associação positiva com a amplitude de Temperatura de Superfície ( $p < 0,01$ ,  $r^2 = 0,54$ ); amplitude de Temperatura de Profundidade Média ( $p < 0,01$ ,  $r^2 = 0,43$ ); amplitude de Salinidade de Superfície ( $p < 0,05$ ,  $r^2 = 0,32$ ); Nível trófico ( $p < 0,01$ ,  $r^2 = 0,48$ ) e Latitude Média ( $p < 0,01$ ,  $r^2 = 0,45$ ) (Tabela 2). Para as demais variáveis estudadas não encontramos evidência estatística que tenham uma associação com o tamanho do genoma ( $p > 0,05$ ).

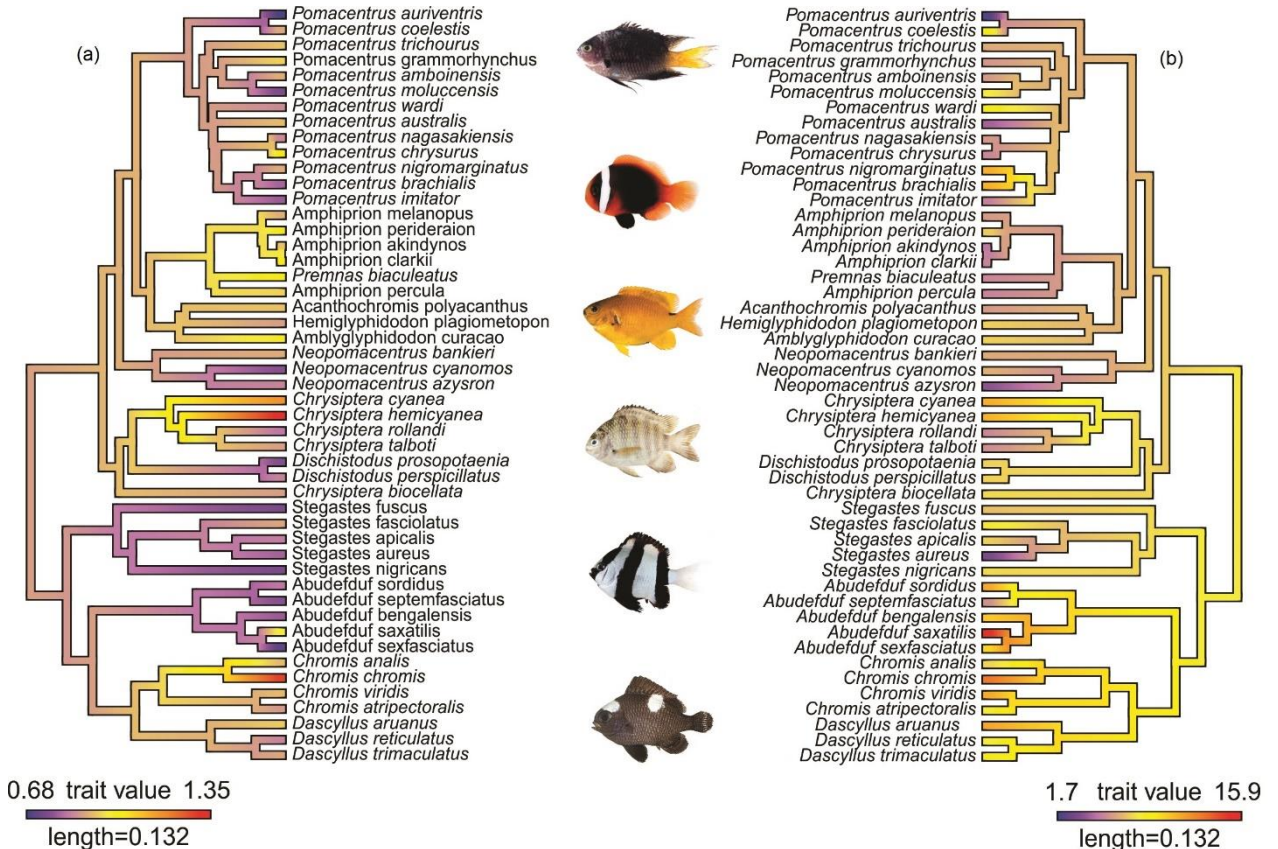
**Tabela 1.** Correlação entre tamanho do genoma e traços ecológicos das espécies da família Pomacentridae representadas na filogenia completa.

Traços	PGLS	$r^2$	$\lambda$
Amplitude Temperatura de Superfície	<b>0.0005***</b>	<b>0.23</b>	<b>0.613</b>
Amplitude Temperatura de Profundidade Média	0.0537	0.08	0.000
Amplitude Salinidade de Superfície	<b>0.0257*</b>	<b>0.10</b>	<b>0.413</b>
Amplitude Salinidade de Profundidade Média	0.0777	0.06	0.411
Nível trófico	0.1931	0.03	0.481
Latitude Média	0.3714	0.01	0.000
Área	0.1872	0.03	0.000
Intervalo de Profundidade	0.1646	0.04	0.000
Ambiente Estuário/Lagoa	0.1843	0.03	0.000
Amplitude Produtividade Primária de Superfície	0.1316	0.04	0.447
Amplitude Produtividade Primária de Profundidade Média	0.3948	0.01	0.408

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Os melhores modelos são mostrados em negrito.

**Figura 2.** Reconstrução ancestral das espécies avaliadas de Pomacentridae revelando: em (a) variações do tamanho do genoma, e em (b) amplitude de temperatura de superfície. As imagens dos peixes sequenciadas de cima para baixo *Pomacentrus imitator*, *Amphiprion melanopus*, *Stegastes aureus*, *Abudefduf septemfasciatus*, *Dascyllus aruanus* e *Dascyllus trimaculatus*, foram obtidas do site de domínio público Bold Systems (<http://www.boldsystems.org/index.php/>).



**Tabela 2.** Correlação entre tamanho do genoma e traços ecológicos das espécies da família Pomacentridae representadas na filogenia do clado I.

Traços	PGLS	r <sup>2</sup>	λ
Amplitude Temperatura de Superfície	<b>0.001***</b>	<b>0.54</b>	<b>0.766</b>
Amplitude Temperatura de Profundidade Média	<b>0.007**</b>	<b>0.43</b>	<b>0.528</b>
Amplitude Salinidade de Superfície	<b>0.026*</b>	<b>0.32</b>	<b>0.000</b>
Amplitude Salinidade de Profundidade Média	0.054	0.25	0.064
Nível trófico	<b>0.003**</b>	<b>0.48</b>	<b>0.779</b>
Latitude Média	<b>0.005*</b>	<b>0.45</b>	<b>0.291</b>
Área	0.222	0.11	0.171
Intervalo de Profundidade	0.305	0.08	0.000
Ambiente Estuário/Lagoa	0.588	0.02	0.221
Amplitude Produtividade Primária de Superfície	0.569	0.02	0.253
Amplitude Produtividade Primária de Profundidade Média	0.481	0.03	0.270

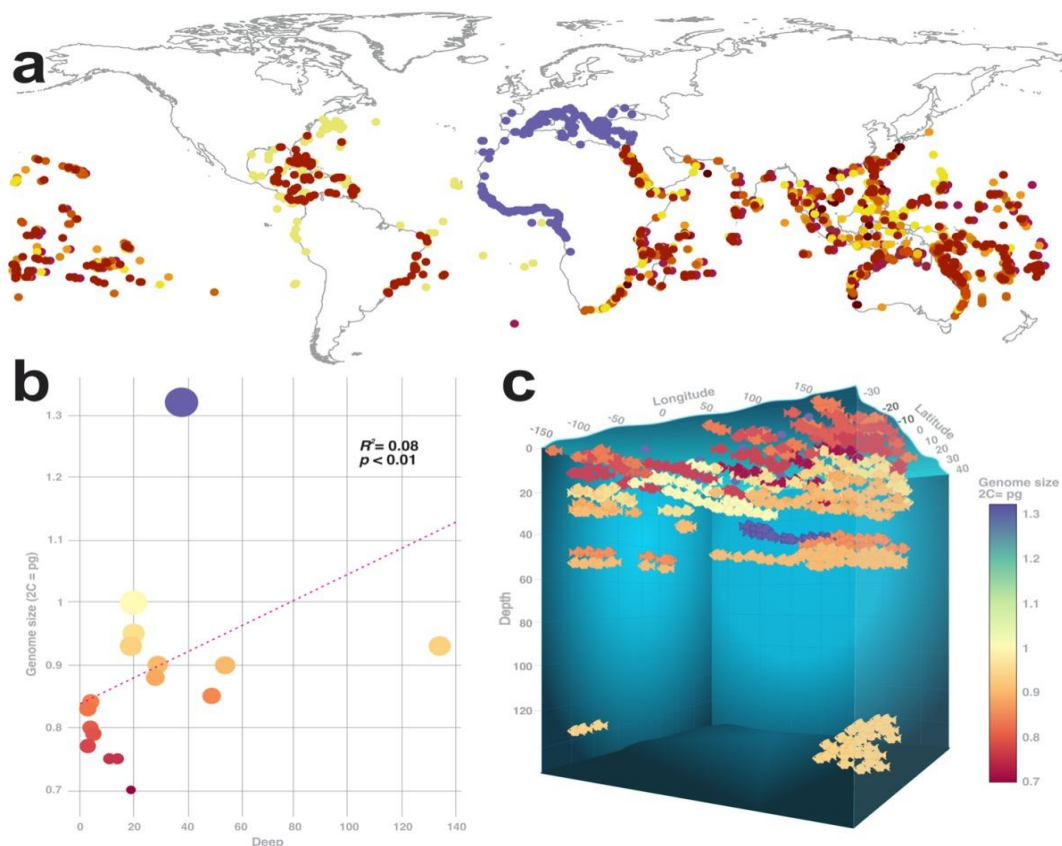
\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Os melhores modelos são mostrados em negrito.

Já os resultados utilizando apenas o clado (II), demonstraram que das variáveis analisadas, o tamanho do genoma mostrou associação positiva com a amplitude de Temperatura de Superfície ( $p < 0,05$ ,  $r^2 = 0,14$ ). Para as demais variáveis estudadas não encontramos suporte estatístico que tenham uma associação com o tamanho do genoma ( $p > 0,05$ ) (Tabela S1, Material Suplementar).

A visualização espacial (Figura 3 [a]) das espécies do clado (I), juntamente com a plotagem tridimensional (Figura 3 [c]), demonstram a distribuição e a profundidade preferencial das espécies respectivamente do clado I. O que observamos uma significância da variação do tamanho do genoma com a profundidade (Figura 3 [b]). No entanto, não encontramos a mesma relação para o clado (II) (Figura S1. Material Suplementar).

**Figura 3.** Distribuição das espécies do clado I de peixes da família Pomacentridae. Em (a) distribuição mundial; em (b) gráfico da relação tamanho do genoma versus profundidade, realizado através de análise de regressão múltipla; em (c) plotagem tridimensional demonstrando a profundidade do tamanho do genoma versus localização georreferenciada. A coloração dos círculos e dos peixes correspondem variação do tamanho do genoma demonstrada na barra em degradê.



O K de Blomberg, revelou que não existe sinal filogenético entre variações do tamanho do genoma e sua trajetória filogenética nas espécies analisadas ( $K = 0.124344$ ). A análise do modo de evolução do tamanho do genoma revelou que o melhor modelo explicativo que apresentou menor valor de AIC foi o modelo “White” que pressupõe a ausência de efeito filogenético ( $\sigma^2 = 0,017$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Sumário de parâmetros e modelos de seleção para o tamanho do genoma das espécies da família Pomacentridae. Em destaque melhor modelo atribuído.

Traço	Modelo	Descrição	Parâmetros	Log-Lik	K	AIC
Tamanho do Genoma	Browniano	Evolução neutra	$\sigma^2 = 0,895$	-1,59	2	7,19
	Kappa	Especiação	$\sigma^2 = 0,012$ $\kappa = 0,09$	23,26	3	-40,52
	Early-Burst	Radiação adaptativa	$\sigma^2 = 0,895$ $a = -0,000001$	-1,59	3	9,19
	OU	Seleção Normalizadora	$\sigma^2 = 0,936$ $\alpha = 2,718$	2,44	3	1,10
	<b>White</b>	<b>Sem efeito filogenético</b>	<b><math>\sigma^2 = 0,017</math></b>	<b>29,49</b>	<b>2</b>	<b>-54,99</b>

Abreviações: AIC, critério de informação de Akaike; Log-Lik, log- verossimilhança; OU, Ornstein–Uhlenbeck.

### 3.4. Discussão

Nossas análises filogenéticas em um contexto temporal, demonstraram que houveram retrações e expansões no tamanho do genoma nas espécies de Pomacentridae durante a diversificação da família. Em peixes, alguns estudos têm associado essas expansões e retrações aos elementos transponíveis (Guo et al., 2010; Auvinet et al., 2018; Carducci et al., 2019). Por exemplo, o acúmulo de diferentes ETs tem sido responsável pela variação do tamanho do genoma entre baiacus (Guo et al., 2010). Já o retroelemento Rex3, tem sido associado a teleósteos que vivem em água frias, quando comparados com os que vivem em águas mornas (Carducci et al., 2019). No entanto, grupos antárticos do gênero *Trematomus*, em comparação com outros teleósteos, apresentaram uma conservação do tamanho do genoma, com predominância de ETs do tipo DIRS1 (Auvinet et al., 2018). Nesse contexto, a invasão ou a eliminação de elementos transponíveis podem ter contribuído com as variações dos tamanhos genômicos em Pomacentridae



moldando a especialização ou a amplitude de nicho dessas espécies, mas esta característica ainda permanece preditiva.

Vários estudos observaram que a temperatura exibe influência na vida dos Pomacentrídeos, seja na dispersão (Cooper, Smith and Westneat, 2009; Aguilar-Medrano, Reyes-Bonilla and Polly, 2015), como também na especialização trófica (Litsios et al., 2012; Gajdzik, Aguilar-Medrano and Frédérich, 2019). Nossas análises revelaram que a variação do tamanho do genoma está correlacionada com a amplitude térmica. Quanto maior o tamanho do genoma, maior amplitude dessa variante abiótica em Pomacentridae. Alguns autores têm sugerido que a quantidade de DNA está relacionada com taxas metabólicas envolvidas no gasto energético para manutenção do corpo. De forma que, genomas menores geralmente têm taxas metabólicas maiores e vivem em ambientes tropicais (Xia, 1995; Leiva, Calosi and Verberk, 2019). A temperatura tem sido associada a variação do tamanho do genoma em outros organismos como em *Drosophila* (Gregory and Johnston, 2008), e em girassóis *Helianthus* (Qiu et al., 2019). A invasão de ETs em regiões regulatórias tem promovido variação e novos pontos de controle de atividade gênica, o que têm sido sugerido como responsáveis pela seleção adaptativa a temperatura, com observado na invasão do elemento P, modificando o promotor dos genes *Heat Shock Protein* - HSP em *Drosophila* (Walser et al., 2006).

Nossos resultados também demonstraram que a variação do tamanho do genoma está associada a amplitude de salinidade em Pomacentridae. Sabemos que algumas das espécies presentes nessa família, além de habitarem recifes coralinos, conseguem adentrar ambientes estuarinos e lagoas hipersalinas, com concentrações diferentes. Alguns estudos propuseram a salinidade como possível filtro que moldou a diversidade genética das espécies dessa família (Junior et al., 2006), assim como a especialização trófica (Litsios, Pellissier et al., 2012; Gajdzik, Aguilar-Medrano and Frédérich, 2019). No entanto, tamanhos de genomas maiores já foram correlacionados a nichos mais amplos, influenciando no sucesso adaptativo de peixes em ambientes com diferentes concentrações salinas, como descrito anteriormente (Allendorf and Thorgaard, 1984; Adrian-Kalchhauser et al. 2017).

Pomacentridae apresentou uma divisão marcante, entre dois clados que denominamos de clado I e II durante o Eoceno. O Eoceno foi um período característico pelo aumento das temperaturas da superfície do mar e o aumento da temperatura das águas profundas dos oceanos (Huber and Sloan, 2001). Nossos dados demonstraram que, para as espécies de Pomacentridae, a variável ambiental temperatura pode ter tido

a maior influência sobre a variação do tamanho do genoma, além de que, podem ter moldado eventos cladogenéticos, propiciando aos representantes de ambos os clados seguirem caminhos evolutivos distintos.

A variação do tamanho do genoma do clado I acompanhou a variação de fatores ambientais, como as amplitudes de temperatura e salinidade, assim como, a diferentes níveis tróficos. De fato, alguns autores sugeriram que a busca por alimento levou os pomacentrídeos a enfrentar uma diversificação rápida, como por exemplo, quanto a forma e função de seu crânio (Cooper and Westneat, 2009). Essa especialização pode ter ampliado novas oportunidades ecológicas, principalmente atreladas a especialização de dietas (Lobato et al., 2014) e expandindo a diversidade filogenética (Gajdzik et al., 2018).

A ampliação de novas oportunidade ecológicas, como latitude média e profundidade média, também foi acompanhada pela variação do tamanho do genoma no clado I. Observamos nesse clado, que o tamanho do genoma aumentou com a profundidade de habitat das espécies. O aumento do tamanho do genoma associado a profundidade é congruente com a descoberta de Ebeling et al. (1971), em teleosteos marinhos. Smith e Gregory (2009) descreveram um padrão semelhante, atribuindo os menores genomas aos grupos de peixes que vivem em profundezas dos oceanos ou associados aos recifes. O padrão intricado dos ambientes recifais é complexo, e tem levado os seus habitantes a especialização, visando obter uma maior eficiência na aquisição de seus recursos (Cooper and Westneat, 2009; Litsios et al., 2012a). Alguns estudos têm sustentado a predição de que a diminuição do tamanho do genoma possa está relacionada a especialização das espécies, como é o caso dos poecilídeos (Cimino, 1974). Porém, está predição do tamanho do genoma menor para peixes especialistas, foi contestada por Smith e Gregory (2009) ao estudarem peixes com barbatanas raiadas. Para eles a especialização estaria ligada a poucas espécies e não em todas, induzindo que está é uma questão ainda em aberto para futuros estudos. No entanto, o fato dos pomacentrídeos conviverem em ambientes restritos e de extrema competição intra e interespecífica, favorece a diversificação na busca por nichos vagos. O que alinha a essa possibilidade é o fato da variação do tamanho do genoma desses organismos correlacionar com amplitudes preferidas de vários fatores ambientais, possibilitando diversificações mais rápidas com genomas menores e lentas com genomas maiores (Hinegardner, 1968; Hinegardner and Rosen, 1972; Hardie and Hebert, 2004).

Nossas análises, utilizando o K de Blomberg, revelaram ausência de sinal filogenético, ou seja, não existe nenhuma estrutura filogenética na variação do tamanho

do genoma de Pomacentridae. Espécies muito próximas têm diferentes tamanho do genoma e espécies distantes podem conter tamanhos de genomas parecidos. Essas informações sugerem que uma taxa de evolução do tamanho do genoma evolui muito rápido, onde convergências e paralelismos parecem atuar na evolução do tamanho do genoma dessa família. A mesma evolução rápida, e sem sinal filogenético, para os Pomacentrídeos, foi estudada por Cooper e Westneat (2009); e Litsios et al. (2012a), ao testar características ecomorfológicas e nichos tróficos. Blomberg et al. (2003) sugeriram que baixos níveis de sinal filogenético entre caracteres de uma linhagem seriam indicativos de radiação adaptativa. Tal sugestão seria apropriada para essa família conforme Cooper e Westneat (2009).

Evolução por radiação adaptativa é comumente utilizada para se referir a uma linhagem que divergiu rapidamente, de modo que seus descendentes ocupem uma ampla variedade de nichos ecológicos vagos (Gavrilets and Losos, 2009). Entre os pomacentrídeos, esse tipo de evolução tem sido bastante aceito (Aguilar-Medrano et al., 2015; Litsios et al., 2012a, 2012b). O mecanismo de radiação adaptativa tem sido associado como um possível causador na redução do tamanho do genoma (Nagato et al., 1981; Francino, 2005), e vários estudos sustentam essa afirmação, como por exemplo na subfamília Bromeliaceae (Müller et al., 2019), e cogumelos *Pleurotus eryngii* (Dai et al., 2019). Entretanto, nossas análises filogenéticas com modelos evolutivos refutam essa hipótese de radiação adaptativa como o Early-Burst que mostra que a variação do tamanho do genoma não segue essa tendência.

### **Considerações Finais**

Ao avaliarmos o tamanho do genoma entre os pomacentrídeos, foi possível sugerir que ele evoluiu de forma rápida e distinta entre dois clados, além de encontrar-se associado positivamente com as tolerâncias fisiológicas das espécies. Entretanto, nossos resultados mostram que o tamanho do genoma dos pomacentrídeos não segue uma trajetória filogenética evolutiva, e nem mostra tendências de que suas mudanças estejam associadas a uma radiação adaptativa. A magnitude de sua variação parece responder a fatores adaptativos de mudanças de temperatura e salinidade, embora outras trajetórias evolutivas como nível trófico, latitude, e profundidade também desempenham algum papel nas mudanças dessa variável genética em alguns dos seus representantes. Todas essas informações, lançam luz ao entendimento das rotas evolutivas que esse grupo diverso

experimentou durante a sua diversificação no meio marinho, principalmente atrelados aos ambientes complexos e dinâmicos que são os de recifes de corais.

## Referências

- Adrian-Kalchhauser, I., Svensson, O., Kutschera, V.E., Alm Rosenblad, M., Pippel, M., Winkler, S., Schloissnig, S., Blomberg, A., Burkhardt-Holm, P., 2017. The mitochondrial genome sequences of the round goby and the sand goby reveal patterns of recent evolution in gobiid fish. *BMC Genomics* 18, 12–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3550-8>
- Aguilar-Medrano, R., Reyes-Bonilla, H., Polly, P.D., 2015. Adaptive radiation of damselfishes (Perciformes, Pomacentridae) in the eastern Pacific. *Mar. Biol.* 162, 2291–2303. <https://doi.org/10.1007/s00227-015-2759-9>
- Akaike, H., 1973. Maximum likelihood identification of gaussian autoregressive moving average models. *Biometrika* 60, 255–265. <https://doi.org/10.1093/biomet/60.2.255>
- Allen, G.R., 1991. *Damselfishes of the world*. Mergus, Melle, Germany.
- Allendorf, F.W., Thorgaard, G.H., 1984. Tetraploidy and the evolution of salmonid fishes, in: *Evolutionary Genetics of Fishes*. Springer, Boston, pp. 1–53.
- Auvinet, J., Graça, P., Belkadi, L., Petit, L., Bonnivard, E., Dettai, A., Detrich, W.H., Ozouf-Costaz, C., Higuete, D., 2018. Mobilization of retrotransposons as a cause of chromosomal diversification and rapid speciation: The case for the Antarctic teleost genus *Trematomus*. *BMC Genomics* 19, 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4714-x>
- Bellwood, D.R., Sorbini, L., 1996. A review of the fossil record of the Pomacentridae (Teleostei: Labroidae) with a description of a new genus and species from the Eocene of Monte Bolca, Italy. *Zool. J. Linn. Soc.* 117, 159–174. <https://doi.org/10.1006/zjls.1996.0035>
- Benson, D.A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J., Wheeler, D.L., 2008. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 36, D25–D30. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm929>
- Blomberg, S.P., Garland, T., Ives, A.R., 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: Behavioral traits are more labile. *Evolution (N. Y.)* 57, 717–745. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x>
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2002. *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach*, 2nd ed. Springer, New York.
- Butler, M.A., King, A.A., 2004. Phylogenetic comparative analysis: A modeling approach for adaptive evolution. *Am. Nat.* 164, 683–695. <https://doi.org/10.1086/426002>
- Calenge, C., 2015. Home range estimation in R: the adehabitatHR package. *R vignette* 76, 1–60.
- Carducci, F., Biscotti, M.A., Forconi, M., Barucca, M., Canapa, A., 2019. An intriguing relationship between teleost Rex3 retroelement and environmental temperature. *Biol. Lett.* 15, 20190279, <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0279>
- Chalopin, D., Volff, J.N., Galiana, D., Anderson, J.L., Schartl, M., 2015. Transposable elements and early evolution of sex chromosomes in fish. *Chromosom. Res.* 23,

545–560. <https://doi.org/10.1007/s10577-015-9490-8>

- Cimino, M.C., 1974. The nuclear DNA content of diploid and triploid Poeciliopsis and other poeciliid fishes with reference to the evolution of unisexual forms. *Chromosoma* 47, 297–307. <https://doi.org/10.1007/BF00328863>
- Cooper, W.J., Smith, L.L., Westneat, M.W., 2009. Exploring the radiation of a diverse reef fish family: Phylogenetics of the damselfishes (Pomacentridae), with new classifications based on molecular analyses of all genera. *Mol. Phylogenet. Evol.* 52, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.12.010>
- Cooper, W.J., Westneat, M.W., 2009. Form and function of damselfish skulls: Rapid and repeated evolution into a limited number of trophic niches. *BMC Evol. Biol.* 9, 1–17. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-24>
- Dai, Y., Sun, L., Yin, X., Gao, M., Zhao, Y., Jia, P., Yuan, X., Fu, Y., Li, Y., 2019. *Pleurotus eryngii* Genomes Reveal Evolution and Adaptation to the Gobi Desert Environment. *Front. Microbiol.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02024>
- Detrich, H.W., Amemiya, C.T., 2010. Antarctic notothenioid fishes: Genomic resources and strategies for analyzing an adaptive radiation. *Integr. Comp. Biol.* 50, 1009–1017. <https://doi.org/10.1093/icb/icq071>
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., Rambaut, A., 2012. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* 29, 1969–1973. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>
- Ebeling, A.W., Atkin, N.B., Setzer, P.Y., 1971. Genome Sizes of Teleostean Fishes: Increases in Some Deep-Sea Species. *Am. Nat.* 105, 549–561.
- Felsenstein, J., 1988. Phylogenies from molecular sequences: Inference and reliability. *Annu. Rev. Genet.* 521–65.
- Felsenstein, J., 1985. Phylogenies and the comparative method. *Am. Nat.* 125, 1–15. <https://doi.org/10.1086/284325>
- Francino, M.P., 2005. An adaptive radiation model for the origin of new gene functions. *Nat. Genet.* 37, 573–577. <https://doi.org/10.1038/ng1579>
- Froese, R., Pauly, D., 2019. FishBase [WWW Document]. World Wide Web Electron. Publ. URL [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) (accessed 2.8.19).
- Gajdzik, L., Aguilar-Medrano, R., Frédérich, B., 2019. Diversification and functional evolution of reef fish feeding guilds. *Ecol. Lett.* 22, 572–582. <https://doi.org/10.1111/ele.13219>
- Gajdzik, L., Bernardi, G., Lepoint, G., Frédérich, B., 2018. Genetic diversity mirrors trophic ecology in coral reef fish feeding guilds. *Mol. Ecol.* 27, 5004–5018. <https://doi.org/10.1111/mec.14936>
- Gao, B., Shen, D., Xue, S., Chen, C., Cui, H., Song, C., 2016. The contribution of transposable elements to size variations between four teleost genomes. *Mob. DNA* 7, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13100-016-0059-7>
- Gavrillets, S., Losos, J.B., 2009. Adaptive Radiation: Contrasting Theory with Data. *Science* (80-. ). 323, 732–737. <https://doi.org/10.1126 / science.1157966>
- Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O., 2010. Sea view version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Mol. Biol. Evol.*

- 27, 221–224. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Grafen, A., 1989. The phylogenetic regression. *Philos. Trans. R. Soc. London. B, Biol. Sci.* 326, 119–157.
- Gregory, T., Johnston, J., 2008. Genome size diversity in the family Drosophilidae. *Heredity (Edinb)*. 101, 228–238. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.49>
- Gregory, T.R., 2019. Animal Genome Size Database [WWW Document]. URL <http://www.genomesize.com> (accessed 8.9.19).
- Gregory, T.R., 2005. Genome Size Evolution in Animals, in: *The Evolution of the Genome*. Elsevier, Amsterdam, pp. 3–87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-301463-4.50003-6>
- Guo, B., Zou, M., Gan, X., He, S., 2010. Genome size evolution in pufferfish: An insight from BAC clone-based *Diodon holocanthus* genome sequencing. *BMC Genomics* 11, 396. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-396>
- Hardie, D.C., Hebert, P.D., 2004. Genome-size evolution in fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61, 1636–1646. <https://doi.org/10.1139/f04-106>
- Harmon, L.J., Losos, J.B., Jonathan Davies, T., Gillespie, R.G., Gittleman, J.L., Bryan Jennings, W., Kozak, K.H., McPeck, M.A., Moreno-Roark, F., Near, T.J., Purvis, A., Ricklefs, R.E., Schluter, D., Schulte, J.A., Seehausen, O., Sidlauskas, B.L., Torres-Carvajal, O., Weir, J.T., Mooers, A.T., 2010. Early bursts of body size and shape evolution are rare in comparative data. *Evolution (N. Y)*. 64, 2385–2396. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2010.01025.x>
- Harmon, L.J., Weir, J.T., Brock, C.D., Glor, R.E., Challenger, W., 2008. GEIGER: Investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics* 24, 129–131. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm538>
- Hessen, D.O., Persson, J., 2009. Genome size as a determinant of growth and life-history traits in crustaceans. *Biol. J. Linn. Soc.* 98, 393–399. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01285.x>
- Hinegardner, R., 1968. Evolution of Cellular DNA Content in Teleost Fishes. *Am. Nat.* 102, 517–523. <https://doi.org/10.1086/282564>
- Hinegardner, R., Rosen, D.E., 1972. Cellular DNA Content and the Evolution of Teleostean Fishes. *Am. Nat.* 106, 621–644.
- Huber, M., Sloan, L.C., 2001. Heat transport, deep waters, and thermal gradients: Coupled simulation of an Eocene greenhouse climate. *Geophys. Res. Lett.* 28, 3481–3484. <https://doi.org/10.1029/2001GL012943>
- Hultgren, K.M., Jeffery, N.W., Moran, A., Gregory, T.R., 2018. Latitudinal variation in genome size in crustaceans. *Biol. J. Linn. Soc.* 123, 348–359. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blx153>
- Jang-Liaw, N.H., Tang, K.L., Hui, C.F., Shao, K.T., 2002. Molecular phylogeny of 48 species of damselfishes (Perciformes: Pomacentridae) using 12S mtDNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 25, 445–454. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00278-6](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00278-6)
- Jeffery, N.W., Yampolsky, L., Gregory, T.R., 2017. Nuclear DNA content correlates with depth, body size, and diversification rate in amphipod crustaceans from ancient Lake Baikal, Russia. *Genome* 1–7. <https://doi.org/10.1139/gen-2016-0128>

- Junior, P.M.G., Molina, W.F., Affonso, P.R.A.M., Aguilar, C.T., 2006. Assessing Genetic Diversity of Brazilian Reef Fishes by Chromosomal and DNA Markers. *Genetica* 126, 161–177. <https://doi.org/10.1007/s10709-005-1446-z>
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W., Guindon, S., 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Mol. Biol. Evol.* 29, 1695–1701. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss020>
- Leiva, F.P., Calosi, P., Verberk, W.C.E.P., 2019. Scaling of thermal tolerance with body mass and genome size in ectotherms: a comparison between water- and air-breathers. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 374, 20190035. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0035>
- Lieske, E., Myers, R., 1994. Collins Pocket Guide. Coral Reef Fishes. Caribbean, Indian Ocean Including the Red Sea. Haper Collins Publishers.
- Litsios, G., Pellissier, L., Forest, F., Lexer, C., Pearman, P.B., Zimmermann, N.E., Salamin, N., 2012a. Trophic specialization influences the rate of environmental niche evolution in damselfishes (Pomacentridae). *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 279, 3662–3669. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1140>
- Litsios, G., Sims, C.A., Wüest, R.O., Pearman, P.B., Zimmermann, N.E., Salamin, N., 2012b. Mutualism with sea anemones triggered the adaptive radiation of clownfishes. *BMC Evol. Biol.* 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-212>
- Lobato, F.L., Barneche, D.R., Siqueira, A.C., Liedke, A.M.R., Lindner, A., Pie, M.R., Bellwood, D.R., Floeter, S.R., 2014. Diet and diversification in the evolution of coral reef fishes. *PLoS One* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102094>
- Mohr, C.O., 1947. Table of Equivalent Populations of North American Small Mammals. *Am. Midl. Nat.* 37, 223–249.
- Müller, L.-L.B., Zotz, G., Albach, D.C., 2019. Bromeliaceae subfamilies show divergent trends of genome size evolution. *Sci. Rep.* 9, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41474-w>
- Nagato, Y., Yamamoto, K., Yamashita, H., 1981. Variation of DNA content in Asian Rice. *Japanese J. Genet.* 56, 483–493. <https://doi.org/10.1266/jjg.56.483>
- Nylander, J.A.A., 2004. MrModeltest (version 2.2).
- Olalla-Tárraga, M., Torres-Romero, E.J., Amado, T.F., Martínez, P.A., 2015. Phylogenetic path analysis reveals the importance of niche-related biological traits on geographic range size in mammals. *Glob. Chang. Biol.* 21, 3194–3196. <https://doi.org/10.1111/gcb.12971>
- Orme, D., Freckleton, R., Thomas, G., Petzoldt, T., 2013. The caper package: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R. *R Packag. version 5*, 1–36.
- Pagel, M., 1999. Inferring historical patterns of biological evolution. *Nature* 401, 877–884.
- Pinheiro, H.T., Rocha, L.A., Macieira, R.M., Carvalho-Filho, A., Anderson, A.B., Bender, M.G., Carlos, F.D.D., Ferreira, E.L., Figueiredo-Filho, J., Francini-Filho, R., Gasparini, J.L., Joyeux, J., Luiz, O.J., Mincarone, M.M., Moura, R.L., Nunes, J. de A.C.C., Quimbayo, J.P., Rosa, R.S., Sampaio, C.L.S., Sazima, I., Simon, T., Vila-Nova, D.A., Floeter, S.R., Treml, E., 2018. South-western Atlantic reef fishes: Zoogeographical patterns and ecological drivers reveal a secondary biodiversity

- centre in the Atlantic Ocean. *Divers. Distrib.* 24, 951–965.
- QGIS Development Team, 2014. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Qiu, F., Baack, E.J., Whitney, K.D., Bock, D.G., Tetreault, H.M., Rieseberg, L.H., Ungerer, M.C., 2019. Phylogenetic trends and environmental correlates of nuclear genome size variation in *Helianthus* sunflowers. *New Phytol.* 221, 1609–1618. <https://doi.org/10.1111/nph.15465>
- Rambaut, A., Drummond, A.J., 2009. FigTree version 1.3. 1 [computer program]. Website <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>, last accessed Oct. 21, 2017.
- Revell, L.J., 2012. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol. Evol.* 3, 217–223. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>
- Sclavi, B., Herrick, J., 2019. Genome size variation and species diversity in salamanders. *J. Evol. Biol.* 32, 278–286. <https://doi.org/10.1111/jeb.13412>
- Shao, F., Han, M., Peng, Z., 2019. Evolution and diversity of transposable elements in fish genomes. *Sci. Rep.* 9, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51888-1>
- Smith, E.M., Gregory, T.R., 2009. Patterns of genome size diversity in the ray-finned fishes. *Hydrobiologia* 625, 1–25. <https://doi.org/10.1007/s10750-009-9724-x>
- Souza, G., Costa, L., Guignard, M.S., Van-Lume, B., Pellicer, J., Gagnon, E., Leitch, I.J., Lewis, G.P., 2019. Do tropical plants have smaller genomes? Correlation between genome size and climatic variables in the Caesalpinia Group (Caesalpinioideae, Leguminosae). *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 38, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2019.03.002>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725–2729. <https://doi.org/https://doi-org.ez9.periodicos.capes.gov.br/10.1093/molbev/mst197>
- Tyberghein, L., Verbruggen, H., Pauly, K., Troupin, C., Mineur, F., De Clerck, O., 2012. Bio-ORACLE: A global environmental dataset for marine species distribution modelling. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21, 272–281. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00656.x>
- Walser, J.C., Chen, B., Feder, M.E., 2006. Heat-shock promoters: Targets for evolution by P transposable elements in *Drosophila*. *PLoS Genet.* 2, 1541–1555. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020165>
- Xia, X., 1995. Body temperature, rate of biosynthesis, and evolution of genome size. *Mol. Biol. Evol.* 12, 834–42.
- Yesson, C., Brewer, P.W., Sutton, T., Caithness, N., Pahwa, J.S., Burgess, M., Gray, W.A., White, R.J., Jones, A.C., Bisby, F.A., Culham, A., 2007. How global is the global biodiversity information facility? *PLoS One* 2. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001124>



## Conclusão

A variação do tamanho do genoma entre os pomacentrídeos, não segue uma trajetória filogenética evolutiva e nem mostra tendências de que suas mudanças estejam associadas a uma radiação adaptativa. Também foi possível observar que o tamanho do genoma evoluiu de forma rápida e distinta entre dois clados, e esta evolução encontra-se associada positivamente com as tolerâncias fisiológicas das espécies. No entanto, a intensidade da variação do tamanho do genoma associou-se como resposta a fatores adaptativos de mudanças de temperatura e salinidade, para a família geral; e temperatura, salinidade, nível trófico, latitude média, como também profundidade média para o clado I; e apenas a temperatura para o clado II. Demonstrando o favorecimento de genomas maiores. Nosso estudo contribui com entendimento das rotas evolutivas experimentadas durante a diversificação dos Pomacentridae, especialmente atrelados aos ambientes complexos e dinâmicos que são os de recifes de corais.

## Material Suplementar

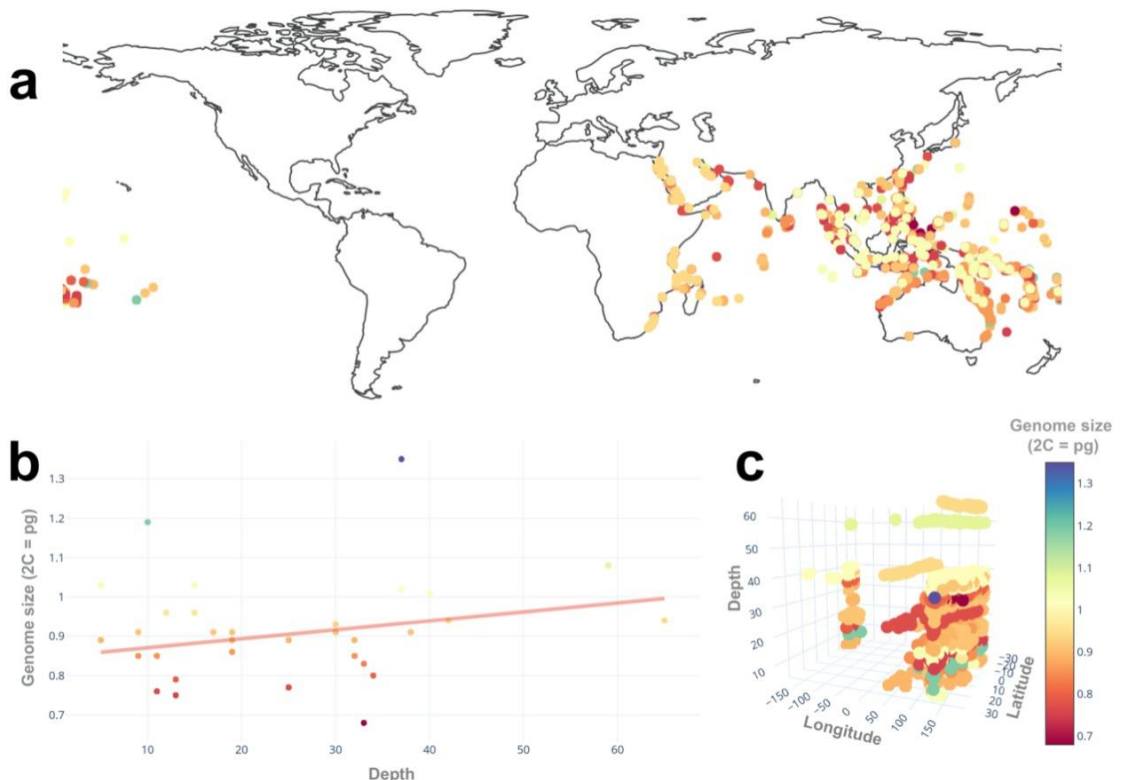
**Tabela S1.** Correlação entre tamanho do genoma e traços ecológicos das espécies da família Pomacentridae representadas na filogenia do clado II.

Traços	PGLS	$r^2$	$\lambda$
<b>Amplitude Temperatura de Superfície</b>	<b>0.029*</b>	<b>0.14</b>	<b>0.447</b>
Amplitude Temperatura de Profundidade Média	0.487	0.01	0.000
Amplitude Salinidade de Superfície	0.161	0.06	0.665
Amplitude Salinidade de Profundidade Média	0.575	0.01	0.510
Nível trófico	0.541	0.01	0.000
Latitude Média	0.266	0.04	0.621
Área	0.796	0.00	0.452
Intervalo de Profundidade	0.331	0.03	0.000
Ambiente Estuário/Lagoa	0.060	0.11	0.000
Amplitude Produtividade Primária de Superfície	0.094	0.00	0.253
Amplitude Produtividade Primária de Profundidade Média	0.491	0.01	0.561

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Os melhores modelos são mostrados em negrito.

**Figura S1.** Distribuição das espécies do clado II de peixes da família Pomacentridae. Em (a) distribuição mundial; em (b) gráfico da relação tamanho do genoma versus profundidade, realizado através de análise de regressão múltipla; em (c) plotagem tridimensional demonstrando a profundidade do tamanho do genoma versus localização georreferenciada. A coloração dos círculos e dos peixes correspondem variação do tamanho do genoma demonstrada na barra em degradê.



Espécimes de Pomacentrídeos incluídos nesta análise com números de acesso do Genbank.

Espécime	COI	12S	16S	Cytb	RAG1	RAG2
<i>Abudefduf bengalensis</i>	KU944395	FJ616289	FJ616397	KU553491	KU554201	FJ616729
<i>Abudefduf saxatilis</i>	GU225083	FJ616293	AY279673	KU553500	AY208624	AY279879
<i>Abudefduf septemfasciatus</i>	KP194247	FJ616294	FJ616402	KU553511	AY208619	FJ616734
<i>Abudefduf sexfasciatus</i>	KP195010	FJ616295	FJ616403	KU553761	AY208620	FJ616735
<i>Abudefduf sordidus</i>	JF492767	FJ616296	JF457211	KU553568	AY208621	FJ616736
<i>Acanthochromis polyacanthus</i>	KP194183	FJ616299	FJ616407	AY208521	AY208625	FJ616739
<i>Amblyglyphidodon curacao</i>	KP194300	FJ616302	EF419264	AY208564	FJ616629	FJ616742
<i>Amphiprion akindynos</i>	KP194341	JN935810	KF264151	AY208509	AY208628	
<i>Amphiprion clarkii</i>	KP194708	FJ616305	FJ616413	KP749742	KF264360	FJ616745
<i>Amphiprion melanopus</i>	KP194438	FJ616307	FJ616415	AY208514	KF264369	FJ616747
<i>Amphiprion percula</i>	KP194741	AF285924	KF264176	KF264298	KF264377	
<i>Amphiprion perideraion</i>	JQ088089	FJ616309	KF264179	KF264301	AY208630	FJ616749
<i>Chromis analis</i>		FJ616315			FJ616642	FJ616755
<i>Chromis atripectoralis</i>	KP194777	FJ616316	JF457369	JF458034	FJ616643	FJ616756
<i>Chromis chromis</i>		FJ616317	FJ616425	EF489748	AY208640	FJ616757
<i>Chromis viridis</i>	MF409610	FJ616325	JF457397		AY208635	FJ616765
<i>Chrysiptera biocellata</i>	KP194732	JQ707040	JQ707075		JQ707233	JQ707268
<i>Chrysiptera cyanea</i>	KP195014	FJ616330	FJ616438	AB018992	AY208643	FJ616770
<i>Chrysiptera hemicyanea</i>				AY208570	AY208644	
<i>Chrysiptera rollandi</i>	KP195013	FJ616333	FJ616441	AY208573	AY208646	FJ616773
<i>Chrysiptera talboti</i>	KP194829	FJ616335		AY208574	FJ616662	EU257114
<i>Dascyllus aruanus</i>	MF123849	FJ616338	JF457444	JF458114	AY208649	FJ616778
<i>Dascyllus reticulatus</i>	KP194917	FJ616340	FJ616448	AY208544	AY208654	FJ616780
<i>Dascyllus trimaculatus</i>	MF123855	FJ616341	FJ616449	JF458123	AY208655	AY279878
<i>Dischistodus perspicillatus</i>	KP194892	FJ616344	FJ616452		FJ616671	FJ616784
<i>Dischistodus prosopotaenia</i>	KP194954	FJ616345	FJ616453		FJ616672	FJ616785
<i>Hemiglyphidodon plagiometopon</i>	KP194994	FJ616347	FJ616455	AY208577	FJ616674	FJ616787
<i>Neopomacentrus azysron</i>	KP194962	FJ616357	JF457542	JF458181	FJ616684	FJ616797
<i>Neopomacentrus bankieri</i>		JN935812			JN935822	
<i>Neopomacentrus cyanomos</i>	MF120962	JQ707046	JQ707081	JF458184	JQ707239	JQ707274
<i>Pomacentrus amboinensis</i>	KP194981	JN935811	FJ616474		JN935821	FJ616805
<i>Pomacentrus auriventris</i>	JQ707152	JQ707050	JQ707085	KM198808	JQ707243	JQ707278
<i>Pomacentrus australis</i>				AY208592	AY208668	
<i>Pomacentrus brachialis</i>	KP194551	FJ616368	JQ938989	AY208594	FJ616694	FJ616807
<i>Pomacentrus chrysurus</i>	KP194814	FJ616370	FJ616478	AY208595	FJ616696	FJ616809
<i>Pomacentrus coelestis</i>	KP194867	FJ616371	AY365123	KM198841	FJ616697	FJ616810
<i>Pomacentrus grammorhynchus</i>		FJ616372	FJ616480	AY208597	FJ616698	FJ616811
<i>Pomacentrus imitator</i>		JQ707055	JQ707090	JQ707182	JQ707248	JQ707283
<i>Pomacentrus moluccensis</i>	KP194816	FJ616374	EF419268	AY208601	AY208669	EU256722
<i>Pomacentrus nagasakiensis</i>	KP194556	LC069661		AY208602		
<i>Pomacentrus nigromarginatus</i>		FJ616376	FJ616484		FJ616702	FJ616815
<i>Pomacentrus trichourus</i>	HQ561512		JF457614	JF458241		
<i>Pomacentrus wardi</i>	KP194786					
<i>Premnas biaculeatus</i>	KP194971	FJ616381	JQ029778	AY208520	AY208632	FJ616820
<i>Stegastes apicalis</i>	KF715028	FJ616384	FJ616492		FJ616710	FJ616823
<i>Stegastes aureus</i>	KY207922			KM455304		
<i>Stegastes fasciolatus</i>	KF930463	FJ616386	FJ616494	KM455480	FJ616712	FJ616825
<i>Stegastes fuscus</i>	JQ707164	JQ707061	JQ707096	JQ707186		JQ707289
<i>Stegastes nigricans</i>	KP194315	FJ616389	DQ533305	JF458265	FJ616715	