Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduacão em Biologia Animal

Taciana Martins Barbosa

Análise da conectividade entre populações de *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti) (Cnidaria: Octocorallia) na costa brasileira através de abordagens morfológica, molecular e reprodutiva

Recife

2015

Taciana Martins Barbosa

Análise da conectividade entre populações de *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti) (Cnidaria: Octocorallia) na costa brasileira através de abordagens morfológica, molecular e reprodutiva

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Orientador: Dr. Carlos Daniel Pérez

Coorientador: Dr. Rodrigo Augusto Torres

Recife

2015

Catalogação na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Barbosa, Taciana Martins
Análise da conectividade entre populações de *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti) (Cnidaria: Octorallia) na costa brasileira através de abordagens morfológicas, molecular e reprodutiva/ Taciana Martins Barbosa– Recife: O Autor, 2015.

111 folhas: il., fig., tab.
Orientador: Carlos Daniel Pérez
Coorientador: Rodrigo Augusto Torres
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências Biológicas. Biologia Animal, 2015.
Inclui bibliografia

1. Celenterado 2. Genética de populações I. Pérez, Carlos Daniel (orientador) II. Torres, Rodrigo Augusto (coorientador) III. Titulo

593.5 CDD (22.ed.) UFPE/CCB-2015-202

Taciana Martins Barbosa

Análise da conectividade entre populações de *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti) (Cnidaria: Octocorallia) na costa brasileira através de abordagens morfológica, molecular e reprodutiva

Aprovada em 31/08/2015

Banca Examinadora:

Orientador: _____
Prof. Dr. Carlos Daniel Perez – UFPE (CAV)

Coorientador: _____
Prof. Dr. Rodrigo Augusto Torres – UFPE

Titulares: _____
Dra. Paula Braga Gomes – UFPE (examinadora interna)

_____
Dr. José Roberto Botelho de Souza – UFPE (examinador interno)

_____
Dr. Uedson Pereira Jacobina – UFPE (examinador interno)

_____
Dr. Alexandre Oliveira de Almeida – UFPE (examinador interno)

_____
Dra. Ana Cristina Lauer Garcia – UFPE (CAV) (examinadora externa)

Suplentes: _____
Dr. Leandro Manzoni Vieira – UFPE (examinador interno)

_____
Dr. José Souto Rosa Filho – UFPE (examinador externo)

Recife 2015

Com amor,

Dedico *in memoriam* ao meu avô e padrinho,

Osvaldo Martins Furtado de Souza

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por me dar a oportunidade de vivenciar esta importante etapa da minha vida, que me trouxe bons frutos pessoais e profissionais.

Quero agradecer as instituições que financiaram a execução deste trabalho: CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Edital PROTAX 2010 - 562320/2010-5) e FACEPE - Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (APQ-0828-2.04/12). Agradeço a essa última instituição também pela bolsa concedida.

Ao GPA - Grupo de Pesquisa em Antozoários (UFPE - CAV e UFRPE), ao LAGEA - Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental e ao CEBIMar - Centro de Biologia Marinha pela infra-estrutura e apoio no desenvolvimento da pesquisa; e pelas amizades que construí.

Ao meu orientador Carlos Daniel Pérez e a minha desde sempre orientadora do coração Dra. Paula Braga Gomes, por mais uma oportunidade de aprendizado e crescimento profissional.

Ao meu coorientador Dr. Rodrigo Torres que me abriu a porta do seu Laboratótio para eu pudesse enveredar em um novo caminho profissional, o da genética! Gostei!☺

Aos pesquisadores Dr. Álvaro Migotto e Dr. André Carrara Morandini pelas valiosas contribuições para a construção de parte importante deste trabalho e por me receberem tão bem no querido CEBIMar. Espero retornar em breve!

A Dra. Renata Akemi pela contribuição estatística nas análises morfológicas e a Skarllaty Horana pelo auxílio nos registros morfológicos.

Ao amigo Ralf Cordeiro pela edição das fotos e a Thiago Pérez Gomes pela edição dos filmes do material suplementar.

Aos professores que aceitaram o convite para participar como titulares e suplentes na minha defesa.

Aos meus pais, Roberto e Ana Lúcia, e a minha filha Maria Cecília por acreditarem no meu potencial e por me darem suporte para a realização deste trabalho. Não há palavras que descrevam o meu amor e a minha gratidão! E ao meu gatinho pelo incentivo e paciência ♥

Aos pesquisadores e amigos que auxiliaram nas inúmeras coletas de material biológico para o desenvolvimento desse estudo, meu muito obrigado! Em especial a Henrique Maranhão (pelas coletas dos naufrágios), a Aquáticus (pelo suporte aos mergulhos autônomos), a Seu Bal (jangadeiro de Porto de Galinhas), a Ademar (barqueiro de Porto de Suape), a Seu Elso e Zé Hilto (técnicos do CEBIMar) pelos essenciais auxílios nas coletas.

Em especial a minha irmã do coração, Danielle, um presente do céu, que me deu a mão no momento que mais precisei, e se pudesse sei que me daria até o pé. Eternamente grata pelo amparo emocional e profissional.

E a minha memória ambulante, minha amiga Janine! Grata por toda a paciência!

E a todos que participaram direta ou indiretamente deste trabalho, muito obrigado!

“Rema com força, Iberê
Joga a canoa pra lá
Rema com força, Iberê
Pro rio não te levar”.

Resumo

O octocoral *Carijoa riisei* é um cnidário colonial que possui ampla distribuição geográfica no Oceano Atlântico Sul, Caribe, Pacífico e Indo-Pacífico. Com intuito de conhecer a estrutura e a conectividade das populações da espécie, abordagens diferentes foram realizadas. Em pequena escala geográfica espacial (6-125 km) a partir de diferentes ambientes (recifes costeiros, naufrágios e estuários) da costa de Pernambuco (Brasil), análises do DNAmt, morfológicas e reprodutivas foram realizadas. Verificou-se que houve variação morfológica em 10 dos 11 caracteres morfológicos avaliados quando comparadas as localidades estudadas. No entanto, não há diferenciação genética entre as sete populações estudadas devido ao alto fluxo gênico, indicando que a espécie em Pernambuco consiste em uma população panmítica. Portanto, a alta variabilidade morfológica de *C. riisei* encontrada neste estudo é devido à plasticidade fenotípica em resposta às mudanças ambientais e não ao acúmulo de diferenças genéticas devido à interrupção do fluxo gênico entre as populações. Para análise em grande escala geográfica espacial (108-2781 km), o exame da conectividade genética por meio do DNAmt foi realizado em populações do Atlântico Sul/Brasil e comparado com resultados encontrados de outras regiões do Atlântico (Leste e Norte) e do mundo (Pacífico/Havaí e Indo-Pacífico). Estruturação genética foi observada em duas das seis populações estudadas no Atlântico Sul/Brasil. Contudo, foi verificado fluxo gênico suficiente para conectar todas as populações, tanto dentro do Atlântico Sul, como entre as populações desta região com as demais. O Atlântico Sul apresentou a maior diversidade genética entre todas as regiões do Atlântico estudadas. Quando a comparação é realizada entre as regiões geográficas do mundo, a maior diversidade genética foi encontrada no Indo-Pacífico e a menor no Atlântico Norte. De acordo com esses resultados e aliado com o que existe na literatura, encontra-se suporte à ideia de que *C. riisei* é nativa do Indo-Pacífico. A conectividade genética das populações em organismos sésseis é alcançada pela dispersão larval. Este estudo descreve pela primeira vez a embriogênese, desenvolvimento e assentamento larval de *C. riisei*. Foram recolhidas colônias na costa norte de São Paulo, Brasil e mantidos vivos em aquários. Através da observação direta, verificou-se que a liberação dos gametas predominantemente ocorreram entre 05h00-10h00. A fertilização é externa e os ovos fertilizados tem um diâmetro médio de 403 ± 6,0 µm, apresentando geralmente flutuabilidade positiva. As clivagens são superficiais, o primeiro ciclo de divisão ocorre perto de 3h30-5 h após a liberação dos gametas. A divisão citoplasmática é rápida (15-20 min), facilmente visível nas fases de 16 e 32 células. As larvas plânulas são formadas entre 27-36 h após a liberação dos gametas; podem nadar por toda a

coluna dágua e atingir 1,8 mm de comprimento. As plânulas assentam entre 10-18 dias após a liberação dos gametas. O pólipo primário é translúcido, e os tentáculos emergem como oito pequenos botões arredondados. Portanto, a espécie tende a ter um potencial de dispersão de longa distância, que aliado ao nível considerável de variação morfológica (que favorece a adaptação da espécie em condições ecológicas heterogêneas) e a conectividade ocorrendo entre populações em pequena e grande escala geográfica espacial, auxiliam a compreender a ampla distribuição deste octocoral.

Palavras-chave: Plasticidade fenotípica, DNAmt, Fluxo gênico, Panmixia, Plânula

Abstract

The octocoral *Carijoa riisei* is widely spread in the South Atlantic Ocean, Caribbean, Pacific and Indo-Pacific. Seeking to know the structure and connectivity of populations of the species, different approaches have been undertaken. In small spatial geographic scale (6-125 km) from different environments (coastal reefs, shipwrecks and estuaries) from the coast of Pernambuco (Brazil), analysis of mtDNA, morphological and reproductive were held. It was found that there is morphological variation in 10 of 11 morphological characters evaluated when compared the locations studied. However, there is no genetic differentiation among the populations studied due to high gene flow, indicating that the species in Pernambuco consists of a panmitic population. Therefore, the high morphological variability of *C. riisei* found in this study is due to phenotypic plasticity in response to environmental changes and not the accumulation of genetic differences due to the interruption of gene flow between populations. For analysis in large spatial geographic scale (108-2781 km), examination of genetic connectivity through mtDNA was held in South Atlantic/Brazil populations and compared with results from other regions of the Atlantic (East and North) and the world (Pacific/Hawaii and Indo-Pacific). Genetic structure was observed in two of the six studied populations in the South Atlantic/Brazil. However, it was found sufficient gene flow to connect all populations, both within the South Atlantic, as among populations of this region with others. The South Atlantic showed the highest genetic diversity among all regions of the Atlantic studied. When a comparison is performed among the geographic regions of the world, the greatest genetic diversity was found in the Indo-Pacific and the smallest in the North Atlantic. According to these results and allied with what exists in the literature, it supports the idea that *C. riisei* is native to the Indo-Pacific. Genetic connectivity of populations in sessile organisms is achieved by larval dispersal. This study describes for the first time embryogenesis, development and larval settlement of this octocoral. Colonies were collected on the north coast of São Paulo, Brazil and kept alive in aquariums. Through direct observation, it was found that spawns predominantly occurred in the morning between 05h00-10h00. The fertilization is external and fertilized eggs have an average diameter of 403 ± 6.0 µm, usually presenting positive buoyancy. The cleavages are superficial, the first division cycle occurs near 3h30-5 h after spawning. The cytoplasmic division is rapid (15-20 min), easily visible in stages 16 and 32 cells. The larvae planula are formed 27-36 h after spawning; can swim throughout the water column and reach a length of 1.8 mm. Planulae settle 10-18 days after spawning. The primary polyp is translucent, and the tentacles emerge as eight small round

buttons. Therefore, the species tends to have a potential for long-distance dispersal, that coupled with the considerable level of morphological variation (that favors the adaptation of the species in heterogeneous ecological conditions) and connectivity between populations occurring in small and large spatial geographic scale assists to understand the wide distribution of this octocoral.

Keywords: Phenotypic plasticity, mtDNA, Gene flow, Panmixia, Planula

Lista de Figuras

Introdução

Fig 1 Octocoral *Carijoa riisei* (A) Colônia; (B) Detalhe dos pólipos. Foto: Carlos Perez 4

Capítulo I

Fig 1 Localização geográfica das áreas de estudo das populações do octocoral *Carijoa riisei* no litoral de Pernambuco, região nordeste do Brasil 19

Fig 2 Esquema da colônia de *Carijoa riisei* (modificado de Bayer 1961) 21

Fig 3 Análise comparativa dos caracteres morfológicos das populações de *Carijoa riisei* em função dos diferentes ambientes de Pernambuco, Brasil: naufrágios Servemar X (NS) e Taurus (NT); recifes costeiros das praias de Ponta de Pedras (PP), Porto de Galinhas (PG) e Porto de Suape (PS); e estuários dos rios Formoso (RF) e Itapessoca (RI). Letras iguais indicam igualdade estatística entre as medianas, utilizando os testes de Kruskal Wallis e de Student Newman Keuls ($p<0,05$). O ponto superior indica o valor máximo; a barra superior, o terceiro quartil (75%); a barra central indica a mediana; a barra inferior, o primeiro quartil (25%) e o ponto inferior, o valor mínimo da amostra 27

Fig 4 Análise de similaridade multivariada dos caracteres morfológicos de *Carijoa riisei* quanto às localidades estudadas em Pernambuco, Brasil: recifes costeiros (praias de Porto de Galinhas, Porto de Suape e Ponta de Pedras), naufrágios (Servemar X e Taurus) e estuários (rios Formoso e Itapessoca) em Pernambuco, Brasil 28

Fig 5 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência dos haplótipo 30

Fig 6 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência do haplótipos 30

Capítulo II

Fig 1 Ovo fecundado de *Carijoa riisei* com 400 µm de comprimento 53

Fig 2 Divisão citoplasmática em embriões do octocoral *Carijoa riisei*: (A) estágio de 16 células com 400 µm de diâmetro; (B) estágio de 32 células com 440 µm de diâmetro 54

Fig 3 Diferentes estágios larvais do octocoral *Carijoa riisei*: (A e B) Larvas em estágios iniciais com os comprimentos de 480 e 520 μm, respectivamente; (C) Larva com 1,8 mm de comprimento 54

Fig 4 Pólipo primário do octocoral *Carijoa riisei*: (A) Com tentáculos em forma de oito pequenos botões arredondados; (B, C, D, E) Com oito tentáculos pinados com 250 μm de altura e 100 μm de diâmetro 56

Capítulo III

Fig 1 Locais de coleta de *Carijoa riisei* no Brasil 76

Fig 2 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* para o Brasil por meio do método DE Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência dos haplótipos 81

Fig 3 Topologia de Inferência bayesiana para os haplótipos de *Carijoa riisei* encontrados no Brasil 83

Fig 4 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* para diferentes regiões geográficas do mundo por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência dos haplótipos 86

Fig 5 Topologia de Inferência bayesiana para os haplótipos de *Carijoa riisei* encontrados nas diferentes regiões geográficas mundiais 88

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1 Ambientes, localidades, siglas e número de indivíduos amostrados para estudos genéticos de *Carijoa riisei* em Pernambuco, Brasil 22

Tabela 2 Estatísticas descritivas das análises morfológicas das populações de *Carijoa riisei* de diferentes ambientes em Pernambuco, Brasil, onde: APA = Altura do pólipo axial (mm); PU = Peso Úmido (g); GR = Grau de Ramificação; NTP = Número total de pólipos; DEP = Densidade dos pólipos; DIP = Diâmetro dos pólipos (mm); EPA = Espessura do pólipo axial (mm); ECPA = Comprimento do esclerito do cenênquima do pólipo axial (µm); EPPA = Comprimento do esclerito do pólipo lateral do pólipo axial (µm); ECR = Comprimento do esclerito do cenênquima dos ramos (µm); EPR = Comprimento do esclerito do pólipo lateral dos ramos (µm) 26

Tabela 3 Comparação par a par, utilizando ANOSIM, das localidades estudadas em Pernambuco, Brasil em função dos caracteres morfológicos avaliados 28

Tabela 4 Distribuição dos haplótipos de *Carijoa riisei* em Pernambuco (Brasil) pela análise do gene ND2. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos por localidade; naufrágios Servemar X (NS) e Taurus (NT); recifes costeiros das praias de Ponta de Pedras (PP), Porto de Galinhas (PG) e Porto de Suape (PS); e estuários dos rios Formoso (RF) e Itapessoca (RI) 29

Tabela 5 Distribuição dos haplótipos de *Carijoa riisei* em diferentes ambientes de Pernambuco (Brasil) pela análise do gene ND2. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos por ambiente 29

Capítulo III

Tabela 1 Localidades e número de indivíduos amostrados (N) de *Carijoa riisei* no Brasil 76

Tabela 2 Localidades e número de indivíduos amostrados (N) de *Carijoa riisei* em diferentes regiões geográficas do mundo por Concepcion et al. (2008;2010) 77

Tabela 3 Parâmetros genéticos das populações de *Carijoa riisei* do Brasil pela análise do gene mitocondrial ND2 81

Tabela 4 Distribuição dos haplótipos pela análise de gene ND2 nas populações de *Carijoa riisei* no Brasil. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos 81

Tabela 5 Análise de variância molecular obtidos em todas as populações de *Carijoa riisei* estudadas no Brasil. ϕ_{ST} = variação dentro das populações. $^{*}p < 0,001$ 82

Tabela 6 Valores de Nm (abaixo da diagonal) e de ϕ_{ST} pareados (acima da diagonal) entre as amostras de *Carijoa riisei* estudadas no Brasil. $^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0,001$ 83

Tabela 7 Parâmetros genéticos das populações de *Carijoa riisei* em diferentes regiões geográficas do mundo pela análise do gene ND2. N = número de amostras; H = número de haplótipos; hd = diversidade haplotípica; $\boldsymbol{\pi}$ = diversidade nucleotídica 84

Tabela 8 Distribuição dos haplótipos pela análise de ND2 nas populações de *Carijoa. riisei* de diferentes regiões geográficas do mundo. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos 85

Tabela 9 Análise de variância molecular global para as populações de *Carijoa riisei* do mundo. ϕ_{ST} = variação dentro das populações. $^{*}p < 0,001$ 86

Tabela 10 Análise de variância molecular obtidos da comparação das populações de *Carijoa riisei* do Atlântico com outras regiões geográficas do mundo pela análise do gene ND2. ϕ_{CT} = variação genética entre grupos, ϕ_{SC} = variação genética entre populações dentro dos grupos, ϕ_{ST} = variação genética dentro dos grupos. $^{*}p < 0,05$; $^{**}p < 0,005$; $^{***}p < 0,001$ 87

Tabela 11 Valores de Nm pareados entre as populações de *Carijoa riisei* de diferentes regiões geográficas do mundo 88

Sumário

Resumo viii

Abstract x

Lista de Figuras xii

Lista de Tabelas xiv

1. Introdução 1

2. Objetivos 8

2.1 Objetivo geral

2.2 Objetivos específicos

3. Referências da Introdução 9

4. Capítulo I: Abordagens morfológica e genética do octocoral *Carijoa riisei* (Anthozoa: Alcyonacea) em diferentes ambientes: recifes costeiros, naufrágios e estuários 14

5. Capítulo II: Embriogênese, desenvolvimento e assentamento larval do octocoral *Carijoa riisei* (Anthozoa, Alcyonacea): estudo piloto 47

6. Capítulo III: Diversidade genética e conectividade populacional do octocoral *Carijoa riisei* (Cnidaria: Anthozoa) no Atlântico Sul**,** e ao longo da sua distribuição global 72

7. Conclusões 110

1. Introdução

Os recifes de coral estão entre os mais complexos e produtivos ecossistemas da Terra, sendo detentores de riqueza e diversidade biológica comparáveis às florestas úmidas tropicais (Porter 1976; Connel 1978). Eles abrigam ¼ de todas as espécies marinhas e são considerados os ecossistemas marinhos de maior produtividade, apesar de ocuparem apenas 0,02% dos oceanos. Há estimativas de ocorrência de 600.000 a 9 milhões de espécies recifais (Knowlton 2001).

Esses ecossistemas apresentam grande importância biológica, oferecendo subsídios como alimento e proteção, que possibilitam a coexistência de uma grande diversidade de fauna e flora. Os recifes de coral são considerados os ecossistemas marinhos que apresentam os maiores índices de biodiversidade (Connell 1978). Também exercem relevantes funções ecológicas como proteção da costa contra tempestades e, em geral, contra a erosão, reciclagem de nutrientes e estabelecimento de berçários para inúmeras espécies de organismos marinhos (Buddemeier et al. 2004).

A elevada produtividade associada a recifes coralíneos tem uma importância singular como fonte de recursos pesqueiros para as comunidades costeiras, fonte de farmacoterápicos e áreas para o turismo marinho (Lewinson et al. 2004; Diedrich, 2007). Os recifes de corais são a principal fonte de recursos econômicos para centenas de milhares de pessoas que vivem nas regiões tropicais do nosso planeta (Moberg e Folke 1999). Desta forma, a saúde destes ecossistemas tem influência direta sobre o bem-estar e até sobre a sobrevivência das populações que vivem em zonas litorâneas.

No entanto, apesar da reconhecida importância deste ecossistema, é consenso entre os cientistas de todo o mundo que os ambientes recifais estão em declínio (Jameson 1995). Os recifes de coral são considerados sistemas dinâmicos sujeitos a distúrbios naturais. A estabilidade de ecossistemas recifais está relacionada à instabilidade de parte de seus

componentes e suas constantes mudanças espaciais, assegurando a habilidade de restabelecer um balanço após um distúrbio natural (Dahl e Salvat 1988). Porém, sob uma grande escala geográfica, os impactos humanos podem pôr o sistema além dos seus limites de recuperação, causando uma rápida degradação da diversidade, produtividade e elasticidade. Estima-se que 58% dos recifes de coral do mundo estão ameaçados por atividades humanas (Bryant et al. 1998).

Investimentos vêm sendo destinados à preservação de ambientes naturais e à criação de novos habitats com a instalação de recifes artificiais (Baine 2001). Jensen (2000) define os recifes artificiais como estruturas de grande porte submersas no fundo marinho, para mimetizar as características de um recife natural. Nas últimas duas décadas, o uso de recifes artificiais marinhos foi intensificado em torno do globo (Seaman e Seaman 2000), de modo que o afundamento de estruturas, incluindo os navios descomissionados, visando à formação de recifes artificiais já é utilizado em diversos locais. Atualmente, Pernambuco é o Estado brasileiro com o maior número de embarcações naufragadas conhecidas em área de plataforma continental, cerca de 70 (Santos e Passavante 2007).

Estudos científicos (Grossman et al. 1997; Seaman e Seaman 2000; Claudet e Pelletier 2004) apontam o afundamento de cascos de embarcações em áreas de plataformas continentais como fator de incremento da biodiversidade, além de trazer benefícios socioeconômicos para a pesca e mergulho. Porém nada existe na literatura sobre a influência que esse tipo de intervenção trás para os recifes naturais. Os naufrágios podem servir como fonte de novos indivíduos para as populações costeiras expostas a inúmeros impactos, contribuindo em sua manutenção.

O intercâmbio de indivíduos entre populações é definido como conectividade e se dá através da dispersão (movimento de saída de indivíduos do local de início de vida para ocupar outro ambiente), que é uma das mais importantes características envolvidas na

persistência e evolução das espécies (Cowen et al. 2007). Quando há alta conectividade e fluxo gênico, populações apresentam-se geralmente homogêneas (Mora e Sale 2002; Cowen et al. 2007). Entretanto, padrões de correntes oceânicas locais ou globais, a topografia de fundo e a influência de estuários e de barreiras geográficas podem restringir a dispersão de larvas pelágicas e dos adultos, promovendo assim, a diferenciação genética entre as populações (Sinclair 1988; Grant e Bowen 1998; Cowen et al. 2000). Compreender os padrões de conectividade entre populações aumenta a nossa compreensão da resiliência do ambiente recifal, tal que a capacidade de um recife de coral para se recuperar de eventos de perturbação depende do recrutamento de larvas de coral das populações locais e distantes (Goodbody-Gringley et al. 2011).

Carijoa riisei (Duchassaing e Michelotti, 1860) é um cnidário colonial (Ordem Alcyonacea, Família Clavulariidae) que apresenta pólipos com oito tentáculos pinados (Fig 1; A e B) e se distribui no oceano Atlântico Ocidental, desde o estado da Flórida (Estados Unidos) até o estado de Santa Catarina (Brasil), incluindo o Caribe (Pérez 2002); sendo também registrada no Havaí (Kahng e Grigg, 2005), Indonésia (Calcinai et al. 2004), Tailândia, Austrália, Palau, Chuuk, costa da África Ocidental (Concepcion et al. 2008) e recentemente, na Índia (Padmakumar et al. 2011). Esta espécie pode desenvolver-se sobre uma grande diversidade de substratos, e até sob estaleiros, bóias e cascos de embarcações, sendo uma espécie de octocoral que forma parte da comunidade incrustante (Bayer 1961). Pode encontrar-se na água turva e agitada, em cavernas sombreadas exercendo simbiose com esponjas e hidróides e em estuários associados às raízes de *Rhizophora mangle* (Rees 1972); sendo resistente as variações de temperatura, de salinidade e, certamente, de exposição à luz (Castro 1997). Na costa brasileira é muito abundante, principalmente na região nordeste do país, e estudos anteriores examinaram sua fauna associada (Neves et al.

2007; Souza et al. 2007), ecologia trófica (Lira et al. 2009; Gomes et al. 2012) e reprodução (Barbosa et al. 2014).

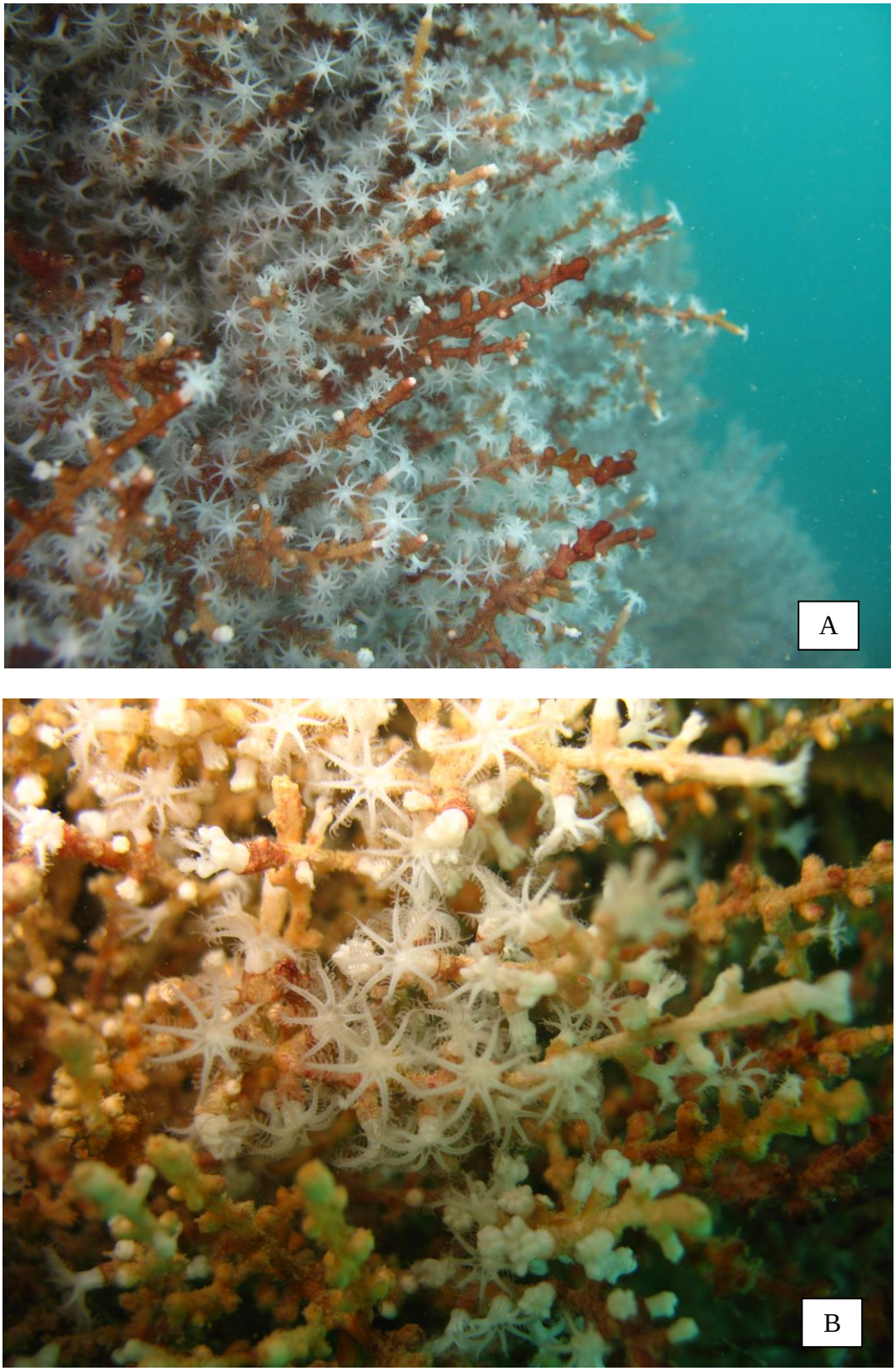

Fig 1 Octocoral *Carijoa riisei* (A) Colônia; (B) Detalhe dos pólipos. Foto: Carlos Pérez

A espécie foi originalmente descrita no mar do Caribe em Saint Thomas, umas das Ilhas Virgens dos EUA, por Duchassaing e Michelotti em 1860, e identificada originalmente no gênero *Clavularia*, posteriormente foi transferida ao gênero *Carijoa* (Bayer 1981). No Havaí, *C. riisei* foi considerada invasora, por ser descoberta pela primeira vez em Pearl Harbour em 1972 em locais bem estudados e causar um significativo impacto ecológico por asfixia e exclusão de outras espécies bentônicas, principalmente corais negros (Kahng e Grigg, 2005; Kahng e Kelley 2007), além de ser considerada uma espécie nativa do Mar do Caribe. Sua chegada ao Havaí foi relacionada com o fluxo de embarcações (Grigg 2003). Estudos recentes utilizando técnicas moleculares, no entanto, indicaram que as populações mais antigas desta espécie podem ser encontradas no Indo-Pacífico, enquanto a população mais jovem analisada foi a do Caribe, de modo que esta espécie parece ser nativa da região do Indo-Pacífico (Concepcion et al. 2010). Contudo, não há consenso quanto ao local de origem da espécie. No Atlântico Sul a espécie é considerada criptogênica, já que não é possível afirmar se a mesma é nativa ou invasora.

Estudos reprodutivos revelaram que a espécie apresenta padrões de reprodução similares no Brasil, no Caribe e no Havaí (um padrão reprodutivo gonocórico e liberação de gametas contínua ao longo do ano) (Bardales 1981 em Kahng et al. 2011; Kahng et al. 2008; Barbosa et al. 2014). As semelhanças de suas características contribuem para a sua rápida proliferação e ocupação de novos espaços deixados por outras espécies (Barbosa et al. 2014), o que poderia indicar uma condição intrínseca à espécie, fazendo dela um potencial agente invasor em áreas onde são introduzidas.

Diante da ampla distribuição geográfica e características reprodutivas, espera-se que *C. riisei* mantenha a conectividade entre as suas populações por elevada capacidade de dispersão. Em geral, esta conectividade está atribuída à dispersão associada ao homem (em cascos de embarcações, em material flutuante, etc). No entanto, a real contribuição dos

mecanismos de reprodução sexuada (dispersão de gametas e de larvas) nunca foi avaliada. A contribuição da dispersão larval ainda não é conhecida, visto que nenhum trabalho no mundo já descreveu o tipo, o tempo de vida e o hábitat da larva de *C. riisei.*

A possível sincronia reprodutiva das populações facilitaria a dispersão da espécie e ocupação de novos locais, além de garantir a coespecificidade das populações ao longo do tempo. Uma ampla dispersão possibilita a conectividade entre populações distantes e fluxo gênico. No entanto, sabe-se que em ambientes diferentes, com pressões seletivas diversas, muitas vezes, inicia-se um processo de divergência com diferenciação genética que pode, inclusive, culminar em um processo de especiação. Uma análise mais ampla, envolvendo um número maior de populações em ambientes diferentes (ex: recifes costeiros, naufrágios e ambientes estuarinos) permitiria, não apenas compreender a biologia da espécie como também avaliar a conectividade genética entre as populações revelando suas interações. O estudo da genética de populações é de importância primordial, porque a manutenção de grandes conjuntos de genes com variabilidade suficiente é necessária para a espécie, a fim de adaptar-se de forma eficiente em diferentes ambientes, inclusive os impactados pelo homem (Meffe e Carroll 1997; Avise 1998).

Assim sendo, este estudo pretendeu avaliar a conectividade das populações de *C. riisei* ao longo da costa brasileira. Para isso, o projeto propôs três abordagens complementares. Em primeiro lugar, foi realizado um estudo em pequena escala geográfica (Pernambuco) para avaliar a estrutura das populações (morfológica e molecular) da espécie em diferentes ambientes (áreas estuarinas, recifes costeiros e naufrágios). A segunda abordagem visou avaliar a contribuição do fluxo de larvas entre as populações. Para isso foi estudado o ciclo de vida da espécie para identificação do tipo de larva, habitat e tempo de vida da mesma. E por fim, a última abordagem teve como objetivo analisar a diversidade genética e a conectividade populacional de *C. riisei* em grande escala

geográfica (Brasil), e comparar os resultados com os de outras populações estudadas distribuídas ao longo de diferentes regiões geográficas mundiais. A análise integrada destes resultados permitiu compreender a conectividade e a estruturação genética destas populações e conhecer a contribuição dos mecanismos sexuais (dispersão de larvas e gametas) no processo.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é analisar a conectividade entre populações de *Carijoa riisei* em diferentes ambientes na costa brasileira através de abordagens morfológica, genética e reprodutiva.

2.2 Objetivos específicos

1. Analisar a variabilidade morfológica das populações de *C. riisei* em diferentes ambientes (recifes costeiros, naufrágios e estuários);

2. Detectar caracteres mais estáveis (úteis na taxonomia) e caracteres com maior variabilidade ambiental na espécie;

3. Analisar a diversidade genética das populações de *C. riisei* em pequena e grande escala geográfica espacial;

4. Estimar o nível de fluxo gênico entre as populações de *C. riisei* em pequena e grande escala geográfica espacial;

5. Determinar se a área estudada apresenta uma única população panmítica em pequena e grande escala geográfica espacial;

6. Conhecer o processo de embriogênese do octocoral *C. riisei*;

7. Conhecer o tipo, o tempo de vida e a habitat da larva de *C. riisei*.

3. Referências

Avise JC (1998) Conservation genetics in marine realm. J Hered 89:377–382

Baine M (2001) Artificial reefs: a review of their design, application, management and performance. Ocean Coast Manage 44: 241-259

Barbosa TM, Gomes PB, Bergeron A-S, Santos AM, Chagas C, Freitas SEM, Perez CD (2014) Comparisons of sexual reproduction in *Carijoa riisei* (Cnidaria, Alcyonacea) in South Atlantic, Caribbean, and Pacific areas. Hydrobiologia 734:201–212

Bayer FM (1961) The shallow-water Octocorallia of the West Indian region: a manual for marine biologists. Martinus Nijhoff, The Hague, p39–42

Bayer FM (1981) Status of knowledge of octocorals of world seas. Seminários de Biologia Marinha, Acad Bra Ciên, Rio de Janeiro, p3–11

Bryant AD, Hainbucher D, Heath M (1998) Basin-scale advection and population persistence of *Calanus finmarchicus*. Fish Oceanogr 7: 235–244

Buddemeier RW, Kleypas JA, Aronson RB (2004) Coral reefs and global climate changes: potential contribution of climate change to stresses on coral reef ecosystems. Pew Center Global Climate Change, p44

Calcinai B, Bavestrello G, Cerrano C (2004) Dispersal and association of two alien species in the Indonesian coral reefs: the octocoral *Carijoa riisei* and the demosponge *Desmapsamma anchorata.* J Mar Biol Assoc UK 84: 937-941

Castro CB (1997) (Rel.) Projeto Abrolhos: Desenvolvimento de um plano de ação para a conservação dos recursos marinhos do complexo de Abrolhos. Aspectos ambientais. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA, p104.

Claudet J, Pelletier D (2004) Marine protected areas and artificial reefs: A review of the interactions between management and scientific studies. Aquat Living Resour 17: 129-138

Concepcion GT, Crepeau MW, Wagner D, Kahng SE, Toonen RJ (2008) An alternative to ITS, a hypervariable, single-copy nuclear intron in corals, and its use in detecting cryptic species within the octocoral genus *Carijoa*. Coral Reefs 27: 323-336

Concepcion, GT, Kahng SE, Crepeau MW, Franklin EC, Coles SL, Toonen RJ (2010) Resolving natural ranges and marine invasions in a globally distributed octocoral (genus *Carijoa*). Mar Ecol Prog Ser 401:113–127

Connell JH (1978) Diversity in Tropical Rain Forests and Coral Reefs. Science 199: 1302-1310

Cowen RK, Lwiza KMM, Sponaugle S, Paris CB, Olson DB (2000) Connectivity of marine populations: open or closed? Science 287 (5454):857-859

Cowen RK, Gawarkiewicz G, Pineda J, Thorrold SR, Werner FE (2007) Population connectivity in marine systems: an overview. Oceanography 20(3): 14-21

Dahl AL, Salvat B (1988) Are human impacts, either through traditional or contemporary uses, stabilizing or destabilizing to reef community structure? Proc 6th Intl Coral Reef Symp 1: 63-69

Diedrich A (2007) The impacts of tourism on coral reef conservation awareness and support in coastal communities in Belize. Coral Reefs 26: 985-996

Gomes PB, Lira AKF, Naud J-P, Santos AM, Perez CD (2012) Prey selectivity of the octocoral *Carijoa riisei* at Pernambuco, Brazil. An Acad Bras Cienc 84: 157–164

Goodbody-Gringley G, Woollacott RM, Giribet G (2011) Population structure and connectivity in the Atlantic scleractinian coral *Montastraea cavernosa* (Linnaeus,1767) Mar Ecol, 1–17

Grant WS, Bowen B (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. J Hered 89 (5): 415-426

Grigg RW (2003) Invasion of a deep water coral bed by an alien species, *Carijoa riisei*. Coral Reefs 22: 121–122

Grossman GD, Jones GP, Seaman WJ (1997) Do artificial reefs increase regional fish production? A review of existing data. Fisheries 22: 17-23

Jameson SC, McManus JW, Spalding MD (1995) State of the reefs: Regional and global perspectives. International Coral Reefs Initiative, 32 p

Jensen AC, Collins KJ, Lockwood APM (2000) Artificial reefs in European seas. Kluwer Academic Publishers, p508

Kahng SE, Grigg RW (2005) Impact of an alien octocoral, *Carijoa riisei*, on black corals in Hawaii. Coral Reefs 24: 556–562

Kahng SE, Kelley C (2007) Vertical zonation of habitat forming benthic species on the deep reef (60–150 m) in the Au'au Channel, Hawaii. Coral Reefs 26: 679–687

Kahng SE, Benayau Y, Wagner D, Rothe N (2008) Sexual reproduction in the invasive octocoral *Carijoa riisei* in Hawaii. Bull Mar Sci 82:1-17

Kahng SE, Benayahu Y, Lasker HR (2010) Sexual reproduction in octocorals. Mar Ecol Prog Ser 443:265–283

Knowlton N (2001) Coral reef biodiversity-habitat size matters. Science 292: 1493-1495

Lewinson RL, Crowder LB, Read AJ, Freeman SA (2004) Understanding impacts of fishery bycatch on marine megafauna. Trends Ecol Evol 19: 598-604

Lira AKF, Naud JP, Gomes PB, Santos AM, Perez CD (2009) Trophic ecology of the octocoral *Carijoa riisei* from littoral of Pernambuco, Brazil. I. Composition and spatio-temporal variation of the diet. J Mar Biol Assoc UK 89:89–99

Meffe K, Carroll R (1997) Genetics: conservation of diversity within species. In: Meffe GK, Carroll CR, editors. Principles of conservation biology. Sunderland: Sinauer Associates, p161–202

Moberg F e Folke C (1999) Ecological goods and services of coral reef ecosystems. Ecol Econ 29(2): 215-233

Mora C, Sale PF (2002) Are populations of coral reef fish open or closed? Trends Ecol Evol 17(9):422-428

Neves BM, Lima EJB e Perez CD (2007) Brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) associated with the octocoral *Carijoa riisei* (Cnidaria: Anthozoa) from the littoral of Pernambuco, Brazil. J Mar Biol Assoc UK 87:1263–1267

Padmakumar K, Chandran R, Yogesh JS, Sornaraj R (2011) *Carijoa riisei* (Cnidaria: Octocorallia: Clavulariidae), a newly observed threat to Gulf of Mannar coral biodiversity? Current Sci 100(1):35-37

Pérez CD (2002) Octocorais (Cnidaria, Anthozoa) do litoral Pernambucano (Brasil). In Tabarelli, M. e J. M. Silva (eds), Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco. Editora Massangana, Recife: 365–368

Porter JW (1976) Autotrophy, heterotrophy, and resource partitioning in Caribbean reef building corals. Amer Nat 110: 731-742

Rees JT (1972) The effect of current on growth form in a octocoral. J Exp Mar Biol Ecol 10:115-123

Santos DHC e Passavante JZO (2007) Recifes Artificiais Marinhos: Modelos e Utilizações no Brasil e no Mundo. Bol Tec Cient CEPENE 15(1): 113-124

Seaman W e Seaman WJr. (2000) Artificial Reef Evaluation: with Application to Natural Marine Habitats. CRC Press, p264

Sinclair M (1988) Marine populations: an essay on population regulation and speciation. Washington Sea Grant Program, University of Washington Press, p252

Souza JRB, Rodrigues HA, Neves BM, Pérez CD (2007) First report of bristleworm predator of the reef octocoral *Carijoa riisei*. Coral Reefs 26:1033

4. Capítulo I

Abordagens morfológica e genética do octocoral *Carijoa riisei* (Anthozoa: Alcyonacea) em diferentes ambientes: recifes costeiros, naufrágios e estuários

Resumo

Carijoa riisei é um octocoral de ampla distribuição na faixa tropical, presente em diversos tipos de ambientes. A espécie tem sido relatada como capaz de se adaptar a novos locais rapidamente e seu sucesso tem sido associado à sua plasticidade fenotípica. De fato, as diferentes populações de *C. riisei* apresentam grande variabilidade morfológica, dificultando a delimitação da espécie. No entanto, nenhum estudo foi feito para quantificar esta variabilidade ou identificar sua origem. Assim, o presente trabalho visa determinar a variabilidade morfológica e genética na espécie. Para tanto, foram analisadas sete populações de diferentes ambientes (recifes costeiros, naufrágios e estuários), no litoral de Pernambuco (Brasil) quanto a morfologia (575 colônias) e quanto a diversidade e conectividade genética das populações (163 colônias), usando o gene mitocondrial ND2. Os resultados demonstraram grande variabilidade em 10 caracteres morfológicos, incluindo aqueles relacionados aos escleritos, com variação mesmo entre populações de uma mesma categoria de ambiente. Apenas a densidade dos pólipos não apresentou variabilidade significativa, demonstrando ser útil para a taxonomia do grupo. Dentre as populações estudadas, a dos recifes costeiros de Porto de Galinhas apresentou maior diferenciação morfológica em relação às demais. Quando a comparação foi realizada entre os tipos de ambientes, observou-se que a menor variação morfológica ocorreu dentro das populações dos estuários, e a maior, dentro das populações dos recifes costeiros. Apesar da grande variabilidade morfológica, *C. riisei* não apresentou diferenciação genética entre as populações estudadas e exibiu um alto fluxo gênico, indicando que a espécie em Pernambuco é uma única população panmítica. Foram encontrados sete haplótipos. Os recifes costeiros e naufrágios revelaram maior diversidade genética, com maior número de haplótipos e haplótipos exclusivos. Assim a alta variabilidade morfológica de *C. riisei*

encontrada neste estudo é devido à plasticidade fenotípica em resposta a mudanças ambientais, e não ao acúmulo de diferenças genéticas devido à interrupção do fluxo gênico entre as populações. Este nível considerável de variação morfológica provavelmente favorece a adaptação da espécie em condições ecológicas heterogêneas, contribuindo para a sua ampla distribuição.

Palavras-chave: Octocorallia, Variação morfológica, Fluxo gênico, Panmixia, Brasil

Introdução

Muitas espécies marinhas sésseis de vários grupos taxonômicos apresentam uma variação morfológica considerável, sendo associada a questões ambientais, principalmente a ação das ondas (Weerdt 1981,1984; Lesser et al. 1994; Bruno e Edmunds 1997; Arsenault et al. 2001; Gutiérrez-Rodríguez et al. 2009), a profundidade (Bosscher e Meesters, 1992; Beltran-Torres e Carricart-Ganivet 1993), a luminosidade (Graus e Macintyre 1982; West 1997; Muko et al. 2000), ao nível de sedimentação (Todd et al. 2001) e ao fornecimento de nutrientes (Barata et al. 2001). A variabilidade morfológica pode ser gerada pela expressão de diferentes genótipos adaptados aos diferentes ambientes ou pela expressão de fenótipos diferentes que refletem a influência do meio (Meroz-Fine et al. 2003). O efeito fenotípico provocado pela interação entre o ambiente e o genótipo é conhecido como plasticidade fenotípica.

A plasticidade fenotípica é a habilidade de um organismo de alterar sua fisiologia e/ou morfologia em resposta a diferentes condições ambientais, sem que seu genótipo seja alterado (Kuiper e Kuiper 1988; Fuzeto e Lomônaco 2000; Sultan 2000), permitindo que indivíduos geneticamente iguais apresentem fenótipos diferentes (Callaway 2003). Isto, contudo, pode gerar dificuldades na delimitação de espécies, pois dificulta a identificação de caracteres estáveis relevantes para a taxonomia. Como consequência, a análise taxonômica vem sendo aprimorada nestes últimos anos no sentido de que o status

evolutivo atual de uma linhagem só pode ser melhor avaliada por meio de uma abordagem integrativa (Riedel et al. 2013).

Na subclasse Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa), a plasticidade fenotípica ao longo de gradientes ambientais ou habitats não é incomum (Bayer 1961; West et al. 1993; Brazeau e Harvell 1994; Kim e Lasker 1997; West 1997; Kim et al. 2004; Skoufas 2006; Gutiérrez-Rodríguez et al. 2009). As delimitações das espécies nos octocorais não são nítidas pela variação tanto na forma de crescimento da colônia quanto no formato e no tamanho dos escleritos, que são características morfológicas utilizadas tradicionalmente nas descrições taxonômicas (Bayer 1961). A simplicidade estrutural somada à variabilidade na morfologia pode gerar erros de identificação das espécies.

O octocoral *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti 1860) (ordem Alcyonacea, família Clavulariidae) está amplamente distribuído ao longo da costa brasileira incrustado em substrato consolidado, tanto em ambientes naturais quanto artificiais (Amaral et al. 2009/2010; Lira et al. 2010; Marques et al. 2013). Esta espécie já foi estudada quanto a fauna associada (Neves et al. 2007; Souza et al. 2007), ecologia trófica (Lira et al. 2009; Gomes et al. 2012) e reprodução sexual (Barbosa et al. 2014). Atualmente a espécie tem uma distribuição circumtropical com populações no Indo-Pacífico, Austrália, Havaí, Atlântico Ocidental (Caribe e Brasil) e África Ocidental (Concepcion et al 2008). A especie *C. riisei* foi inicialmente considerada invasora no Havaí e outras localidades do Pacífico, dispersada por vetores marinhos (Grigg 2003), competindo com sucesso, e até mesmo crescendo por cima de corais negros e em outras formas de invertebrados nativos (Kahng e Grigg 2005; Kahng e Kelley 2007). No entanto, estudos recentes utilizando técnicas moleculares indicaram que a origem do gênero está no Indo-Pacífico (Concepcion et al. 2010).

Carijoa riisei é um octocoral colonial estolonial de estrutura simples, com um estolão rasteiro de onde surgem os pólipos primários que podem se ramificar formando densos bancos e apresenta escleritos simples em forma de bastão com poucas ornamentações. No entanto, não há estudos que avaliem a variação morfológica da espécie, e talvez uma explicação para a ampla distribuição geográfica, possa ser a elevada variabilidade dos caracteres morfológicos. A plasticidade fenotípica pode desempenhar um papel importante na ampliação da distribuição das espécies (Bruno e Edmunds 1997), pois aumenta a sobrevivência e sucesso reprodutivo dos indivíduos, contribuindo para a sua capacidade de lidar com as mudanças ambientais e, potencialmente, adaptar-se a novos nichos (Prada et al. 2008). Por outro lado, a variação na morfologia pode também indicar uma diferenciação genética entre populações com a existência, até mesmo, de espécies crípticas, refletindo mecanismos de isolamento e especiação (Prada et al. 2008).

Como *C. riisei* apresenta populações estabelecidas em ambientes bem diversos como estuários, recifes costeiros e naufrágios, com diferentes condições ambientais, o presente estudo teve como objetivo responder a duas perguntas principais: 1- há variação morfológica intraespecífica associada aos diferentes locais? A resposta a esta pergunta é importante para estabelecer a variabilidade da espécie bem como reconhecer caracteres estáveis que possam ser úteis para sua delimitação taxonômica; 2- qual a origem da variabilidade morfológica se esta for observada? Para responder se a variação corresponde à plasticidade fenotípica, associada às condições ambientais, ou é devida a diferenciação genética. Estudos sobre plasticidade fenotípica em possível associação à diferenciação genética no ambiente aquático, vem sendo cada vez mais frequente na literatura (Baco & Cairns 2012; Inoue et al. 2014; Miron-Berbel 2014).

A hipótese central a ser testada neste trabalho é que *C. riisei* possui elevada variação de suas características morfológicas diante de diferentes condições ambientais,

refletindo plasticidade fenotípica associada às condições do meio, havendo, portanto, elevada conectividade entre as populações.

Material e métodos

Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido na zona costeira do estado de Pernambuco, Brasil, que compreende uma faixa de 187 km de extensão. O clima da região é quente-úmido, com uma temperatura anual média de 24°C e 1500-2000 mm de pluviosidade anual (Silva et al. 2004). Há duas estações distintas: chuvosa, entre março a agosto, e seca, de setembro a fevereiro (Medeiros et al. 1999).

As áreas de estudo abrangeram sete pontos da costa de Pernambuco distribuídos em três ambientes diferentes: os recifes costeiros das praias de Ponta de Pedras (07°37'47'' S e 034°48'31''W), Porto de Suape (08°21'49''S e 034°56'49''W) e de Porto de Galinhas (08°30'30''S e 034°59'54''W); naufrágios Servemar X (08°07'19''S e 034°45'46"W) e Taurus (08°04'193''S e 034°45'196''W); e estuários dos rios Itapessoca (07°40'47''S e 034°48'31''W) e Formoso (08°41'03''S e 035°06'08''W) (Fig 1). Nos recifes costeiros, as colônias da praia de Porto de Galinhas estavam presentes em uma profundidade de até 8 m, habitando o interior de uma caverna e suas adjacências. Nas praias de Ponta de Pedras e Porto de Suape, entretanto, as colônias habitavam locais rasos, ficando geralmente expostas na baixa mar. Nos naufrágios, o Servemar X afundado em 2002, encontra-se a 13,9 km distante da costa e a 23 m de profundidade (Amaral et al. 2009/2010), enquanto o naufrágio Taurus, afundado em 2006, encontra-se a 12,4 km da costa e a 24 m de profundidade (Santos et al. 2008), ambos com as colônias se desenvolvendo em áreas

sombreadas, principalmente dentro das cabines. Nos estuários, as colônias estavam geralmente submersas a uma profundidade de até 2 m na maré baixa, fixas em substratos artificiais, como ponte e cais (rios Formoso e Itapessoca) e currais de pesca (rio Itapessoca).

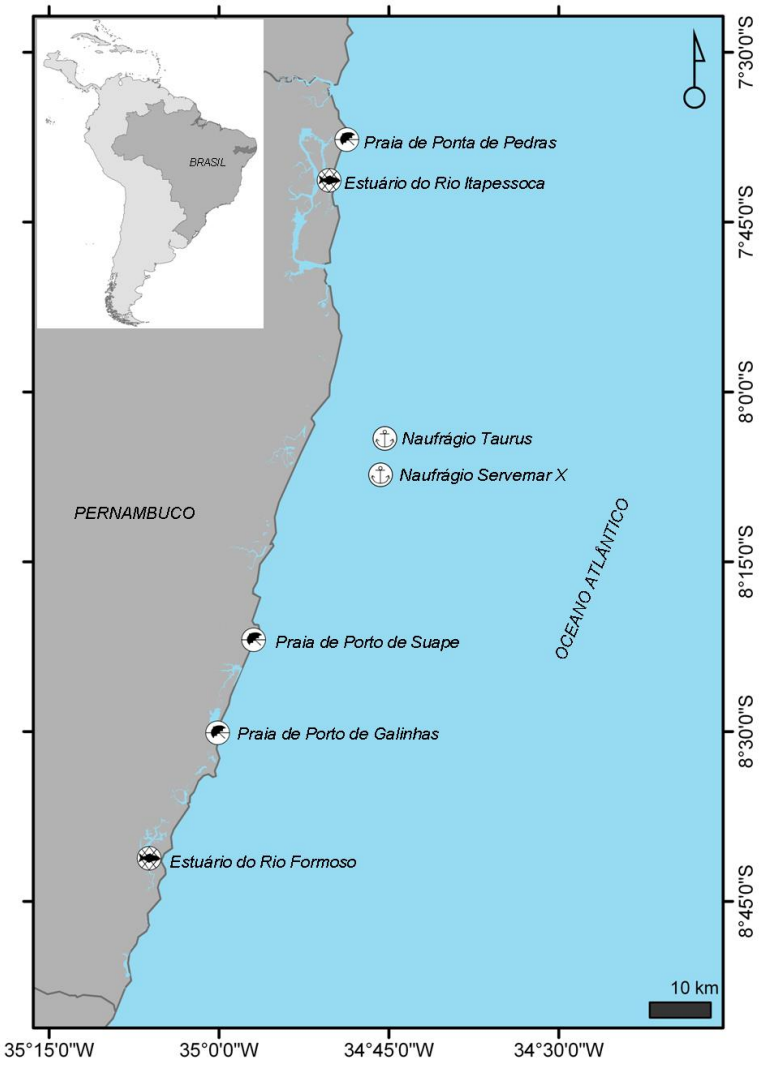

Fig 1 Localização geográfica das áreas de estudo das populações do octocoral *Carijoa riisei* no litoral de Pernambuco, região nordeste do Brasil

Análises morfológicas

As amostras de *Carijoa riisei* foram coletadas entre abril de 2011 e junho de 2012 através da técnica de Mergulho Autônomo (SCUBA) ou de Mergulho livre (apneia), dependendo do ambiente. Foi coletado aleatoriamente, quando possível, um total de 100 pólipos axiais de cada local de coleta. Os espécimes foram coletados de agregações descontínuas, afastadas pelo menos 2 m, para reduzir a probabilidade de coletar o mesmo genótipo diversas vezes (Barbosa et al. 2014). As amostras foram colocadas em sacos plásticos etiquetados *in situ*, fixados em formaldeído 4% em água do mar por 24 horas, lavados em água doce corrente em laboratório, e, posteriormente, preservados em álcool 70%.

Para estudar a variação morfológica de *C. riisei* expostas a diferentes ambientes foram realizadas medições/contagem dos caracteres morfológicos: altura do pólipo axial (mm), espessura da base do pólipo axial (mm), diâmetro dos pólipos (mm) (cinco pólipos por colônia), número total de pólipos por colônia, densidade dos pólipos (número de pólipo em um cm de colônia), grau de ramificação (ramos que brotam a partir do pólipo axial e das próprias ramificações) e peso úmido (g) (Fig 2). Para essas medições foram utilizados paquímetro digital e balança eletrônica. Caracteres microanatômicos também foram mensurados através da medição do comprimento (µm) de escleritos de duas partes da colônia (cenênquima e pólipos) de duas regiões diferentes da mesma (pólipo axial e ramificações). Um total de 10 escleritos de cada parte em cada região foi medido, quando possível, de vinte colônias escolhidas aleatoriamente de cada localidade, totalizando 4600 escleritos analisados. Essas medições foram realizadas com microscópio óptico com escala micrométrica.

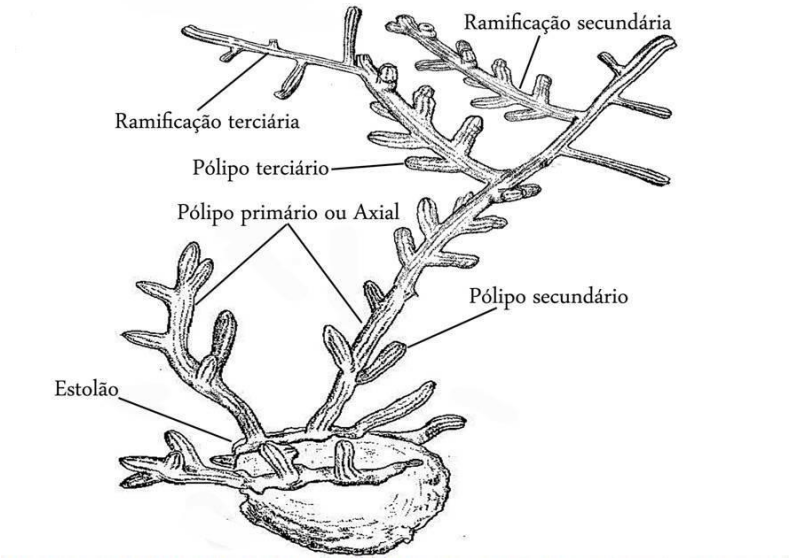

Fig 2 Esquema da colônia de *Carijoa riisei* (modificado de Bayer 1961)

Para testar a hipótese de que as colônias de *C. riisei* presentes nos ecossistemas de recifes costeiros (praias de Porto de Galinhas, Porto de Suape e Ponta de Pedras), naufrágios (naufrágio Servemar X e Taurus) e estuários (rios Formoso e Rio Itapessoca) apresentam diferenças significativas nos valores dos caracteres morfológicos analisados, foi utilizado o procedimento descrito a seguir. Para cada dado morfológico, foi testada a normalidade do erro da distribuição (teste de D´Agostino) e a homocedasticidade das variâncias (teste de Bartlett). Como os dados não apresentaram distribuição normal e foram heterocedásticos, mesmo após transformação, foi, então, utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e em seguida, os valores das medianas foram comparados, utilizando o teste de Student Newman Keuls (SNK) (Zar 2010). Com base nessas análises, foram adotadas letras iguais quando não houve diferença estatística ($p>0,05$).

Para análise multivariada, foi elaborada uma matriz de dados, contendo as localidades (praias de Ponta de Pedras, Porto de Galinhas e Porto de Suape; Naufrágios Taurus e Servemar X; e estuários do Rio Itapessoca e Rio Formoso) como descritores e os caracteres morfológicos registrados como objetos (Mardia et al. 1980). Os dados foram

transformados (raiz quadrada) e em seguida, foi utilizado o índice de similaridade de Bray-Curtis como método de ligação entre os objetos e os descritores. Posteriormente, foi utilizada a média do grupo e a partir da matriz triangular, foi feita a análise de escalonamento multi-dimensional (MDS), com o objetivo de identificar os principais grupos aos quais os descritores são ordenados. Para comparação dos dados, foi realizada uma análise de similaridade multivariada (ANOSIM) com dois fatores (com réplicas) entre as localidades, com 999 permutações (Clarke e Warwick 2001).

Análises genéticas

Para avaliar a variabilidade genética, um total de 163 amostras (Tabela 1) de *C. riisei* foi coletado nos mesmos locais do estudo morfológico (naufrágios, recifes costeiros e estuários). As amostras foram retiradas de colônias individuais espaçadas com pelo menos dois metros de distância, para evitar a amostragem de indivíduos clonais (duplicação de genótipos). Os espécimes coletados foram mantidos refrigerados a -20°C em tubo falcon de 50 ml contendo etanol a 96%.

Tabela 1 Ambientes, localidades, siglas e número de indivíduos amostrados para estudos genéticos de *Carijoa riisei* em Pernambuco, Brasil

AMBIENTE	LOCALIDADE	SIGLA	N
Recife costeiro	Praia de Porto de Galinhas	PG	24
	Praia de Porto de Suape	PS	24
	Praia de Ponta de Pedras	PP	26
Naufrágio	Naufrágio Taurus	NT	24
	Naufrágio Servemar X	NS	21
Estuário	Estuário do Rio Formoso	RF	20
	Estuário do Rio Itapessoca	RI	24
Total			**163**

O DNA foi extraído a partir de colônias individuais (2 a 4 pólipos por colônia) utilizando o kit de extração DNAEasy (QIAGEN), com modificações de Concepcion et al (2006). Para cada indivíduo, a subunidade 2 do gene NADHdesidrogenase (ND2) do DNA mitocondrial foi amplificada por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) utilizando os iniciadores 16S-647F (5' ACACAGCTCGGTTTCTATCTACAA-3') e ND2-1418R (5'-ACATCGGGAGCCCACATA-3') desenhados por McFadden et al. (2004). Os iniciadores foram ancorados no gene mitocondrial adjacente para aumentar a especificidade e evitar a amplificação de gene do genoma nuclear ou de simbiontes (Sanchez et al. 2003; McFadden et al. 2004).

A solução de PCR (25 µl de 2000 total) consistiu de 12,5 µl de 2 X Taqmastermix (Vivantis), 0,5 µl de $MgCl_2$ (50mM), 2 µl de solução de DNA genômico a 40 ng, 1,5 µl de cada um dos iniciadores (10 mM) e água purificada para completar o volume final. A amplificação prosseguiu com um passo inicial de 2,0 min a 94°C; seguido de 35 ciclos de 1,5 min a 94°C, 1,5 min a 58°C, e de 1,0 min a 72°C; e com uma extensão final de 5,0 min a 72°C. O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,8% e, posteriormente, purificado, através da enzima ExoSap-IT® (Affimetrix) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA purificado foi sequenciado através do sequenciador Modelo ABI 3130 – AppliedBiosystems, utilizando o Kit "Big Dye TM Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction" (Applied Biosystems).

As sequências foram editadas por meio do software Geneious (http://www.geneious.com) e alinhadas usando ClustalW (Thompson et al, 1994), implementado em BioEdit 7.0.5.3 (Hall 1999), seguido por inspeção visual para os ajustes finais. O software DnaSP v.5.10.00 (Rozas et al. 2003) foi utilizado para estimar a diversidade genética (número de haplótipos) e determinar a distribuição dos haplótipos nas localidades e ambientes amostrados. Tais informações foram utilizadas para a construção

de uma rede haplotípica através do software Network (Bandelt et al. 1999), pelo método Median joining com todos os sítios contribuindo com igual penalidade para análise. A Análise de Variância Molecular (AMOVA) (Excoffier et al. 1992), implementada através do software ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2010), foi utilizada para determinar o nível de estruturação genética de *C. riisei* em Pernambuco. Tal método foi aplicado de forma a calcular o índice de fixação da variação genética intraespecífica (ϕ_{ST}) global, que representa a divergência na frequência alélica entre as localidades, e o índice de fixação da variação genética entre grupos (ϕ_{CT}), considerando os três diferentes ambientes (naufrágio, recife costeiro e estuário). O fluxo gênico global de *C. riisei* foi calculado a partir do número de migrantes por geração (Nm) utilizando DnaSP v.5.10.00 (Rozas et al. 2003). Para todas as análises estatísticas foi adotado um nível de significância de 5%.

Resultados

Análises morfológicas

Um total de 575 colônias de *Carijoa riisei* foi analisado quanto à morfologia. As populações do litoral de Pernambuco que abrangeram os recifes costeiros, naufrágios e estuários distribuídos em sete locais não apresentaram um mesmo padrão morfológico. Os valores mínimo, máximo, médio e desvio padrão dos caracteres morfológicos de *C. riisei* nos diferentes ambientes estão apresentados na Tabela 2. O teste de Kruskal-Wallis apresentou o p-valor menor que 0,0001, indicando que há diferença estatística em 10 dos 11 caracteres morfológicos analisados, quando comparadas as localidades (Fig 3). Apenas na análise da densidade dos pólipos, não se observou diferença significativa (p=0,068),

com médias variando entre 5,68 a 6,7 pólipos/cm de colônia, apresentando geralmente um espaçamento regular entre eles.

Dentre as populações estudadas, a que apresentou a maior diferenciação morfológica quando comparada as outras localidades foi a do recife costeiro de Porto de Galinhas. Os parâmetros morfológicos determinantes para esta variabilidade foram: altura do pólipo axial, grau de ramificação, espessura basal do pólipo axial, peso úmido, número total de pólipos e diâmetro dos pólipos, obtendo também as maiores médias. Em todas as localidades foi observada a predominância do grau secundário de ramificação nas populações e o maior grau de ramificação, quaternário, foi observado apenas no recife costeiro de Porto de Galinhas (Tabela 2 e Fig 3). Considerando apenas o ambiente de recife costeiro, verificou-se que os indivíduos das praias de Porto de Suape e Ponta de Pedras mostraram diferenças entre elas apenas quanto ao caráter de altura do pólipo axial. Por outro lado, a praia de Porto de Galinhas se diferenciou dessas duas praias em todos os caracteres morfológicos analisados, exceto para densidade dos pólipos, que foi detectada como uma característica morfológica estável entre todas as populações do litoral de Pernambuco.

Os comprimentos dos escleritos do cenênquima dos ramos obtiveram em todas as localidades amostradas uma média maior quando comparada aos comprimentos dos escleritos de outras regiões da colônia. Da mesma forma, os comprimentos dos escleritos dos pólipos dos ramos, obtiveram as maiores médias quando comparadas aos escleritos dos pólipos secundários (Tabela 2). A variação no tamanho dos escleritos de *C. riisei* entre os locais não seguiu um mesmo padrão.

Ao analisar o MDS, observou-se uma grande dispersão dos pontos devido à grande amostragem (n=575). Ao analisar os valores médios de cada localidade por mês (n=23),

pôde-se notar uma grande separação dos grupos (R global = 0,168; p<0,0001), ao utilizar as localidades como fator (Fig 4; Tabela 3).

Corroborando os resultados não paramétricos, a população do recife costeiro de Porto de Galinhas ficou claramente separada das outras populações aqui estudadas quando comparadas as outras localidades. Quando a comparação é realizada entre os tipos de ambientes (recifes, naufrágios e estuários), a menor separação entre as populações é observada dentro dos estuários (rios Formoso x Itapessoca, R=0,005) (Fig 4 e Tabela 3).

Tabela 2 Estatísticas descritivas das análises morfológicas das populações de *Carijoa riisei* de diferentes ambientes em Pernambuco, Brasil, onde: APA = Altura do pólipo axial (mm); PU = Peso Úmido (g); GR = Grau de Ramificação; NTP = Número total de pólipos; DEP = Densidade dos pólipos; DIP = Diâmetro dos pólipos (mm); EPA = Espessura do pólipo axial (mm); ECPA = Comprimento do esclerito do cenênquima do pólipo axial (µm); EPPA = Comprimento do esclerito do pólipo lateral do pólipo axial (µm); ECR = Comprimento do esclerito do cenênquima dos ramos (µm); EPR = Comprimento do esclerito do pólipo lateral dos ramos (µm)

Ambientes	Áreas de Estudo		Caracteres Morfológicos										
			APA	PU	GR	NTP	DEP	DIP	EPA	ECPA	EPPA	ECR	EPR
Recifes Costeiros	Porto de Galinhas	Mín.	54,17	0,15	0	22	4	0,4	0,95	13	13	14	10
		Máx.	319,44	13,18	4	339	8	1,95	3,64	38	33	34	39
		Méd.	**148,94**	**1,69**	**1,43**	**117,18**	**5,87**	**0,91**	**2,02**	**21,03**	**21,01**	**23,49**	**21,06**
		DP	47,28	0,96	0,84	71,18	1,41	0,15	0,61	4,59	4,05	5,03	5,01
	Porto de Suape	Mín.	21,88	0,18	0	18	4	0,39	0,91	10	11	11	11
		Máx.	185,30	2,01	2	130	8	1,26	3,21	31	29	41	27
		Méd.	**81,88**	**0,68**	**0,93**	**50,22**	**6,05**	**0,81**	**1,73**	**18,74**	**18,54**	**21,36**	**19,08**
		DP	31,08	0,41	0,57	23,88	1,02	1,02	0,49	4,31	3,62	5,8	3,31
	Ponta de Pedras	Mín.	42,64	0,12	0	20	4	0,34	0,72	12	10	11	13
		Máx.	178,37	2,40	2	124	8	1,34	2,33	32	29	36	32
		Méd.	**104,08**	**0,72**	**0,78**	**50,03**	**6,06**	**0,79**	**1,55**	**18,69**	**18,66**	**21,28**	**19,13**
		DP	30,77	0,42	0,59	15,008	2	0,15	0,34	3,85	3,32	4,72	3,39
Naufrágios	Servemar X	Mín.	34,38	0,15	0	16	3	0,2	0,95	10	12	11	11
		Máx.	169,50	1,63	2	102	9	1,42	2,58	34	35	36	36
		Méd.	**85,72**	**0,49**	**0,86**	**44,51**	**5,76**	**0,81**	**1,54**	**20,2**	**20,92**	**21,69**	**20,76**
		DP	32,07	0,26	0,55	15,84	1,22	0,18	0,29	4,45	4,17	5,15	4,45
	Taurus	Mín.	35,40	0,07	0	17	4	0,23	1,03	13	11	14	12
		Máx.	276,45	2,93	3	204	8	1,4	2,67	43	34	46	36
		Méd.	**90,07**	**0,68**	**0,97**	**51,89**	**5,68**	**0,7**	**1,59**	**21,62**	**20,32**	**23,76**	**21,14**
		DP	34,62	0,51	0,65	32,45	0,8	0,21	0,37	3,66	3,54	5,69	5,68
Estuários	Rio Formoso	Mín.	22,91	0,03	0	19	4	0,34	1,01	14	12	14	14
		Máx.	183,26	1,89	3	231	8	1,52	1,86	33	36	41	40
		Méd.	**77,20**	**0,55**	**0,67**	**70,42**	**6,07**	**0,82**	**1,34**	**20,15**	**20,33**	**23,35**	**21,09**
		D. P.	35,06	0,49	0,72	46,17	1,04	0,17	0,21	4,25	4,57	4,69	3,7
	Rio Itapessoca	Mín.	27,20	0,06	0	19	4	0,29	0,89	13	11	13	14
		Máx.	134,10	4,14	2	267	7	1,18	2,06	35	32	30	30
		Méd.	**77,46**	**0,91**	**0,9**	**75,37**	**5,7**	**0,79**	**1,36**	**19,87**	**19,69**	**20,82**	**20,9**
		D. P.	29,91	1,93	0,62	34,49	0,88	0,14	0,24	4,27	3,9	3,81	3,45

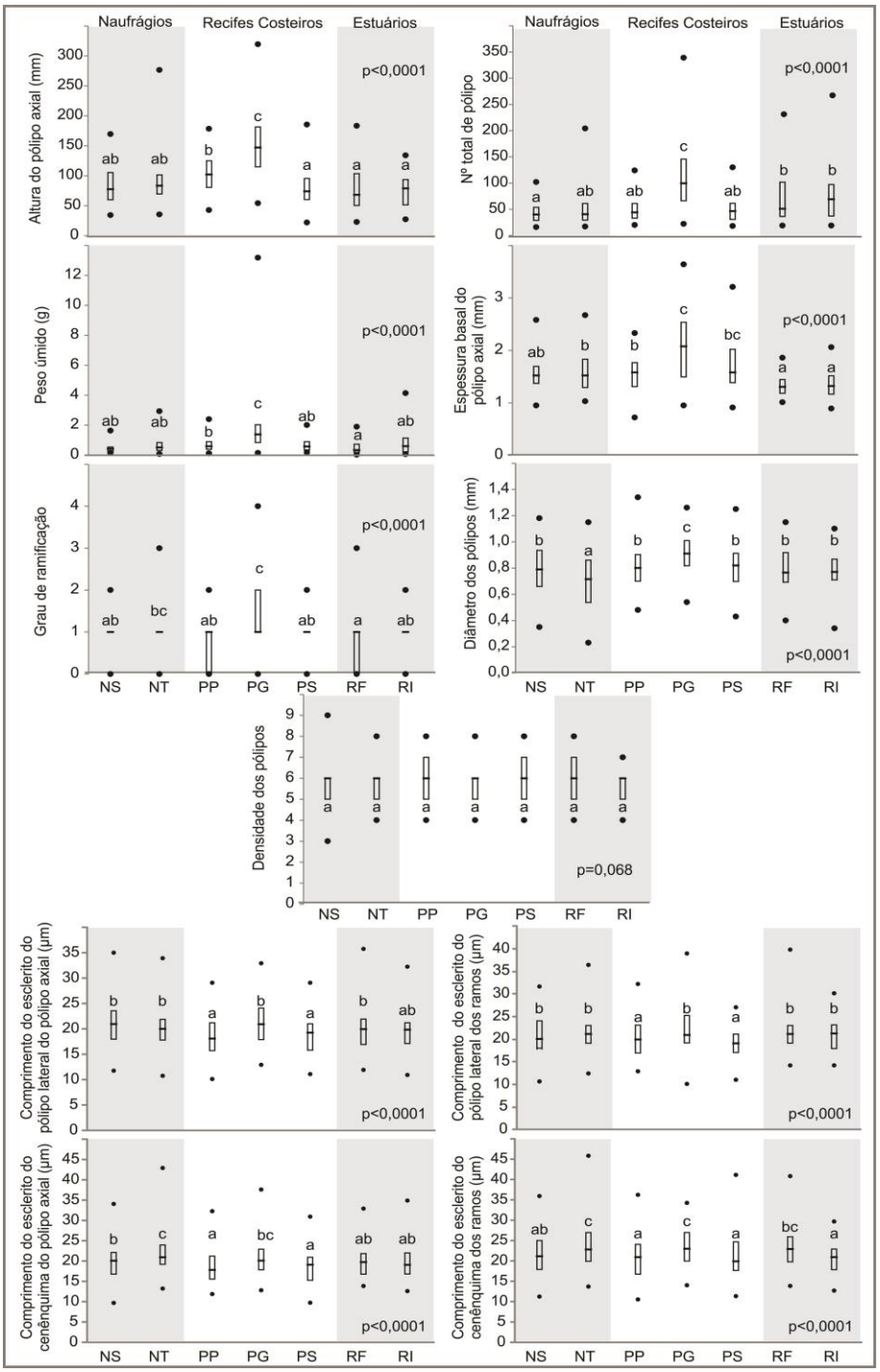

Fig 3 Análise comparativa dos caracteres morfológicos das populações de *Carijoa riisei* em função dos diferentes ambientes de Pernambuco, Brasil: naufrágios Servemar X (NS) e Taurus (NT); recifes costeiros das praias de Ponta de Pedras (PP), Porto de Galinhas (PG) e Porto de Suape (PS); e estuários dos rios Formoso (RF) e Itapessoca (RI). Letras iguais indicam igualdade estatística entre as medianas, utilizando os testes de Kruskal Wallis e de Student Newman Keuls ($p<0,05$). O ponto superior indica o valor máximo; a barra superior, o terceiro quartil (75%); a barra central indica a mediana; a barra inferior, o primeiro quartil (25%) e o ponto inferior, o valor mínimo da amostra

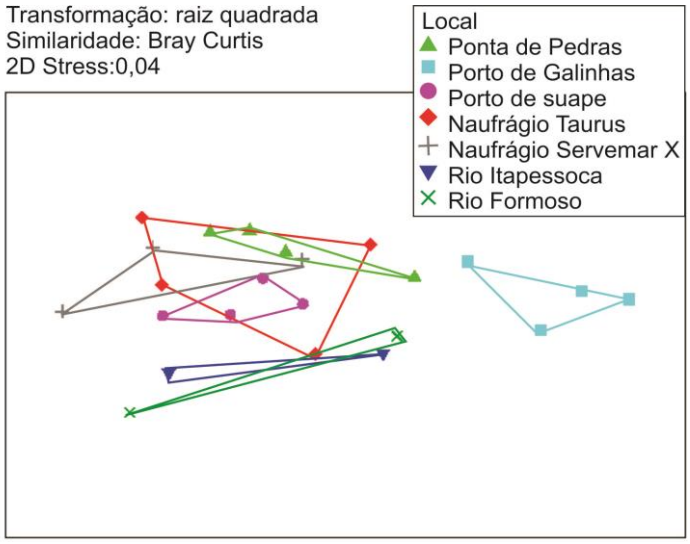

Fig 4 Análise de similaridade multivariada dos caracteres morfológicos de *Carijoa riisei* quanto às localidades estudadas em Pernambuco, Brasil: recifes costeiros (praias de Porto de Galinhas, Porto de Suape e Ponta de Pedras), naufrágios (Servemar X e Taurus) e estuários (rios Formoso e Itapessoca)

Tabela 3 Comparação par a par, utilizando ANOSIM, das localidades estudadas em Pernambuco, Brasil em função dos caracteres morfológicos avaliados em *Carijoa riisei*

Ambientes	R
Praia de Porto de Galinhas, Naufrágio Servemar X	0,438
Praia de Porto de Galinhas, Praia de Porto de Suape	0,422
Praia de Porto de Galinhas, Estuário do Rio Itapessoca	0,42
Praia de Porto de Galinhas, Naufrágio Taurus	0,413
Praia de Porto de Galinhas, Estuário do Rio Formoso	0,387
Praia de Porto de Galinhas, Praia de Ponta de Pedras	0,315
Praia de Ponta de Pedras, Naufrágio Servemar X	0,178
Praia de Ponta de Pedras, Estuário do Rio Formoso	0,134
Praia de Porto de Suape, Naufrágio Servemar X	0,117
Praia de Ponta de Pedras, Praia de Porto de Suape	0,105
Praia de Ponta de Pedras, Estuário do Rio Itapessoca	0,102
Naufrágio Taurus, Estuário do Rio Formoso	0,087
Praia de Porto de Suape, Estuário do Rio Formoso	0,081
Naufrágio Taurus, Praia de Porto de Suape	0,078
Praia de Ponta de Pedras, Naufrágio Taurus	0,067
Naufrágio Taurus, Naufrágio Servemar X	0,065
Estuário do Rio Itapessoca, Naufrágio Taurus	0,048
Estuário do Rio Itapessoca, Porto de Suape	0,048
Estuário do Rio Itapessoca, Naufrágio Servemar X	0,027
Estuário do Rio Itapessoca, Estuário do Rio Formoso	0,005
Naufrágio Servemar X, Estuário do Rio Formoso	-0.086

Análises genéticas

Sequências (574 pb) do gene mitocondrial ND2 foram obtidas para 163 indivíduos de *Carijoa riisei* a partir de sete locais de estudo, abrangendo diferentes ambientes da costa de Pernambuco (Tabela 1). A análise das 163 sequências revelou um total de sete haplótipos. Os haplótipos 1, 2 e 3 são compartilhados por todas as populações, com exceção da Praia de Ponta de Pedras que não apresentou o haplótipo 1 (Tabela 4, Fig 5). Haplótipos exclusivos foram observados no naufrágio Taurus e na Praia de Porto de Suape (Tabela 4, Fig 5). Quando a análise foi realizada por ambiente, observou-se um padrão semelhante de distribuição de haplótipos. Os ambientes de recife costeiro e de naufrágio apresentaram haplótipos exclusivos e o mesmo número de haplótipos (n = 5), foi maior do que aquele observado para o ambiente estuarino (n = 3) (Tabela 5, Fig 6).

Tabela 4 Distribuição dos haplótipos de *Carijoa riisei* em Pernambuco (Brasil) pela análise do gene ND2. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos por localidade; naufrágios Servemar X (NS) e Taurus (NT); recifes costeiros das praias de Ponta de Pedras (PP), Porto de Galinhas (PG) e Porto de Suape (PS); e estuários dos rios Formoso (RF) e Itapessoca (RI)

Localidade	**H_1**	**H_2**	**H_3**	**H_4**	**H_5**	**H_6**	**H_7**	**N**	**N**
PG	5	8	11					24	3
PS	4	6	12	1	1			24	5
PP		8	18					26	2
NT	3	8	11			1	1	24	5
NS	3	10	8					21	3
RF	1	7	12					20	3
RI	1	8	15					24	3
Total	**17**	**55**	**87**	**1**	**1**	**1**	**1**	**163**	

Tabela 5 Distribuição dos haplótipos de *Carijoa riisei* em diferentes ambientes de Pernambuco (Brasil) pela análise do gene ND2. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos por ambiente

Ambiente	**H_1**	**H_2**	**H_3**	**H_4**	**H_5**	**H_6**	**H_7**	**N**	**N**
Recife costeiro	9	22	41	1	1			74	5
Naufrágio	6	18	27			1	1	45	5
Estuário	2	15	19					44	3
Total	**17**	**55**	**87**	**1**	**1**	**1**	**1**	**163**	

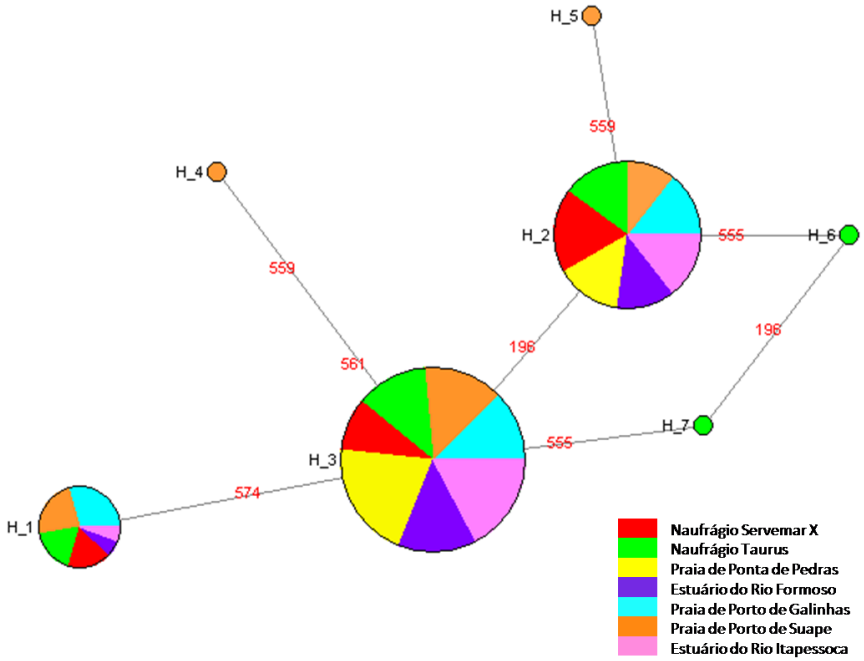

Fig 5 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência dos haplótipos

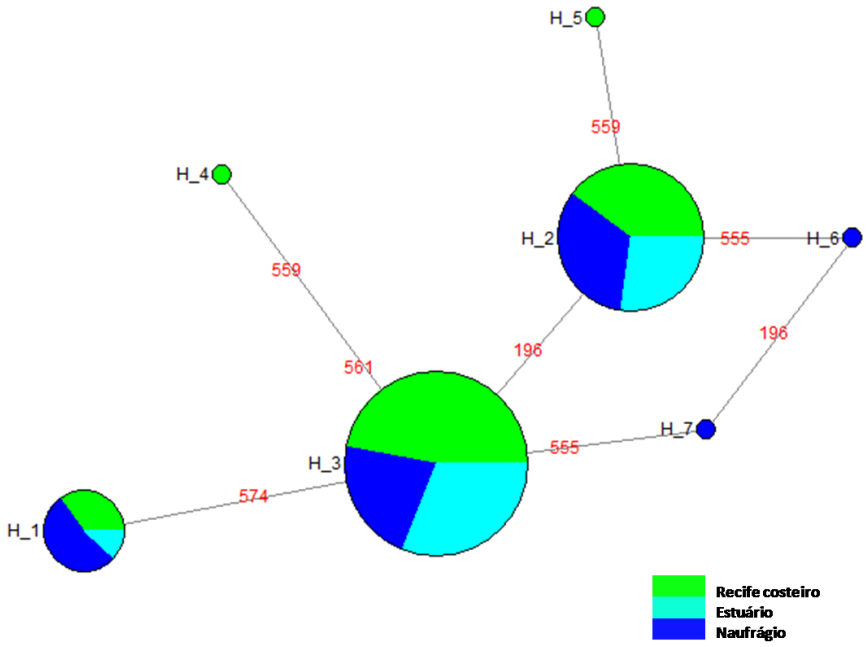

Fig 6 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência do haplótipos

A AMOVA global mostrou que 101,8% da variação está dentro das populações analisadas, revelando o ϕ_{ST} = -0.010 (p> 0.6) e entre os diferentes ambientes o ϕ_{CT}= -0.009 (p> 0.6). O fluxo gênico global estimado foi de Nm=17,33 migrantes por geração em *C. riisei* de Pernambuco.

Discussão

Os resultados deste trabalho mostraram que os caracteres morfológicos em *C. riisei* sofrem grande influência das condições ambientais. Dos 11 caracteres analisados, 10 apresentaram variação morfológica quando comparadas as localidades estudadas. Houve variação entre colônias de ambientes diferentes e entre populações diferentes dentro de um mesmo tipo de ambiente. Quando a comparação foi realizada dentro de um determinado ambiente, a menor variação morfológica entre as populações foi observada nos estuários, em seguida, vêm às populações dos naufrágios. E por fim, a maior diferenciação morfológica ocorreu entre as populações dos recifes costeiros. Caracteres relacionados à estrutura da colônia e dos pólipos em octocorais apresentam grande variação em colônias expostas a diferentes condições (Kim et al. 2004; Gutiérrez-Rodríguez et al. 2009).

A praia de Porto de Galinhas apresentou maior diferenciação morfológica em relação a todas as demais localidades. De forma geral, as colônias de Porto de Galinhas atingiram as maiores médias (altura do pólipo axial, grau de ramificação, espessura basal do pólipo axial, peso úmido, número total de pólipos e diâmetro dos pólipos) e foram mais robustas. Quando comparada aos outros recifes costeiros, se diferenciou em todos os caracteres morfológicos, com exceção da densidade dos pólipos. Apesar da população de Porto de Galinhas habitar um recife costeiro, as colônias encontravam-se no interior de uma caverna, protegidas da ação das ondas e correntes, diferentemente das outras praias.

Isto pode explicar as diferenças encontradas. Segundo Prada et al. (2008), os ambientes profundos do interior e ao redor dos recifes diferem significativamente dos ambientes dos recifes exteriores. As populações dos estuários se mostraram mais estáveis e mais próximas entre si quando comparadas aos outros ambientes, variando morfologicamente apenas quanto ao tamanho do esclerito do cenênquima dos ramos. Populações sujeitas a ambientes que sofrem grande variação das condições do meio, tornam-se adaptadas a suportar a variação e, portanto, são mais estáveis (Leão et al. 2008; Poggio et al. 2009). Os estuários são ambientes que, naturalmente, sofrem grandes modificações ao longo de um mesmo dia (Gibson 2003) e isso pode justificar a estabilidade das populações de *C. riisei* nesses locais. Entre os naufrágios, as duas populações também se mostraram bem parecidas, com diferenças apenas no tamanho dos escleritos do cenênquima do pólipo axial e dos ramos, e no diâmetro dos pólipos. As duas populações estudadas estão localizadas próximas entre si (os naufrágios distam 6,14 km), em profundidades semelhantes (23 e 24 m) e, portanto, expostas as mesmas condições ambientais, justificando as semelhanças.

A variacão morfológica em cnidários está normalmente associada as condições ambientais de luminosidade (Graus e MacIntyre 1982; Yoshioka e Yoshioka 1989; West et al. 1993; West 1997; Muko et al. 2000; Prada et al. 2008), movimento da água (Velimirov 1976; Weerdt 1981; 1984; Yoshioka e Yoshioka 1989; Lesser et al. 1994; Bruno e Edmunds 1997; Oliveira et al. 2000; Meroz-Fine et al. 2003; Prada et al. 2008), presença de predadores (Skoufas 2006; Prada et al. 2008), profundidade (Bosscher e Meesters 1992; Beltran-Torres e Carricart-Ganivet 1993; Prada et al. 2008) e recursos alimentares (Kim et al. 2004; Prada et al. 2008).

A luz é um dos recursos mais importantes para os corais escleractíneos e a maioria dos octocorais, uma vez que dependem de algas simbióticas, zooxantelas, para uma grande parte do seu consumo de energia (Muscatine 1967; 1969). Porém, para *C. riisei*, um

octocoral azooxantelado, a luminosidade não parece ser uma variável ambiental tão valorosa assim, pois podem ser encontrado em profundidades de até 40 m (Kahng e Grigg 2005). Neste estudo, a espécie esteve presente, geralmente, em habitats sombreados, o que também foi observado por outros autores (Kahng e Grigg 2005; Amaral et al. 2009/2010; Castro et al. 2010; Lira et al. 2010; Padmakumar et al. 2011).

Os caracteres associados ao tamanho e ramificação das colônias, normalmente, são maiores em locais com menor ação de ondas e correntes nos recifes costeiros (Grigg 1972; Velimirov 1976; West et al. 1993; Oliveira et al. 2000; Kim et al. 2004). Isso foi corroborado para todos os caracteres morfológicos, que apresentaram as maiores médias em Porto de Galinhas, população de recife mais protegida, localizada em uma caverna. A exceção é o parâmetro de espessura basal do pólipo axial, que são mais grossos onde a ação das ondas é maior em alcionáceos (Grigg 1972; Velimirov 1976; West et al. 1993; Kim et al. 2004). Porém, apesar da população estudada da praia de Porto de Galinhas estar mais protegida da exposição direta das ondas, diferentemente dos outros recifes costeiros estudados, foi a população que apresentou a maior média de espessura basal do pólipo axial, provavelmente devido à robustez da sua colônia e consequente necessidade de um maior suporte para sua sustentação.

Os escleritos, caracteres microanatômicos, apesar de serem usados na taxonomia, apresentaram grande variação no tamanho entre os diferentes locais e populações. A plasticidade dos escleritos tem sido correlacionada com as diferenças no movimento da água e da luz (West et al. 1993; Kim et al. 2004), bem como na defesa contra predação das colônias (Skoufas 2006). Em termos de diferenças de habitat, Prada et al. (2008) sugerem que escleritos de gorgônias com menores comprimentos em áreas de grande movimento de água favorecem a rigidez da colônia, evitando a sua ruptura. Esta observação foi corroborada em nosso trabalho, onde as menores médias em comprimento do esclerito do

cenênquima do pólipo axial foram registradas em Porto de Suape e Ponta de Pedras, recifes costeiros que sofrem a ação das ondas. Por outro lado, os ambientes menos influenciados pela movimentação da água (Porto de Galinhas e naufrágios), apresentaram este mesmo grupo de escleritos com médias maiores. Foram verificados escleritos com maiores médias nos locais da colônia que ficam mais expostos ao meio (cenênquima e pólipos laterais dos ramos que brotam a partir do pólipo axial), o que pode ser uma estratégia para evitar a predação. Segundo Skoufas (2006), com o aumento do tamanho dos escleritos, gorgônias tornam-se menos palatáveis para predadores como *Cypfoma gibbosium* (Linnaeus 1758) em águas tropicais e *Simnia spelta* (Linnaeus 1758) no mar Mediterrâneo (Van Alstyne e Paul 1992; West et al. 1993; West 1998).

Nosso estudo observou uma variação significativa nos comprimentos dos escleritos entre as localidades, demonstrando não ser um caractere útil para a taxonomia deste táxon. De fato, Concepcion et al. (2008) analisaram amostras de *C. riisei* coletadas nas ilhas principais do Havaí, no Oceano Pacífico, Oceano Índico e em ambos os lados do Atlântico tropical e concluiram que a identificação taxonômica de *Carijoa* spp. não é possível com base no exame morfológico de escleritos.

Uma diminuição na densidade dos pólipos em função da profundidade é observada em octocorais (West et al. 1993; Kim et al. 2004) e em corais escleractínios (Wijsman-Best 1974; Davies 1977; Lasker 1981; Oliver et al. 1983). Esta diminuição pode ser devida a uma redução na disponibilidade de recursos alimentares em maiores profundidades (Kim e Lasker 1997) ou pode ser simplesmente o resultado de mudanças diferenciais nas taxas de crescimento (por exemplo, taxas de formação de pólipo e extensão do ramo) (Kim et al. 2004). De fato, as menores médias no caractere morfológico de densidade dos pólipos encontradas em *C. riisei* neste trabalho ocorreram nos naufrágios, mas não se observou diferenças significativas quando comparadas as outras localidades menos profundas. Este

caractere morfológico foi o único que se apresentou de forma estável em todas as populações dos diferentes ambientes estudados, com médias variando entre 5,68 a 6,7 pólipos/cm de colônia. Diante disso, sugerimos que este caractere morfológico seja considerado um caráter estável entre os indivíduos, útil para a taxonomia. Segundo Concepcion et al. (2008; 2010), este gênero ainda necessita de uma maior avaliação taxonômica.

As diferenças morfológicas podem ser uma resposta a fatores ambientais, mas também podem ser atribuídos ao acúmulo de diferenças genéticas devido à interrupção do fluxo gênico entre as populações (Prada et al. 2008).

Os dados genéticos obtidos mostraram que *Carijoa riisei* não apresentou diferenciação genética entre as populações estudadas e exibiu um alto fluxo gênico. Tais resultados sugerem que a espécie em Pernambuco constitui uma única população panmítica.

A distribuição dos sete haplótipos de *C. riisei* nos diferentes ambientes de Pernambuco indica que os recifes costeiros e naufrágios são ambientes que retém uma maior diversidade genética quando comparados ao ambiente estuarino, pois além de apresentarem um maior número de haplótipos, também possuem haplótipos exclusivos. Todavia, a menor diversidade genética encontrada no ambiente estuarino pode estar relacionada ao efeito fundador, uma vez que, foi constatado o desaparecimento das colônias anteriormente à amostragem para os estudos genéticos. Já durante o período desse estudo observou-se a recolonização das populações nos ambientes estuarinos. Os estuários são ambientes que, naturalmente, sofrem grandes modificações ao longo de um mesmo dia (Gibson 2003). No ambiente aquático marinho alguns exemplos da ocorrência e efeitos fundadores vêm sendo observados na natureza (Planes e Lecaillon 1998; Hamner et al. 2007; Wörheide et al. 2008). Assim, as características específicas do ambiente de estuário

analisado podem reprimir o estabelecimento de uma população em tempo suficiente para que ocorra uma expansão populacional em termos de novas variações genéticas. Tais hipóteses explicariam a baixa variabilidade genética e mofológica.

A determinação do fenótipo de um indivíduo ocorre da interação entre seu genótipo e o ambiente (Templeton 2006) e, ao longo do processo evolutivo, variações morfológicas podem ser fixadas nas populações devido à influência do ambiente, antes que ocorram variações genéticas significativas entre essas populações (Schwander e Leimar 2011). *Carijoa rissei* aqui estudada em uma pequena escala espacial abrangendo diferentes ambientes (naufrágio, estuário e recife costeiro) distribuídos entre 6-125 km da costa de Pernambuco caracterizou-se como uma população panmítica. Diversos casos semelhantes para invertebrados marinhos (e.g. Veliz et al. 2006; Andrade e Solferini 2007; Untersee e Pechenik 2007; Iannotta et al. 2009; Marino et al. 2010; Ragioneri et al. 2010) sugerem a possibilidade de que as populações locais são capazes de se adaptar a ambientes heterogêneos devido ao contínuo fluxo de genes. Evidências também existem para populações panmíticas de alguns corais que liberam gametas ao longo de centenas de quilômetros (Ayre et al. 1997; Ayre e Hughes 2000; Ridgway et al. 2001; Marquez et al. 2002; Ng e Morton 2003; Takabayashi et al. 2003). Descobertas de Underwood et al. (2009) sugerem que, embora muitos recifes de corais são geneticamente diferenciados, panmixia pode ocorrer em escalas de dezenas de quilômetros ou menos.

A análise de variância molecular indicou que não há diferenciação genética significativa entre os indivíduos de *C. riisei* das localidades e ambientes amostrados. Este dado é corroborado pelo alto fluxo gênico histórico encontrado para a espécie em Pernambuco. Assim a alta variabilidade morfológica de *C. riisei* encontrada neste estudo é devido à plasticidade fenotípica em resposta a mudanças ambientais, e não ao acúmulo de diferenças genéticas devido à interrupção do fluxo gênico entre as populações.

Agradecimentos

A Henrique Maranhão por ter auxiliado nas coletas nos naufrágios e a FACEPE – Fundação de Apoio a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pela bolsa de Doutorado de TM Barbosa. Este estudo foi financiado pelo CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Edital PROTAX 2010 - 562320/2010-5) e pela FACEPE - Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (APQ-0828-2.04/12).

Referências

Amaral FD, Farrapeira CMR, Lira SMA, Ramos CAC (2009/2010) Benthic macrofauna inventory of two shipwrecks from Pernambuco coast, northeastern of Brazil. Rev Nord Zool 4: 24–41

Andrade SCS, Solferini VN (2007) Fine-scale genetic structure overrides macro-scale structure in a marine snail: nonrandom recruitment, demographic events or selection? Biol J Linn Soc 91: 23–36

Arsenault DJ, Marchinko KB, Palmer R (2001) Precise tuning of barnacle leg length to coastal wave action. Proc R Soc Lond B 268: 2149–2154

Ayre DJ, Hughes TP, Standish RJ (1997) Genetic differentiation, reproductive mode, and gene flow in the brooding coral *Pocillopora damicornis* along the Great Barrier Reef, Australia. Mar Ecol Prog Ser 159:175–187

Ayre DJ, Hughes TP (2000) Genotypic diversity and gene flow in brooding and spawning corals along the Great Barrier Reef, Australia. Evolution 54(5): 1590–1605

Baco AR, Cairns SD (2012) Comparing molecular variation to morphological species designations in the deep-sea coral *Narella* reveals new insights into seamount coral ranges. PLoS ONE 7(9): e45555

Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol 16(1): 37-48

Barata C, Baird DJ, Soares AMVM (2001) Phenotypic plasticity in *Daphnia magna* Straus: variable maturation instar as an adaptive response to predation pressure. Oecologia 129: 220–227

Barbosa TM, Gomes PB, Bergeron A-S, Santos AM, Chagas C, Freitas SEM, Perez CD (2014) Comparisons of sexual reproduction in *Carijoa riisei* (Cnidaria, Alcyonacea) in South Atlantic, Caribbean, and Pacific areas. Hydrobiologia 734:201–212

Bayer F (1961) The shallow-water Octocorallia of the West Indian Region. A manual for marine biologists. Martinus Nijhoff, The Hague, p373

Beltran-Torres AU, Carricart-Ganivet JP (1993) Skeletal morphologic variation in *Montastrea cavernosa* (Cnidaria, Scleractinia) at Isla Verde coral reef, Veracruz, Mexico. Rev Biol Trop 41(3A): 559–562

Bosscher H, Meesters EH (1992) Depth related changes in the growth rate of *Montastrea annularis*. Proc 7th Intl Coral Reef Symp 1:5 07–512

Brazeau DA, Harvell CD (1994) Genetic structure of local populations and divergence between growth forms in a clonal invertebrate, the Caribbean octocoral *Briareum asbestinum*. Mar Biol 119: 53-60

Bruno JF, Edmunds PJ (1997) Clonal variation for phenotypic plasticity in the coral *Madracis mirabilis*. Ecology 78: 2177–2190

Callaway RM, Pennings SC, Richards CL (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. Ecology 84: 1115-1128

Castro CB, Medeiros MS, Loiola LL (2010) Octocorallia (Cnidadria: Anthozoa) from Brazilian reefs. J Nat Hist 44: 763-827

Clarke KR, Warwick RM (2001) Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd ed., PRIMER-E, Plymouth, UK, p169

Concepcion G, Medina M, Toonen R (2006) Noncoding mitochondrial loci for corals. Mol Ecol Notes 6:1208–1211

Concepcion GT, Crepeau MW, Wagner D, Kahng SE, Toonen RJ (2008) An alternative to ITS, a hypervariable, single-copy nuclear intron in corals, and its use in detecting cryptic species within the octocoral genus *Carijoa*. Coral Reefs 27: 323–336

Concepcion, GT, Kahng SE, Crepeau MW, Franklin EC, Coles SL, Toonen RJ (2010) Resolving natural ranges and marine invasions in a globally distributed octocoral (genus *Carijoa*). Mar Ecol Prog Ser 401:113–127

Davies PS (1977) Carbon budgets and vertical zonation of Atlantic reef corals. Proc 3rd Intl Coral Reef Symp 1: 391–396

Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131:479-491

Excoffier L, Lischer HE (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mol Ecol Res, 10(3), 564-567

Fuzeto AP, Lomônaco C (2000) Potencial Plástico de *Cabralea canjerana* subsp. *polytricha* (Adr. Juss.) Penn. (Meliaceae) e seu papel na formação de ecótipos em áreas de cerrado e vereda, Urbelândia, MG. Rev Bras Bot 23: 169-176

Gibson RN (2003) Go with the flow: tidal migration in marine animals. Hydrobiologia 503: 153-161

Gomes PB, Lira AKF, Naud J-P, Santos AM, Perez CD (2012) Prey selectivity of the octocoral *Carijoa riisei* at Pernambuco, Brazil. An Acad Bras Ciênc 84: 157–164

Graus RR, MacIntyre IG (1982) Variation in the growth forms of the reef coral *Montastrea annularis* (Ellis and Solander): a quantitative evaluation of growth response to light distribution using computer simulation. Mar Sci 12: 441–464

Grigg RW (1972) Orientation and growth form of sea fans. Limnol Oceanogr 17: 185–192

Grigg RW (2003) Invasion of a deep water coral bed by an alien species, *Carijoa riisei*. Coral Reefs 22: 121–122

Gutiérrez-Rodríguez C, Barbeitos MS, Sánchez JÁ, Lasker HR (2009) Phylogeography and morphological variation of the branching octocoral *Pseudopterogorgia elisabethae*. Mol. Phylogenet Evol 50: 1–15

Hall T (1999) Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp Ser 41: 95-98

Iannotta MA, Toscano F, Patti FP (2009) Nassarius corniculus (Olivi, 1792) (Caenogastropoda: Nassariidae): a model of environmental complexity of Italian brackish and marine habitats. Mar Ecol 30:106–115

Inoue K, Mcqueen AL, Harris JL, Berg DJ (2014) Molecular phylogenetics and morphological variation reveal recent speciation in freshwater mussels of the genera Arcidens and Arkansia (Bivalvia: Unionidae). Biol J Linnean Soc 112: 535-545

Kahng SE, Grigg RW (2005) Impact of an alien octocoral, *Carijoa riisei*, on black corals in Hawaii. Coral Reefs 24:556–562

Kahng SE, Kelley C (2007) Vertical zonation of habitat forming benthic species on the deep reef (60–150 m) in the Au'au Channel, Hawaii. Coral Reefs 26: 679–687

Kahng SE, Benayahu Y, Wagner D, Rothe N (2008) Sexual reproduction in the invasive octocoral *Carijoa riisei* in Hawaii. Bull Mar Sci 82:1–17

Kim E, Lasker HR, Coffroth MA, Kim K (2004) Morphological and genetic variation across reef habitats in a broadcast-spawning octocoral. Hydrobiologia 530/531: 423–432

Kim K, Lasker HR (1997) Flow-mediated competition among suspension feeding gorgonians. J Exp Mar Biol Ecol 215: 49-64

Kuiper D, Kuiper PJC (1988) Phenotypic plasticity in a physiological perspective. Oecologia 9: 43-59

Lasker HR (1981) Phenotypic variation in the coral *Montastrea cavernosa* and its effects on colony energetics. Biol Bull 160: 292–302

Leão ZMAN, Kikuchi RKP, Oliveira MDM (2008) Branqueamento de corais nos recifes da Bahia e sua relação com eventos de anomalias térmicas nas águas superficiais do oceano. Biota Neotrop 8(3): 069-082

Lesser MP, Weis VM, Patterson MR, Jokiel PL (1994) Effects of morphology and water motion on carbon delivery and productivity in the reef coral, *Pocillopora-damicornis* (Linnaeus) - diffusion-barriers, inorganic carbon limitation, and biochemical plasticity. J Exp Mar Biol Ecol 178: 153–179

Lira AK, Naud J-P, Gomes PB, Santos AM, Perez CD (2009) Trophic ecology of the octocoral *Carijoa riisei* from littoral of Pernambuco, Brazil. I. Composition and spatio-temporal variation of the diet. J Mar Biol Ass UK 89: 89–99

Lira SMA, Farrapeira CMR, Amaral FMD, Ramos CAC (2010) Sessile and sedentary macrofauna from the Pirapama Shipwreck, Pernambuco, Brazil. Biota Neotrop 10(4): 155-165

Mardia KV, Kent JT, Bibby JM (1980) Multivariate Analysis. Academic Press, p521

Marino IAM, Barbisan F, Gennari M, Giomi F, Beltramini M, Bisol PM, Zane L (2010) Genetic heterogeneity in populations of the Mediterranean shore crab, Carcinus aestuarii (Decapoda, Portunidae), from the Venice Lagoon. Estuar Coast Shelf Sci 87:135–144

Marques AC, Klôh AS, Migotto AE, Cabral AC, Rigo APR, Bettim AL, Razzolini EL, Cascon HM, Bardi1 J, Kremer LP, Vieira LM, Bezerra LEA, Haddad MA, Filho RRO, Gutierre SMM, Miranda TP, Jr WF, Rocha RM (2013) Rapid assessment survey for exotic benthic species in the São Sebastião. Channel, Brazil. Lat Am J Aquat Res 41(2): 265-285

Marquez LM, Van Oppen MJH, Willis BL, Miller DJ (2002) Sympatric population sof the highly cross-fertile coral species *Acropora hyacinthus* and *Acropora cytherea* are genetically distinct. Sci 269: 1289–1294

McFadden CS, Tullis LD, Hutchinson MB, Winner K, Sohm JA (2004) Variation in coding (NADH dehydrogenase subunits 2, 3, and 6) and noncoding intergenic spacer regions of the mitochondrial genome in Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa). Mar Biotechnol 6:516–526

Medeiros C, Macedo SJ, Feitosa FAN, Koening ML (1999) Hydrography and phytoplankton biomass and abundance of North-East Brazilian waters. Arch Fish Mar Res 47: 133-151

Meroz-Fine E, Brickner I, Loya Y, Ilan M (2003) The hydrozoan coral *Millepora dichotoma*: speciation or phenotypic plasticity? Mar Biol 143: 1175–1183

Muko S, Kawasaki K, Sakai K, Takasu F, Shigesada N (2000) Morphological plasticity in the coral *Porites sillimaniani* and its adaptive significance. Bull Mar Sci 66: 225–239

Muscatine L, Cernichiari E (1969) Assimilation of photosynthetic products of zooxanthellae by a reef coral. Biol Bull 137: 506–523

Muscatine L (1967) Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and *Tridacna* and its control by the host. Science 156: 516–519

Ng W, Morton B (2003) Genetic structure of the scleractinian coral Platygyra sinensis inHong Kong. Mar Biol 143: 963–968

Neves BM, Lima EJB e Perez CD (2007) Brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) associated with the octocoral *Carijoa riisei* (Cnidaria: Anthozoa) from the littoral of Pernambuco, Brazil. J Mar Biol Assoc UK 87:1263–1267

Oliveira OMP, Marques AC, Migotto AE (2000) Morphometric patterns of two fouling *Eudendrium spp.* (Hydrozoa, Anthomedusae, Eudendriidae) from São Sebastião (SP, SE Brazil). Braz Arch Biol Technol 43: 519-526

Oliver JK, Chalker BE e Dunlap WC (1983) Bathymetric adaptations of reef-building corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. I. Long-term growth responses of *Acropora formosa* (Dana 1846). J Exp Mar Biol Ecol 73: 11–35

Padmakumar KR, Chandran JS, Yogesh K, Sornaraj R (2011) *Carijoa riisei* (Cnidaria : Octocorallia : Clavulariidae), a newly observed threat to Gulf of Mannar coral biodiversity? Current Sci 100(1): 35-37

Planes S, Lecaillon G (1998) Consequences of the founder effect in the genetic structure of introduced island coral reef fish populations. 63(4): 537–552

Poggio C, Leão Z, Mafalda-Junior P (2009). Registro de branqueamento sazonal em *Siderastrea* spp. em poças intermareis do recife de guarajuba, Bahia, Brasil. Interciencia 34(7): 502-506

Prada C, Schizas NV, PM Yoshioka (2008) Phenotypic plasticity or speciation? A case from a clonal marine Organism. Evol Biol 8:47

Ragioneri L, Cannicci S, Schubart CD, Fratini S (2010) Gene flow and demographic history of the mangrove crab *Neosarmatium meinerti*: a case study from the western Indian Ocean. Estuar Coast Shelf Sci 86:179–188

Ridgway T, Hoegh-Guldberg O, Ayre DJ (2001) Panmixiain *Pocillopora verrucosa* from South Africa. Mar Biol 139: 175–181

Rozas J, Sánchez-DeI, Barrio JC, Messegyer X, Rozas R (2003) Dnasp: DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19, 2496–2497

Schwander T, Leimar O (2011) Genes as leaders and followers in evolution. Trends in Ecol Evol 26(3): 143 – 151

Sanchez JA, McFadden CS, France SC, Lasker HR (2003) Molecular phylogenetic analyses of shallow-water Caribbean octocorals. Mar Biol 142:975–987

Santos DC, Hazin FV, Fisher AF, Feitosa FN, Araújo ME (2008) The creation of a shipwreck park off the coast of Pernambuco, Brazil. Rev Bras Enga Pesca 3(1): 91-97

Silva AP, Neumann-Leitão S, Schwamborn R, Gusmão LMO, Silva TA (2004) Mesozooplankton of an impacted bay in North Eastern Brazil. Braz Arch Biol Technol 47: 485-493

Skoufas G (2006) Comparative biometry of *Eunicella singularis* (gorgonian) sclerites at East Mediterranean Sea (North Aegean Sea, Greece)**.** Mar Biol 149**:** 1365-1370

Souza JRB, Rodrigues HA, Neves BM, Pérez CD (2007) First report of bristleworm predator of the reef octocoral *Carijoa riisei*. Coral Reefs 26: 1033

Sultan SE (2000) Phenotypic plasticity for plant development, funcion and life history. Trends Plant Sci 5: 537-542

Takabayashi M, Carter DA, Lopez JV, Hoegh-Guldberg O (2003) Genetic variation of the scleractinian coral Stylophora pistillata, from western Pacific reefs. Coral Reefs 22: 17–22

Templeton AR (2006) Population genetics and microevolutionary theory. John Wiley e Sons, Inc

Todd PA, Sanderson PG, Chou LM (2001) Morphological variation in the polyps of the scleractinian coral *Favia speciosa* (Dana) around Singapore. Hydrobiologia 444: 227–235

Underwood JN, Smith LD, Van Oppen MJH, Gilmour JP (2009) Ecologically relevant dispersal of corals on isolated reefs: implications for managing resilience. Ecological Applications 19: 18–29

Untersee S, Pechenik JA (2007) Local adaptati on and maternal effects in two species of marine gastropod (genus Crepidula) that differ in dispersal potential. Mar Ecol Prog Ser 347:79–85

Van Alstyne KL, Paul VJ (1992) Chemical and structural defenses in the sea fan *Gorgonia ventalina*: effects against generalist and specialist predators. Coral Reefs 11: 155–159

Velimirov B (1976) Variations in growth forms of *Eunicella cavolinii* Koch (Octocorallia) related to intensity of water movement. J Exp Mar Biol Ecol 21: 109–117

Véliz D, Duchesne P, Bourget E, Bernatchez L (2006) Stable genetic polymorphism in heterogeneous environments: balance asymmetrical dispersal and selection in the acorn barnacle. J Evol Biol 19:589–599

Weerdt WH (1981) Transplantation experiments with Caribbean *Millepora* species (Hydrozoa, Coelenterata), including some ecological observations on growth forms. Bijdr Dierkd 51:1–19

Weerdt WH (1984) Taxonomic characters in Caribbean *Millepora* species (Hydrozoa, Coelenterata) including some ecological observations on growth forms. Bijdr Dierkd 54:243–362

West JM (1997) Plasticity in the sclerites of a gorgonian coral: tests of water motion, light level, and damage cues. Biol Bull 192: 279–289

West JM (1998) The dual role of sclerites in a gorgonian coral: conflicting functions of support and defense. Evol Ecol Res 12(7): 803–821

West JM, Harvell CD, Walls AM (1993) Morphological plasticity in a gorgonian coral (*Briareum asbestinum*) over a depth cline. Mar Ecol Prog Ser 94**:** 61-69

Wijsman-Best M (1974) Habitat-induced modification of reef corals (Favidae) and its consequences for taxonomy. Proc 2nd Interl Coral Reef Symp 2: 217–228

Wörheide G, Epp LS, Macis L (2008) Deep genetic divergences among Indo-Pacifi**c** populations of the coral reef sponge Leucetta chagosensis (Leucettidae): Founder effects, vicariance, or both? BMC Evol Biol 8:24

Yoshioka PM, Yoshioka BB (1989) Effects of wave energy, topographic relief and sediment transport on the distribution of shallow-water gorgonians of Puerto Rico. Coral Reefs 8:145-152

Zar JH (2010) Biostatistical Analysis. (Ed) Prentice Hall. Englewood Cliffs, p960

5. Capítulo II

Embriogênese, desenvolvimento e assentamento larval do octocoral *Carijoa riisei* (Cnidaria, Anthozoa): estudo piloto

Resumo

O octocoral *Carijoa riisei* é um cnidário colonial de rápido crescimento vegetativo que possui uma ampla distribuição geográfica no Oceano Atlântico Sul, Caribe e Indo-Pacífico. A espécie tem reprodução similar no Caribe, Havaí e Brasil com padrão gonocórico e liberação contínua e assíncrona de gametas. No entanto, não é conhecida a contribuição das larvas e gametas na conectividade destas populações. Este trabalho descreve pela primeira vez a embriogênese, desenvolvimento e assentamento larval dessa espécie. Diversas colônias foram coletadas na costa norte de São Paulo, Brasil e mantidas vivas em aquários. Através da observação direta, verificou-se que a liberação dos gametas predominantemente ocorreu na parte da manhã entre 05h00-10h00. A fertilização é externa e os ovos fertilizados têm um diâmetro médio de 403 ± 6,0 µm, apresentando geralmente flutuabilidade positiva. As clivagens são superficiais, o primeiro ciclo de divisão ocorre perto 3h30-5 h após a liberação dos gametas. A divisão citoplasmática é rápida (15-20 min), facilmente visível nas fases de 16 e 32 células. As larvas plânulas são formadas entre 27-36 h após a liberação dos gametas; podem nadar por toda a coluna dágua e atingir 1,8 milímetros de comprimento. Plânulas assentam entre 10-18 dias após a liberação. O pólipo primário é translúcido, e os tentáculos emergem como oito pequenos botões arredondados. Os resultados sugerem que a espécie tende a ter um potencial de dispersão de ampla distância, que aliado ao seu rápido crescimento vegetativo e adaptabilidade a diferentes ecossistemas (recifes costeiros, naufrágios, mangues, estuários, etc.) ajudam a compreender a ampla distribuição mundial deste octocoral.

Palavras-chave: Octocorallia, Alcyonacea, Reprodução, Plânula

Introdução

A biologia reprodutiva de invertebrados marinhos sésseis é um componente-chave da sua ecologia e de seus processos macro-evolutivos (Hughes et al. 1992; Carlon 1999). A reprodução sexual, em particular, implica na dispersão de larvas geneticamente únicas, com papel crucial no ciclo de vida e que garantem a evolução das espécies (Harrison e Wallace 1990; Hughes et al. 1992). Larvas planctônicas servem como um meio de dispersão para muitas espécies de cnidários (Chia 1974; Harrison e Wallace 1990; Leitz 1997; Miller e Ball 2000; Martin e Koss 2002; Nozawa e Harrison 2002; Harrison 2006; Scott e Harrison 2008; Sun et al. 2011; Coelho e Lasker 2014).

Octocorais, cnidários sésseis, são encontrados em habitats marinhos que variam de águas rasas a grandes profundidades e são distribuídos desde o Mar Ártico ao Oceano Antártico (Bayer 1961). Em geral são liberadores de gametas ou incubadores (Brazeau e Lasker 1989, 1990; Benayahu 1991, 1997; Coma et al. 1995; Dahan e Benayahu 1997; Santangelo et al. 2003; Gutierrez-Rodriguez e Lasker 2004; Ribes et al. 2007; Kahng et al. 2011); nas espécies que liberam gametas, o desenvolvimento larval ocorre externamente na coluna d'água; nas espécies incubadoras pode ocorrer no material mucoso aderido à superfície da colônia parental (eg, Farrant 1985; Brazeau e Lasker 1989; Gutierrez-Rodrıguez e Lasker 2004; Ritson Williams 2010) ou por retenção de larvas dentro da cavidade gastrovascular dos pólipos (e.g. Santangelo et al. 2003; Ribes et al. 2007; Coelho e Lasker 2014).

Estratégias reprodutivas diferentes têm sido comumente associadas com diferentes capacidades de dispersão (Goffredo et al. 2004). Reprodutores que liberam gametas tendem a ter larvas que passam períodos mais longos na coluna d´água, antes de assentarem, e, portanto, são mais propensos a ser transportados a distâncias mais longas (Lasker e Kim 1996). Em contraste, as espécies que apresentam incubação interna ou na

superfície do pólipo têm plânulas que podem muitas vezes assentar imediatamente após a liberação da colônia parental (Benayahu e Loya 1983; Farrant 1986; Brazeau e Lasker 1990; Coma et al. 1995), permanecendo um período menor de tempo na água e com pouco potencial para a dispersão. Contudo, para que ocorra a metamorfose de uma larva para pólipo primário, vários fatores precisam ocorrer ao mesmo tempo, como a presença de condições ambientais favoráveis, um habitat adequado e recursos energéticos acessíveis. Caso contrário, a metamorfose da larva pode ser adiada. Este período constitui assim, a fase crítica do desenvolvimento dos octocorais (Ben-David-Zaslow e Benayahu 1998; Gutierrez- Rodriguez e Lasker 2004).

O octocoral *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti 1860) (ordem Alcyonacea, família Clavulariidae) é abundante na costa brasileira, distribuindo-se quase continuamente desde a Flórida (EUA) e região caribenha até Santa Catarina (Brasil) (Bayer 1961; Pérez 2002); com uma distribuição circumtropical mundial, com registros no Havaí, Indo-Pacífico e costa oeste da África (Bayer 1961, Concepcion et al. 2008). Apesar de existir estudos sobre a sua biogeografia, não há consenso quanto ao local de origem da espécie. Estudo recente utilizando técnicas moleculares indicou que a população mais antiga desta espécie parece estar na região do Indo-Pacífico, e a mais jovem na região do Caribe-Atlântico (Concepcion et al. 2010). Este cenário vai contra a visão que se tinha anteriormente de uma espécie nativa do Caribe e invasora na região Indo-Pacífico, principalmente no Havaí (Thomas 1979; Coles e Eldredge 2002; Calcinai et al. 2004; Kahng e Grigg 2005).

Contudo, independente da origem de *C. riisei* e dos processos que levaram à sua introdução ou dispersão sobre uma extensa área geográfica, a espécie demonstra rápida dinâmica populacional, com elevadas taxas de crescimento vegetativo e reprodução sexual contínua (Barbosa et al. 2014); provavelmente, com uma alta produção de larvas (Kahng et

al. 2008). Estas características favoreceriam a sua rápida proliferação em diferentes ecossistemas (Barbosa et al. 2014).

A reprodução sexual de *C. riisei* tem padrões similares no Brasil, no Caribe e no Havaí, com gametogênese assincrônica, liberação e fertilização de gametas na coluna de água de forma contínua ao longo do ano (Bardales 1981 in Kahng 2008; Kahng et al. 2008; Barbosa et al. 2014). Kahng et al. (2008), a fim de verificar diretamente o modo de reprodução da espécie, cultivaram em aquário uma grande colônia fêmea e uma grande colônia macho, porém as tentativas para observar a fecundação externa e o consequente desenvolvimento embrionário e planular foram infrutíferas. Contudo, os autores relataram a observação de pólipos primários recém-assentados dentro do aquário, mas as informações sobre o processo de assentamento não foram descritas.

Em virtude da facilidade de acesso aos gametas maduros de *C. riisei* em qualquer época do ano foi possível relatar pela primeira vez informações sobre a embriogênese, o desenvolvimento e o assentamento larval deste octocoral através de um estudo piloto.

Material e métodos

Área de estudo e amostragem

O presente estudo foi realizado com colônias de *C. riisei* coletadas no Canal de São Sebastião, no Estado de São Paulo, Brasil (entre as latitudes 23°41'S e 23°53.5'S; as longitudes 45°19'W e 45°30'W) que separa a Ilha de São Sebastião do continente adjacente, possuindo um comprimento aproximado de 24 km e estendendo-se na direção SW-NE. Este canal apresenta larguras de 5,8 km na extremidade norte e 6,4 km na extremidade sul, e na região central estreita-se para 2,0 km. A profundidade máxima é de

aproximadamente 45 m. O eixo do canal é deslocado para o lado da Ilha de São Sebastião (Furtado 1995). As correntes no Canal de São Sebastião são movidas por vento, geralmente associadas a frentes frias do Sul (Castro Filho 1990).

Colônias de *C. riisei* foram coletadas nos meses de janeiro e fevereiro de 2015 através de mergulho autônomo ou apneia e mantidas vivas em laboratório situado no Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo. Pólipos foram dissecados com um estereomicroscópio até a determinação das categorias sexuais: macho, fêmea, estéril (sem gônadas) e indefinido (sexo não pôde ser determinado pela análise gonadal); e quando férteis, o grau de desenvolvimento gonadal. Apenas colônias machos e fêmeas em estágio de maturação foram mantidas em até três aquários com água do mar corrente com temperaturas variando de 26 a 28,5 °C, próximas as do ambiente marinho, e monitoradas diariamente quanto à liberação dos gametas. À noite, o monitoramento foi realizado utilizando lanternas.

Cultivo de embriões e larvas

Cerca de 2 horas após o início da liberação dos gametas de *C. riisei*, os ovos fecundados foram transferidos dos aquários para recipientes de cultivo de vidro (1000 ml e 2000 ml) com água do mar filtrada (trocada duas vezes ao dia) e com aeração, para assegurar um saudável desenvolvimento embriogênico e larval. Os embriões e as larvas vivos foram examinados, medidos através de uma escala micrométrica, fotografados e filmados através de microscópio e estereomicroscópio acoplado com filmadora digital.

Ensaios experimentais de assentamento larval

Experimentos foram criados para observar o assentamento larval de *C. riisei* utilizando recipientes de vidro e de plástico (300 ml) contendo água do mar filtrada

(trocada uma vez ao dia) e larvas originadas de 11 dias de liberações de gametas. Em cada recipiente foram cultivadas com até 10 larvas. Foram acrescentados em alguns dos recipientes de cultivo, substrato natural (pedaços de conchas e do pólipo axial do próprio animal) e artificial (plástico de garrafa pet) para propiciar às larvas diferentes condições para o seu assentamento. Os experimentos iniciaram dia 06 de fevereiro e os assentamentos das plânulas e a metamorfose para pólipos primários foram monitorados diariamente durante um mês, através de estereomicroscópio acoplado com filmadora digital.

Resultados

Liberação de gametas

Durante o estudo foram observados 12 dias de liberação de gametas, a partir de colônias coletadas em diferentes dias. Um mesmo conjunto de colônias desovou por até quatro dias consecutivos. A liberação dos gametas ocorreu predominantemente pela manhã entre 05h:00-10h:00. Após a liberação, os ovos não fertilizados estavam sem a camada de células foliculares, revestimento típico dos oócitos maduros. A esfoliação da camada folicular dos cistos espermáticos maduros ocorreu dentro dos pólipos, sendo liberado apenas o esperma, contudo essa liberação não foi observada diretamente. Suspeita-se que ocorra após a liberação dos gametas femininos, pois foi verificado que os pólipos das colônias masculinas se abriam após o início da liberação feminina. Embriões nunca foram encontrados no interior ou na superfície dos pólipos das colônias. A fecundação é externa e provavelmente ocorre logo após a liberação dos gametas. Em apenas um episódio, foi observada a liberação de três oócitos maduros que não foram fertilizados.

Embriologia

Os ovos fecundados de *C. riisei* têm o diâmetro médio de 403± 6.0 μm (n= 50) (Fig 1) e foram, em geral positivamente flutuantes. Os embriões resultantes apresentaram clivagens superficiais cerca de 3h30-5h após a liberação dos gametas. Durante os estágios iniciais da clivagem, o embrião mudou da forma de esférica para com pequenas protuberâncias, no entanto, não era evidente a separação de células na superfície. Blastómeros tenderam a tornarem-se visíveis de um lado do embrião, antes do outro. A divisão citoplasmática foi rápida (15-20 min) e facilmente visível no estágio de 16 ou de 32 células, com blastômeros de tamanhos iguais (Fig 2; A e B). O posterior desenvolvimento resultou na formação de blástulas arredondadas e de embriões com formas assimétricas. Todas as blástulas produziram gástrulas simétricas e redondas. A clivagem encerrou-se com o surgimento de larvas plânulas formadas entre 27-36 h após a liberação de gametas.

Fig 1 Ovo fecundado de *Carijoa riisei* com 400 μm de comprimento

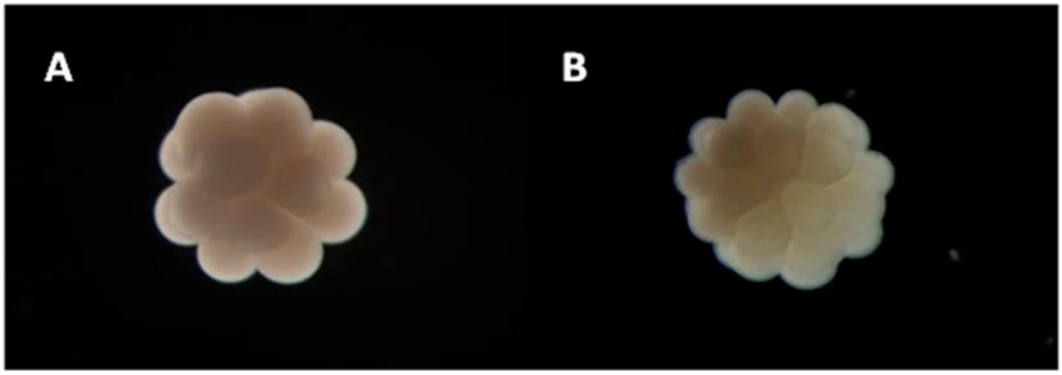

Fig 2 Divisão citoplasmática em embriões do octocoral *Carijoa riisei*: (A) estágio de 16 células com 400 µm de diâmetro; (B) estágio de 32 células com 440 µm de diâmetro

Desenvolvimento larval

As larvas de *C. riisei* nos estágios iniciais foram ciliadas e se apresentaram nas formas arredondada ou piriforme (Fig 3; A e B). Uma reentrância representando a abertura da boca foi observada em plânulas, quando alongadas, no pólo com a extremidade mais larga, que gradualmente afila em direção ao pólo aboral. Ao alongarem-se as larvas atingiram um comprimento máximo de 1,8 mm (Fig 3; C). As larvas apresentam coloração semelhantes em cor aos ovos recém-fertilizados, variando entre bordô/vermelho-acastanhado, a mais claras, como na cor creme. As plânulas tiveram a capacidade de mudar rapidademente a sua forma corporal de arredondada, ou piriforme, para alongada e vice-versa, por contrações do corpo para frente e para trás a partir do pólo oral. Na coluna d'água, as larvas recém-formadas giraram lentamente em torno do eixo oral-aboral; após esse período inicial, passaram a se deslocar com o pólo oral apontando para a frente, resultando em um movimento em espiral do corpo. As rotações das larvas, em geral, foram no sentido horário. Em contato com o subtrato, as larvas apresentam uma locomoção rastejante (o corpo se alonga e encurta no sentido oral) e serpenteante (o corpo realiza ondulação no sentido oral). Quando alongadas se deslocaram em maior velocidade que as

demais formas. As larvas nadaram por toda a coluna d'água, com rajadas de aceleração ou períodos estacionários, que incluíram a fixação temporária nos substratos, demonstrando um possível comportamento de procura antes do assentamento.

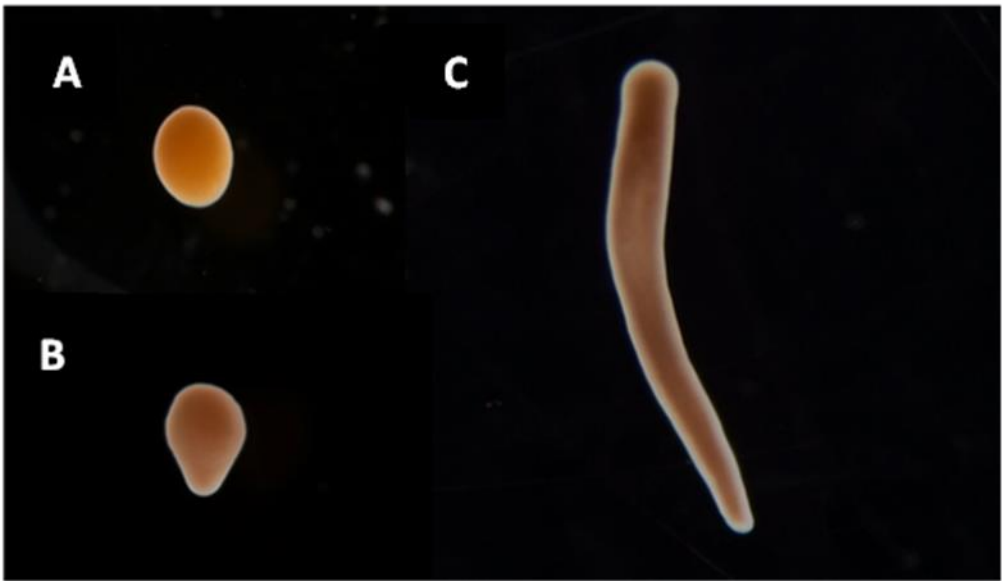

Fig 3 Diferentes estágios larvais do octocoral *Carijoa riisei*: (A e B) Larvas em estágios iniciais com os comprimentos de 480 e 520 µm, respectivamente; (C) Larva com 1,8 mm de comprimento

Assentamento larval

Durante os experimentos, as plânulas de *C. riisei* se assentaram 10-18 dias após a liberação de gametas. Apesar de uma variedade de substratos terem sido disponibilizados, os assentamentos ocorreram na parede interna próprio recipiente de cultivo. Uma vez fixados, contraíram-se ao longo do eixo oral-aboral formando um disco achatado; em seguida, com 36 h, os tentáculos surgiram como oito pequenos botões arredondados antes de se alongarem. O pólipo primário foi semi-transparente e com 48 horas apresentava cerca de 250 µm de altura e 100 µm de diâmetro, e oito pínulas por tentáculo (Fig 4). O período de competência das larvas foi de até 18 dias, para assentar ou morrer.

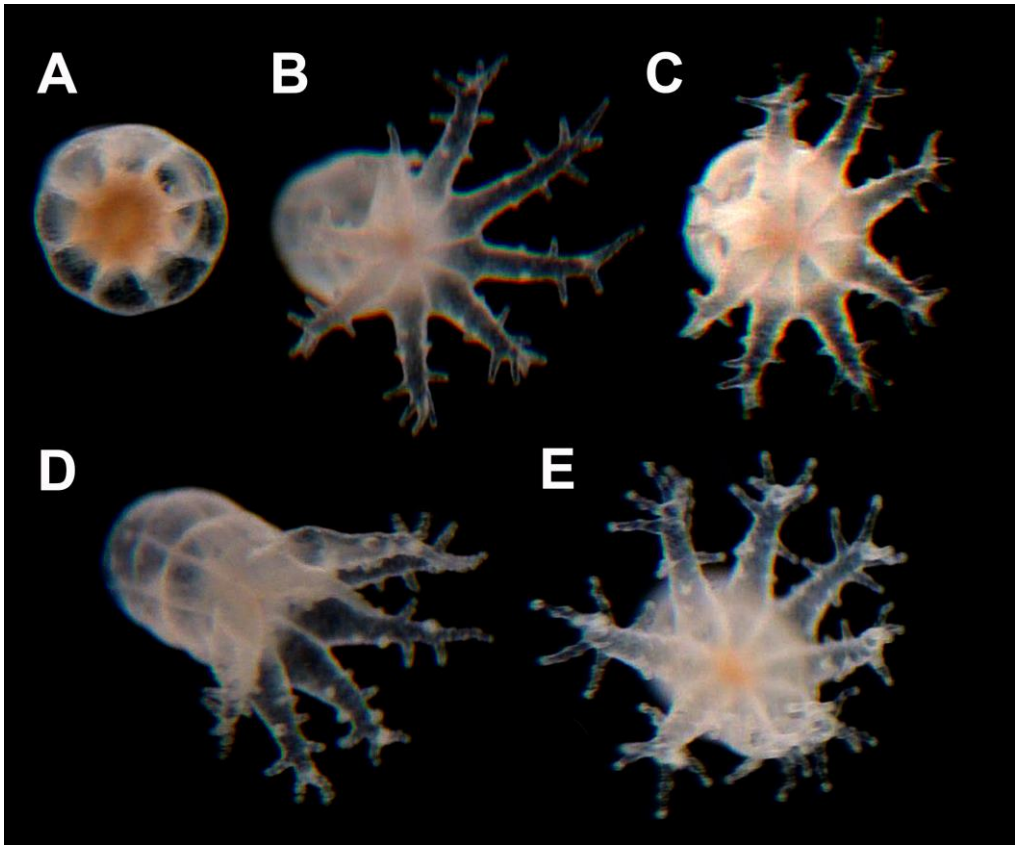

Fig 4 Pólipo primário do octocoral *Carijoa riisei*: (A) Com tentáculos em forma de oito pequenos botões arredondados; (B, C, D, E) Com oito tentáculos pinados com 250 μm de altura e 100 μm de diâmetro

Discussão

Oócitos maduros e esperma de *Carijoa riisei* foram liberados ao mesmo tempo em diferentes aquários e a fertilização foi externa, seguindo o padrão ancestral para o filo Cnidaria (Fautin et al. 1989). A sincronização de ambos os sexos na liberação de produtos sexuais é uma tendência comum entre octocorais liberadores de gametas, permitindo potencializar o sucesso de fertilização (Alino e Coll 1989). Kahng et al. (2008) afirmaram que a liberação de gametas de um sexo não é induzida pelo outro em *C. riisei*, pois presenciou continuamente apenas a liberação de oócitos que não foram fertilizados em aquários no Havaí. É possível que as gônadas da única colônia masculina cultivada pelos pesquisadores não estivessem em estágio de maturação. Neste trabalho, observamos uma

única liberação de três oócitos maduros que não foram fertilizados e atribuído a esse episódio uma provável diluição de esperma na coluna d'água, diminuindo a probabilidade do encontro entre os gametas masculino e feminino.

Para muitas espécies de corais moles, em geral a liberação de gametas ocorre em um curto período reprodutivo com sincronização anual (Yamazato et al. 1981; Benayahu et al. 1990; McFadden 1997; Schleyer 2004; Choi e Song 2007). A liberação de gametas também pode ser assincrônica, embora não seja comum (Gutierrez-Rodriguez e Lasker 2004). Apesar deste estudo ter sido realizado apenas no verão, sabe-se que a liberação assincrônica de gametas ao longo do ano foi registrada para os alcionáceos *C. riisei* e *Dendronephthya hemprichi* (Dahan e Benayahu 1997; Dahan e Benayahu 1998; Kahng et al. 2008; Bardales in Kahng et al. 2008; Barbosa et al. 2014). Ao contrário dos eventos de liberação sincronizados, a contínua liberação de propágulos sexuais permite a *C. riisei* explorar de forma mais eficiente a disponibilidade de substrato e as condições positivas para o recrutamento através do tempo (Kahng et al. 2008).

A clivagem é o primeiro processo morfogenético no desenvolvimento embrionário de *Carijoa riisei*, e ocorre de uma maneira semelhante à de outras espécies de antozoários que têm grandes ovos vitelinados, em que o início das divisões é superficial (Uchida e Yamada 1968; Mergner 1971; Campbell 1974; Fautin et al. 1989; Babcock 1990; Dahan e Benayahu 1998; Goffredo et al. 2005; Scott e Harrison 2007). Uma certa tendência para a clivagem superficial já foi registrada por outro alcionáceo, *Dendronephthya hemprichi*, e tem sido relacionada com o elevado teor de vitelo dos ovos (Mergner 1971).

Os blastômeros de *Carijoa riisei* tenderam a se tornar visíveis em um pólo do ovo, antes do outro, o que também foi observado em outros antozoários que realizam clivagem superficial (Dahan e Benayahu 1998; Scott e Harrison 2007). Gemmill (1921) sugeriu que esta característica pode indicar o lado do núcleo fertilizado. A divisão citoplasmática entre

os blastômeros tornou-se visível na fase 16 ou de 32 células, resultando na formação de células de mesmo tamanho, como também observado na anêmona *Heteractis crispa* (Scott e Harrison 2007). O desenvolvimento a partir da fase de 16 células resultou na formação de uma blástula redonda e de embriões com formas assimétricas. Lasker e Kim (1996) encontraram embriões irregulares e bizarros no alcionáceo *Plexaura kuna* que não conseguiram completar o desenvolvimento normal. Tais formas são parte do desenvolvimento embrionário normal de outros alcionáceos, *Clavularia hamra* (Benayahu 1989), *D. hemprichi* (Dahan e Benayahu 1998) e agora em *C. riisei*. As blástulas produziram gástrulas simétricas e redondas em *C. riisei*, assim como em *C. hamra*, ambas pertencentes a família Clavulariidae (Benayahu 1989), as quais completaram o desenvolvimento em plânulas.

Em octocorais, menos de uma semana é o suficiente para a transição do zigoto para larvas plânulas (Alino e Coll 1989; Babcock 1990; Gutierrez-Rodríguez e Lasker 2004). Benayahu e Loya (1986) revisaram o conhecimento sobre o desenvolvimento planular nos octocorais, e concluíram que o processo é rápido entre octocorais liberadores de gametas, e nos incubadores deste grupo, a embriogênese é prolongada. O desenvolvimento larval do liberador de gametas *Carijoa riisei*, apoia a afirmação de embriogênese rápida (27-36h) neste estudo. Benayahu e Loya (1986) sugeriram que em espécies de octocorais liberadores de gametas, a embriogênese é mais rápida para aumentar a sobrevivência e as chances de um desenvolvimento bem sucedido da colônia, tal que os gametas liberados na coluna d'água estão expostos ao perigo, como a predação ou danos mecânicos. Da mesma forma que Heltzel e Babcock (2002) postularam que os corais fertilizados externamente desenvolvem rapidamente a fase de larva a fim de minimizar o tempo gasto no plâncton e diminuir a mortalidade por facilitar o assentamento mais rápido. Estes autores também

afirmaram que espécies de corais com fertilização interna podem ter períodos maiores de desenvolvimento, porque os embriões e larvas são protegidos pelo coral parental.

As larvas de *C. riisei* apresentaram a capacidade de mudar rapidamente o corpo para diferentes formas e tamanhos, variando de esférica- para parcialmente contraída, forma de pêra - para alongada, forma cilíndrica. Esta plasticidade corporal é um traço comum das larvas de antozoários (Chia e Crawford 1973 para plânulas de penatuláceos; Benayahu e Loya 1983, Farrant 1986, Benayahu 1989, Coelho e Lasker 2014, Sun et al. 2011 para plânulas de alcionáceos; Hand e Uhlinger 1992, Scott e Harrison 2008 para plânulas de actiniários; Gutierrez-Rodriguez e Lasker 2004 para plânulas de gorgonáceos; Weinberg e Weinberg 1979; Ball et al. 2002; Goffredo et al. 2004 e Goffredo et al. 2005 para plânulas de escleractíneos). A mudança na forma e no tamanho de plânulas foi atribuída à contração muscular (Widersten 1968).

A direção do movimento das larvas foi relatada como sendo orientada pelo pólo aboral em alguns antozoários (Atoda 1951; Hartnoll 1977; Goffredo e Zaccanti 2004; Goffredo et al. 2005), e sendo típica para a maioria das plânulas de anêmonas (Gemmill 1920; Widersten 1968;. Chia et al. 1989; Hand e Uhlinger 1992; Scott e Harrison 2008). No caso de *Carijoa riisei*, este estudo observou que o movimento das plânulas tornou-se orientado pelo pólo oral apontando para frente. Chegou-se a esta conclusão pois, durante o desenvolvimento larval, uma reentrância representando a abertura da boca foi observada em plânulas quando alongadas, justamente no pólo que conduzia o deslocamento das larvas. Entre os octocorais, uma abertura bucal no estágio de plânula jovem foi previamente observado no alcionáceo *Parerythropodium fulvum fulvum* (Benayahu e Loya 1983).

Widersten (1968) observou que o movimento de rotação em torno do eixo longitudinal em larvas da anêmona do mar *Metridium senile* foi substituído por

deslizamento lento ao longo do substrato. Movimento de rotação lento nas larvas jovens de outros actiniários *Entacmaea quadricolor* e *H. crispa* foi substituído por um movimento direcional sem giro (Scott e Harrison 2008). As larvas de *C. riisei* também se movimentaram inicialmente através do giro lento, seguido por deslocamento direcional natatório com rotação do corpo em espiral na coluna de água e deslizamento no substrato por movimentos rastejantes e serpenteantes. Outro alcionáceo *Sarcophyton glaucum* exibiu larvas com vários padrões de rotação e natação também em espiral (Benayahu e Loya 1986). Com exceção de *M. senile*, as larvas das demais espécies nadaram ativamente por toda a coluna d'água.

Biologicamente, a distância de dispersão de larvas é determinada pela sua posição na coluna de água e o período de tempo antes de assentar sobre um substrato (período competência). Fisicamente, esta distância é determinada pelas correntes existentes no momento da liberação de gametas e de larvas, e durante a fase de vida planctônica (Morgan 1995; Shanks 1995; Young 1995). Espécies incubadoras liberam plânulas maduras, com tendência a ovos de flutuabilidade negativa e larvas bentônicas, sugerindo um curto período de competência e uma estreita faixa de dispersão (Farrant 1986; Brazeau e Lasker 1990; Harrison e Wallace 1990; Sakai 1997; Hwang e Song, 2007; Weinberg e Weinberg 1979; Gutierrez-Rodriguez e Lasker 2004; Coelho e Lasker 2014; Benayahu et al. 1989; Ben-David-Zaslow e Benayahu 1996). Em contrapartida, espécies que liberam gametas têm, em geral, ovos com flutuabilidade positiva e desenvolvimento de plânulas planctônicas; por isso, têm um período longo de competência e potencial para larga dispersão (Verseveldt 1982; Arai et al. 1993;. Nozawa e Harrison 2000; Scott e Harrison 2008; Sun et al. 2011). *Carijoa riisei* seguiu este padrão, com ovos positivamente flutuantes e larvas que nadam por toda a coluna d'água durante um período de competência de até 18 dias após a liberação de gametas, podendo assentar a partir do décimo dia. O

habitat de *C. riisei* é muitas vezes caracterizado por um elevado fluxo de corrente e turbulência (Kahng et al. 2008), o que também facilita a dispersão das larvas. Aliado a isso, sabe-se que o tempo de competência observado em condições de laboratório pode ser uma subestimação e no seu meio ambiente natural, com as condições físicas e bióticas adequadas, poderia potencializar um maior tempo de vida das larvas que vivem no plâncton (Neves et al. 2008).

O assentamento e a metamorfose de plânulas em pólipos primários são fases cruciais na história de vida de cnidários que liberam gametas, tal como *C. riisei*, e geralmente é precedida por busca larval intensiva e testes em substratos, sugerindo seleção de microhabitat (Fadlallah 1983; Harrison e Wallace 1990). O potencial para a seleção do substrato tem vantagens óbvias em melhorar a sobrevivência pós-metamórfica, e há provas substanciais de que o assentamento não é um processo aleatório (Chia e Bickell 1978; Fautin et al. 1989; Martin e Koss 2002). As larvas cultivadas exibiram um possível comportamento de procura antes do assentamento, através de fixação temporária nos diferentes substratos disponibilizados. É provável que elas estivessem testando o substrato para sinais metamórficos, já que sinais específicos induzindo assentamento e metamorfose pode emanar dos substratos (Morse et al. 1988; Leitz 1997; Heyward e Negri 1999; Negri et al. 2001). A maioria das superfícies sólidas no ambiente marinho são rapidamente colonizadas por bactérias, alguns das quais são conhecidas indutoras do estabelecimento larval (Müller e Leitz 2002). As bactérias, portanto, podem ter colonizado as superfícies dos recipientes de cultivo das larvas tornando-os adequados para o assentamento larval de *C. riisei*.

Os resultados obtidos sugerem que as larvas de *C. riisei* tendem a ter um potencial para dispersão de grande distância, que aliado à sua capacidade de reprodução contínua ao longo do ano e a alta taxa de crescimento vegetativo favorecem a sua rápida proliferação

em diferentes ambientes (recifes costeiros, naufrágios, estuários, etc.) e contribuem para a compreensão da sua ampla distribuição geográfica.

Mais pesquisas são necessárias para determinar com precisão a ultra-estrutura dos embriões de *C. riisei*, bem como a sua longevidade larval através de experimentos mais precisos de competência e assentamento, que em combinação com o estudo de conectividade genética entre suas populações permitirão um maior entendimento das capacidades potenciais de dispersão deste octocoral na natureza.

Agradecimentos

Ao CEBIMar - Centro de Biologia Marinha da Universidade Federal de São Paulo pela infra-estrutura e apoio no desenvolvimento da pesquisa e a FACEPE- Fundação de Apoio a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pela bolsa de Doutorado de T.M. Barbosa. Ao MSc Ralf Cordeiro pela edição das fotos e Thiago Pérez Gomes pela edição dos filmes do material suplementar. Este estudo foi financiado pelo CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Edital PROTAX 2010 - 562320/2010-5) e pela FACEPE - Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (APQ-0828-2.04/12).

Referências

Alino PM, Coll JC (1989) Observations of the synchronized mass spawning and post settlement activity of octocorals on the Great Barrier Reef, Australia: biological aspects. Bull Mar Sci 45: 697−707

Arai T, Kato M, Heyward A, Ikeda Y, Iizuka Y, Murayama T (1993) Lipid composition of positively buoyant eggs of reef building corals. Coral Reefs 12:71-75

Atoda K (1947) The larva and postlarval development of some reef-building corals. I. *Pocillopora damicornis ces - pitosa* (Dana). Sci Rep Tohoku Univ Fourth Ser (Biol) 18: 24-47

Atoda K (1951) The larva and post larval development of the reef building corals. J Morphol 89:1-15

Babcock R (1990) Reproduction and development of the blue coral *Helipora coerulea* (Alcyonaria: Coenothecalia). Mar Biol 104: 475−481

Ball EE, Hayward DC, Reece-Hoyes JS, Hislop NR, Samuel G, Saint R, Harrison PL, Miller DJ (2002) Coral development: from classical embryology to molecular control. Int J Dev Biol 46:671-678

Barbosa TM, Gomes PB, Bergeron A-S, Santos AM, Chagas C, Freitas SEM, Perez CD (2014) Comparisons of sexual reproduction in *Carijoa riisei* (Cnidaria, Alcyonacea) in South Atlantic, Caribbean, and Pacific areas. Hydrobiologia 734:201–212

Bayer F (1961) The shallow-water Octocorallia of the West Indian Region. A manual for marine biologists. Martinus Nijhoff, The Hague, p373

Benayahu Y, Loya Y (1983) Surface brooding in the Red Sea soft coral *Parerythropodium fulvum fulvum* (Forskal, 1775). Biol Bull (Woods Hole) 165:353-369

Benayahu Y, Loya Y (1986) Sexual reproduction of a soft coral: Synchronous and brief annual spawning of *Sacrophyton glaucum* (Quoy and Gaimard, 1833). Biol Bull 170: 32-42

Benayahu Y (1989) Reproductive cycle and developmental processes during embryogenesis of *Clavularia hamra* (Cnidaria, Octocorallia). Acta Zool 70: 29-36

Benayahu Y, Achituv Y, Berner T (1989) Metamorphosis of an octocoral primary polyp and its infection by algal symbiosis. Symbiosis 7: 159-169

Benayahu Y, Weil D, Kleinman M (1990) Radiation of broadcasting and brooding patterns in coral reef alcyonaceans. Invertebr Reprod Dev 5: 323-328

Benayahu Y (1991) Reproduction and developmental pathways of Red Sea Xeniidae (Octocorallia, Alcyonacea). Hydrobiologia 216(217): 125-130

Benayahu Y (1997) Developmental episodes in reef soft corals: ecological and cellular determinants. In Lessios HA, Macintyre IG (eds), Proc 8th Intl Coral Reef Symp, Smithsonian Tropical Research Institute Balboa, Panama 2: 1213–1218

Ben-David-Zaslow R, Benayahu Y (1996) Longevity, competence and energetic content of the soft coral *Heteroxenia fuscescens*. J Exp Mar Biol Ecol 206: 55-68

Ben-David-Zaslow R, Benayahu Y (1998) Competence and longevity in planulae of several soft corals. Mar Ecol Prog Ser 163: 235-243

Brazeau DA, Lasker HR (1989) The reproductive cycle and spawning in a Caribbean gorgonian. Biol Bull (Woods Hole) 176: 1−7

Brazeau DA, Lasker HR (1990) Sexual reproduction and external brooding of the Caribbean gorgonian *Briareum asbestinum*. Mar Biol 104: 465-474

Calcinai B, Bavestrello G, Cerrano C (2004) Dispersal and association of two alien species in the Indonesian coral reefs: the octocoral *Carijoa riisei* and the demosponge *Desmapsamma anchorata*. J. Mar Biol Assoc U K 84: 937–941

Campbell RD (1974) Cnidaria. Reproduction of Marine Invertebrates, A. C. Giese and J. S. Pearse, eds. Academic Press, New York, p133–199

Carlon DB (1999) The evolution of mating systems in tropical reef corals. Trends Ecol Evol 14:491-495

Chia FS, Crawford BJ (1973) Some observations on gametogenesis, larval development and substratum selection of the sea pen *Ptilosarcus guerneyi*. Mar Biol 23:73-82

Chia F-S (1974) Classification and adaptive significance of developmental patterns in marine invertebrates. Thalassia Jugosl 10: 121-130

Chia FS, Bickell LR (1978) Mechanisms of larval attachment and the induction of settlement and metamorphosis in coelenterates: a review. In: Chia F, Rice M (eds) Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. Elsevier, New York, p1–12

Chia F, Lutzen J, Svane I (1989) Sexual reproduction and larval morphology of the primitive anthozoan *Gonactinia prolifera* M. Sars. J Exp Mar Biol Ecol 127: 13-24

Choi EJ, Song JI (2007) Reproductive biology of the temperate soft coral *Dendronephthya suensoni* (Alcyonacea: Nephtheidae). Integrative Biosciences 11: 215-225

Coelho MAG, Lasker HR (2014) Reproductive biology of the Caribbean brooding octocoral *Antillogorgia hystrix*. Invertebr Biol 133(4): 299-313

Coles SL, Eldredge LG (2002) Nonindigenous species introductions on coral reefs: a need for information. Pac Sci 56: 191–209

Concepcion GT, Crepeau MW, Wagner D, Kahng SE, Toonen RJ (2008) An alternative to ITS, a hypervariable, single-copy nuclear intron in corals, and its use in detecting cryptic species within the octocoral genus *Carijoa*. Coral Reefs 27: 323-336

Concepcion GT, Kahng SE, Crepeau MW, Franklin EC, Coles SL, Toonen RJ (2010) Resolving natural ranges and marine invasions in a globally distributed octocoral (genus *Carijoa*). Mar Ecol Prog Ser 401: 113–127

Coma R, Ribes M, Zabala M, Gili JM (1995) Reproduction and cycle of gonadal development in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. Mar Ecol Prog Ser 117: 173-183

Dahan M, Benayahu Y (1997) Reproduction of *Dendronephthya hemprichi* (Cnidaria: Octocorallia): year-round spawning in an azooxanthellate soft coral. Mar Biol 129: 573-579

Dahan M, Benayahu Y (1998) Embryogenesis, planulae longevity, and competence in the octocoral *Dendronephthya hemprichi*. Invertebr Biol 117(4): 271-280

Hamner RM, Freshwater DW, Whitfield PE (2007) Mitochondrial cytochrome b analysis reveals two invasive lionfish species with strong founder effects in the western Atlantic. J Fish Biol 71: 214–222

Harrison PL, Wallace CC (1990) Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. Z. Dubinsky, ed. Coral reefs. Ecosystems of the world. Elsevier, Amsterdam, 25:133–196

Harrison PL (2006) Settlement competency periods and dispersal potential of scleractinian reef coral larvae. In: Proceedings of 10th internatiional coral reef symposium, Okinawa, Japan, pp 78–82

Heyward AJ, Negri AP (1999) Natural inducers for coral larval metamorphosis. Coral Reefs 18: 273-279

Hughes TP, Ayre DJ, Connell JH (1992) The evolutionary ecology of corals. Trends. Ecol Evol 9:292-298

Fadlallah YH (1983) Population dynamics and life history of a solitary coral, Balanophyllia elegans, from Central California. Oecologia 58:200-207

Farrant PA (1985) Reproduction in the temperate Australian soft coral *Capnella gaboensis. Proc 5th Int Coral Reef Congr* 4:319-324

Farrant PA (1986) Gonad development and the planulae of the temperate Australian soft coral *Capnella gaboensis*. Mar Biol 92: .381-392

Fautin DG, Spaulding JG, Chia F-S (1989) Cnidaria. Reproductive Biology of Invertebrates, Vol. 4, Part A, Fertilization, Development, and Parental Care, Adiyodi KG and Adiyodi R., eds. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, p43–62

Gemmill JF (1920) The development of the sea anemones Metridium dianthus (Ellis) and *Adamsia palliata* (Bohad). Philos Trans R Soc Lond B 209:357-367

Gemmill JF (1921) The development of the sea anemone *Bolocera tuediae* (Johnst.). Q J Microsc Sci 65: 577–587

Goffredo S, Mezzomonaco L, Zaccanti F (2004) Genetic differentiation among populations of the Mediterranean hermaphroditic brooding coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophylliidae). Mar Biol 145:1075-1083

Goffredo S, Airi V, Radetic J, Zaccanti F (2005) Sexual reproduction of the solitary sunset cup coral *Leptopsammia pruvoti* (Scleractinia: Dendrophylliidae) in the Mediterranean. 1. Morphological aspects of gametogenesis and ontogenesis. Mar Biol 147: 485-495

Gutierrez-Rodriguez C, Lasker HR (2004) Reproductive biology, development, and planula behavior in the Caribbean gorgonian *Pseudopterogorgia elisabethae*. Invertebr Biol 123: 54-67

Hand C, Uhlinger KR (1992) The culture, sexual and asexual reproduction, and growth of the sea anemone *Nematostella vectensis*. Biol Bull (Woods Hole) 182:169-176

Harii S, Kayanne H (2003) Larval dispersal, recruitment, and adult distribution of the broody stony octocoral *Heliopora coerulea* on Ishigaki Island, southwest Japan. Coral Reefs 22: 188-196

Hartnoll RG (1977). Reproductive strategy in two British species of Alcyonium. In: Keegan BF, Ceidigh PO, Boaden PJS (eds) Biology of benthic organisms. Pergamon.
Visto: 21.05.2015
https://books.google.com.br/books?hl=ptBRelr=eid=EK3YBAAAQBAJeoi=fndepg=PA321edq=Reproductive+strategy+in+two+British+species+of+Alcyoniumeots=yb1g5_1hP4esi

g=YfMRaEblSMB12Iw9C8Xij1iAVs#v=onepageeq=Reproductive%20strategy%20in%20two%20British%20species%20of%20Alcyoniumef=false

Heltzel PS, Babcock RC (2002) Sexual reproduction, larval development and benthic planulae of the solitary coral *Monomyces rubrum* (Scleractinia: Anthozoa). Mar Biol 140:659-667

Kahng SE, Grigg RW (2005) Impact of an alien octocoral, *Carijoa riisei*, on black corals in Hawaii. Coral Reefs 24: 556-562

Kahng SE, Benayahu Y, Wagner D, Rothe N (2008) Sexual reproduction in the invasive octocoral *Carijoa riisei* in Hawaii. Bull Mar Sci 82:1–17

Kahng SE, Benayahu Y, Lasker HR (2011) Sexual reproduction in octocorals. Mar Ecol Prog Ser 443: 265-283

Lasker HR, Kim K (1996) Larval development and settle-ment behavior of the gorgonian coral Plexaura kuna (Las-ker, Kiho and Coffroth). J Exp Mar Biol Ecol 207: 161-175

Leitz T (1997) Induction of settlement and metamorphosis of cnidarians larvae: signals and signal transduction. Invertebr Reprod Dev 31: 109-122

Martin VJ, Koss R (2002) Phylum Cnidaria. Atlas of Marine Invertebrate Larvae, C. Young, ed. Academic Press, London. p51–108

McFadden CS (1997) Contributions of sexual and asexual reproduction to population structure in the clonal soft coral, *Alcyonium rudyi*. Evolution 51: 112–126

Mergner H (1971) Cnidaria. Experimental Embryology of Marine and Freshwater Invertebrates, G. Reverberi, ed. North-Holland, London, pp1–84

Miller DJ, Ball EE (2000) The coral Acropora: what it can contribute to our knowledge of metazoan evolution and the evolution of developmental processes. BioEssays 22: 291–296

Morse DE, Hooker N, Morse ANC, Jensen RA (1988). Control of larval metamorphosis and recruitment in sympatric agariciid corals. J Exp Mar Biol Ecol 116: 193-217

Morgan SG (1995) The timing of larval release. In: McEdward L (ed) Ecology of marine invertebrate larvae. CRC Press, Boca Raton, p249–278

Müller WA, Leitz T (2002) Metamorphosis in the Cnidaria. Can J Zool 80:1755-1771

Negri AP, Webster NS, Hill RT, Heyward AJ (2001) Metamorphosis of broadcast spawning corals in response to bacteria isolated from crustose algae. Mar Ecol Prog Ser 223:121-131

Nozawa Y, Harrison PL (2000) Larval settlement patterns, dispersal potential, and the effect of temperature on settlement of larvae of the reef coral, *Platygyra daedalea*, from the Great Barrier Reef. Proc 9th Interl Coral Reef Symp, Bali, Indonesia 23-27

Pérez CD (2002) Octocorais (Cnidaria, Anthozoa) do litoral Pernambucano (Brasil). In Tabarelli M, Silva JM (eds), Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco. Editora Massangana, Recife, p365–368

Ribes M, Coma R, Rossi S, Micheli M (2007) Cycle of gonadal development in *Eunicella singularis* (Cnidaria: Octocorallia): trends in sexual reproduction in gorgonians. Invertebr Biol 126: 307-317

Ritson-Williams R (2010) Surface brooding in the Caribbean gorgonian *Pterogorgia anceps*. Coral Reefs 29: 437

Sakai K (1997) Gametogenesis, spawning, and planula brooding by the reef coral *Goniastrea aspera* (Scleractinia) in Okinawa, Japan. Mar Ecol Prog Ser 151:67-72

Santangelo G, Carletti E, Maggi E, Bramanti L (2003) Reproduction and population sexual structure of the overexploited Mediterranean red coral *Corallium rubrum*. Mar Ecol Prog Ser 248:99-108

Schleyer MH, Kruger A, Benayahu Y (2004) Reproduction and the unusual condition of hermaphroditism in *Sarcophyton glaucum* (Octocorallia, Alyoniidae) in KwaZulu-Natal, South Africa. Hydrobiologia 530/531: 399-409

Scott A, Harrison PL (2007) Embryonic and Larval Development of the Host Sea Anemones *Entacmaea quadricolor* and *Heteractis crispa*. Biol Bull 213: 110-121.
Scott A, Harrison PL (2008) Larval settlement and juvenile development of sea anemones that provide habitat for anemonefish. Mar Biol 154:833-839

Shanks AL (1995) Mechanisms of cross-shelf dispersal of larval invertebrates and fish. In: McEdward LR (ed) Ecology of the marine invertebrate larvae. CRC Press, Boca Raton, pp 323-367

Sun Z, Hamel J-F, Mercier A (2011) Planulation, larval biology, and early growth of the deep-sea soft corals *Gersemia fruticosa* and *Duva florida* (Octocorallia: Alcyonacea). Invertebr Biol 130(2): 91-99

Thomas WJ (1979) Aspects of the Micro-community Associated with *Telesto riisei* an Introduced Alcyonarian Species. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu

Uchida T, Yamada M (1968) Cnidaria. In: Kume M, Dan K (ed) Invertebrate Embryology. Nolit Publishing House, Belgrade, pp 86–116

Verseveldt J (1982) A revision of the genus *Sarcophyton* Lesson (Octocorallia, Alcyonacea). Zooi Verh (Leiden1)192: 1-191

Weinberg S, Weinberg F (1979) The life cycle of a gorgonian: *Eunicella singularis* (Esper, 1794). Bijdr Dierkd 48: 127-140

Widersten B (1968) On the morphology and development in some cnidarian larvae. Zool Bidr Upps 37: 139-182

Yamazato K, Sato M, Yamashiro H (1981) Reproductive biology of an alcyonacean coral, *Lobophytum crassum* Marenzeller. Proc 4th Int Coral Reef Symp 2: 671-678

Young CM (1995) Behavior and locomotion during the dispersal phase of larval life. In: McEdward L (ed) Ecology of marine invertebrate larvae. CRC Press, Boca Raton, pp 249–278

6. Capítulo III

Diversidade genética e conectividade populacional do octocoral *Carijoa riisei* (Cnidaria: Anthozoa) no Atlântico Sul, e ao longo da sua distribuição global

Resumo

Organismos sésseis mantém a conectividade entre populações através da dispersão larval. A troca de larvas cria e mantém alta diversidade genética. Este estudo examinou a diversidade genética e a conectividade populacional do coral mole *Carijoa riisei* no Atlântico Sul e fez comparações com outras regiões do Atlântico (Leste e Norte) e do mundo (Pacífico/Havaí e Indo Pacífico). Para tal, foi acessada por meio de um marcador mitocondrial (ND2) a variação genética da espécie ao longo da costa do Brasil. Estruturação genética de moderada a alta foi observada em duas das seis populações brasileiras estudadas (Alagoas e São Paulo), entretanto não foi encontrada diferenciação significativa entre populações que estavam mais distantes entre si, em quase 3000 km. Haplótipos compartilhados por todas as populações indicam fluxo gênico entre elas, o que é corroborado pelos valores de Nm global (Nm global = 2,19). O Atlântico Sul apresentou a maior diversidade genética entre todas as regiões do Atlântico estudadas. Quando a comparação é realizada entre as regiões geográficas mundiais, a maior diversidade genética foi encontrada no Indo-Pacífico e a menor no Atlântico Norte. O Atlântico Sul se diferenciou significativamente de todas as regiões geográficas. Contudo valores ϕ_{CT} não separaram por grupos as populações do Atlântico Sul de nenhuma população das demais regiões geográficas, o que foi corroborado pelos valores encontrados de Nm (>5,39) e um haplótipo compartilhado entre todas as populações indicam que há fluxo gênico entre elas. Correlações significativas não foram encontradas entre a diversidade genética e a distância geográfica entre as populações do Atlântico, do Pacífico e Indo-Pacífico. De acordo com esses resultados e, aliado com resultados genéticos existentes na literatura para esta espécie, apoia-se a ideia de que *C. riisei* é nativa do Indo-Pacífico. A introdução no Atlântico Sul deve ter sido de forma natural, por meio da larva de longa duração no ciclo de vida da espécie, com potencial para dispersão por grandes distâncias ou através do homem por vetores marítimos.

Palavras chave: Octocorallia, DNAmt, fluxo gênico, diferenciação genética, Brasil

Introdução

A dispersão larval desempenha um papel chave na conectividade de populações no ambiente marinho e tem consequências importantes para a dinâmica populacional, estrutura genética e evolução das espécies (Smilansky e Lasker 2014). A ampla dispersão gera altas taxas de migração entre as populações, contrariando assim, o processo pelo qual a deriva genética e a seleção natural produzem diferenciação genética. Em contraste, a baixa capacidade de dispersão pode aumentar a ocorrência de unidades discretas de reprodução que pode diferenciar-se entre si (McFadden e Aydin 1996).

A recuperação de uma população depois de um evento de distúrbio depende do fornecimento de recrutas (Hughes et al. 2000). Por razões dos desafios logísticos no rastreamento ou simulação de movimento larval, os métodos moleculares são freqüentemente usados para inferir a conectividade nos recifes de coral (Nunes et al. 2009). A análise da estrutura genética da população e medições de fluxo gênico fornecem uma ferramenta poderosa para investigar a dispersão (Ayre e Hughes 2000).

Octocorais alcionáceos, conhecidos como corais moles, incluem cnidários sésseis que mostram uma variedade de sistemas reprodutivos (hermafrodita ou gonocórica; incubadores ou liberadores de gametas) que têm sido comumente associadas com diferentes capacidades de dispersão. Os liberadores (octocorais que liberam óvulos e esperma na água com fertilização externa) são considerados bons dispersores, enquanto os incubadores (octocorais que liberam o gameta masculino, mas incubam os ovos) são ditos pobres dispersores (Carlon 1999).

O octocoral *Carijoa riisei* (Duchassaing e Michelotti, 1860) (ordem Alcyonacea, família Clavulariidae) é uma espécie que libera gametas e gera uma larva que nada por toda a coluna d'água por um período de competência de até 18 dias em laboratório, com um potencial de dispersão por grandes distâncias (Barbosa et al 2015; Cap 2). Distribui-se

desde a Flórida (EUA) até Santa Catarina (BRA) e em toda a região do Caribe (Bayer 1961; Pérez 2002); também é observado no Havaí e em outros locais do Pacífico, bem como no Atlântico Leste (Bayer 1961, Concepcion et al. 2008; 2010).

Apesar de existir estudos biogeográficos de *C. riisei*, não há consenso quanto ao local de origem da espécie. Inicialmente *C. riisei* foi considerado uma espécie não-indígena e invasora no Havaí e em outras localidades do Pacífico, dispersado por vetores marinhos (Grigg 2003), competindo com sucesso e crescendo sobre o coral negro e outros invertebrados nativos (Kahng e Grigg 2005; Kahng e Kelley 2007). Como a espécie tem como localidade-tipo o Caribe, levou à conclusão geral de que *C. riisei* foi introduzida no Havaí a partir de uma fonte do Caribe (Concepcion et al. 2010). No entanto, estudo recente com uso de técnicas moleculares revelaram que a população mais antiga de *C. riisei* é a do Indo-Pacífico, e que o Caribe é a mais jovem, de modo que parece ser nativa da região do Indo-Pacífico (Concepcion et al. 2010). Apesar de incluírem em seu trabalho o Atlântico Sul, usaram apenas um exemplar para a análise com marcadores mitocondriais e dois exemplares com nuclear, provenientes do sudeste do Brasil.

Carijoa riisei é muito abundante na costa brasileira, principalmente na região nordeste do país, onde foi encontrado um cenário de panmixia para *C. riisei* em pequena escala espacial na costa de Pernambuco (Barbosa et al. 2015; Cap 1; Artigo submetido). Verificar a relação entre a capacidade de dispersão e a magnitude da diferenciação genética das populações em múltiplas escalas geográficas tem sido crucial para a compreensão dos processos micro-evolutivos de diferenciação dentro das espécies de corais (Ayre e Dufty 1994; Hellberg 1995; 1996; Ayre et al. 1997; Ayre e Hughes 2000). Portanto, o objetivo desta pesquisa foi fornecer a primeira avaliação da diversidade genética e conectividade populacional de *C. riisei* em grande escala espacial no Atlântico Sul (Brasil), e determinar a extensão dessa conectividade com outras populações em escalas espaciais mundiais.

Devido ao seu potencial de dispersar larvas para grandes distâncias, a espécie deverá apresentar uma capacidade de dispersão ampla resultando em altos níveis de diversidade genética e de fluxo gênico entre as populações, com pouca evidência de recrutamento local e haplótipos de ampla distribuição.

Material e métodos

Área de estudo e amostragem

Um total de 141 amostras de *Carijoa riisei* foi coletado a partir de 12 locais da costa brasileira abrangendo o nordeste, o sudeste e o sul do país (Tabela 1). Todas as amostras utilizadas neste estudo foram coletadas entre março de 2012 e setembro de 2014 através de mergulho livre ou autônomo. As populações amostradas estavam presentes em diferentes profundidades, desde águas rasas até 25 metros. As amostras foram retiradas de colônias individuais espaçadas com pelo menos dois metros de distância, para evitar amostragem de indivíduos clonais (duplicação de genótipos). As amostradas foram mantidas refrigeradas a -20°C em tubo falcon de 50 ml contendo etanol a 96%.

Sequências do gene mitocondrial ND2 disponíveis no GenBank para a espécie *C. riisei* foram incluídas no estudo para fins comparativos com a amostragem brasileira, já que as sequências do GenBank abrangeram regiões do Atlântico, Indo-Pacífico e Pacífico (Tabela 2) (Concepcion et al. 2008; 2010; números de acesso EU006822-EU006851).

Tabela 1 Localidades e número de indivíduos amostrados (N) de *Carijoa riisei* no Brasil

PAÍS	ESTADO	N
	Pernambuco	40
	Paraíba	25
BRASIL	Alagoas	23
	Ceará	17
	São Paulo	25
	Santa Catarina	11
		141

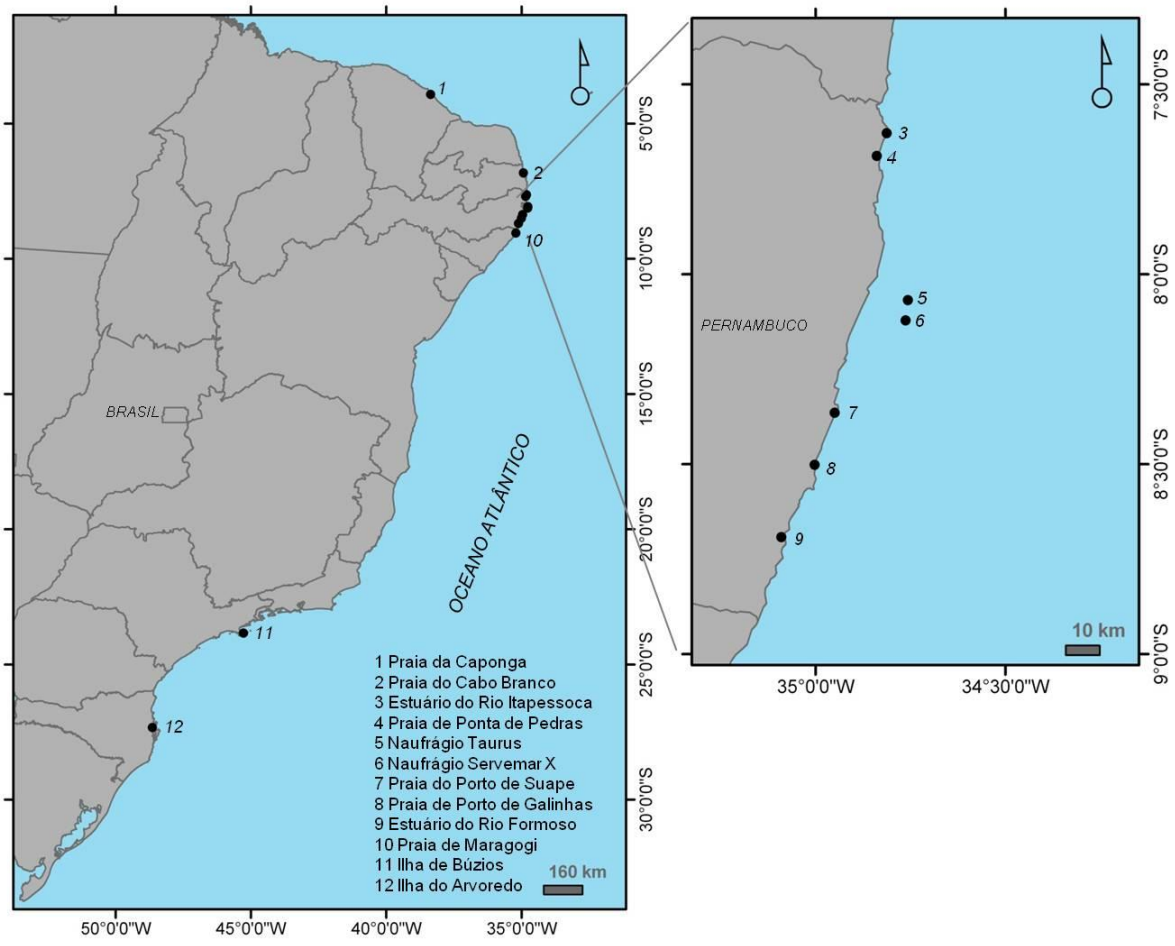

Fig 1 Locais de coleta de *Carijoa riisei* no Brasil

Tabela 2 Localidades e número de indivíduos amostrados (N) de *Carijoa riisei* em diferentes regiões geográficas do mundo por Concepcion et al. (2008;2010)

REGIÃO GEOGRÁFICA	N
Atlântico Sul	
Brasil (Sudeste)	1
Atlântico Norte/Caribe	
Panamá	5
Flórida	23
Porto Rico/IlhasVirgens	18
Atlântico Leste	
São Tomé/ Príncipe	6
Pacífico	
Havaí	96
Indo Pacífico	
Austrália	6
Indonésia	21
Ilhas Mauricio	5
Fiji/Tonga	3
Ilhas Mariana e Carolinas	5
Palau	54
Papua Nova Guiné/Ilhas Salomão	3
Total	**246**

Extração de DNA, PCR e sequênciamento

A extração de DNA, as reações em cadeia da polimerase (PCR) e as reações de sequenciamento para a região do gene mitocondrial NADH dehydrogenase subunits 2 (ND2) foram realizados seguindo os protocolos usados por Barbosa et al. (2015, submetido, Cap 1).

Análise estatística dos dados

As sequências obtidas de amostras do Brasil foram editadas por meio do software Geneious (http://www.geneious.com) e alinhadas usando o Clustal W (Thompson et al. 1994) implementado em BioEdit 7.0.5.3 (Hall 1999), seguido por inspeção visual para os ajustes finais. Paralelamente, para representar as populações em escala mundial (Tabela 2), as sequências de espécimes coletados no Brasil foram posteriormente realinhadas com

sequências de *C. riisei* encontradas por Concepcion et al. (2008; 2010) provenientes de espécimes amostrados em diferentes regiões geográficas. As análises foram realizadas considerando cinco regiões geográficas: Atlântico Sul/Brasil, Atlântico Norte/Caribe, Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe, Indo-Pacífico e Pacífico/Havaí.

O software DNAsp v.5.10.1 (Librado e Rozas 2009) foi utilizado para estimar a diversidade genética de *C. riisei* através da obtenção do número total de haplótipos, diversidades haplotípica e nucleotídica para o Brasil e o mundo, assim como em cada um dos estados do Brasil e nas diferentes regiões geográficas do mundo estudadas. O software Network (Fluxus Engineering Inc.; Bandelt et al. 1995; 1999) foi utilizado para gerar redes de haplótipos, utilizando os parâmetros de Median-Joinning.

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) (Excoffier et al. 1992) implementada através do software ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2010) foi utilizada para testar a existência de desvios estatísticos significativos para a inexistência de uma população panmítica e poder sugerir um padrão de estruturação genético-evolutiva para *C. riisei* nas regiões estudadas. Tal método foi aplicado de forma a calcular, para o Brasil e o mundo, o índice de fixação da variação genética (ϕ_{ST}) global, que representa a divergência na frequência alélica entre as subpopulações. Para a AMOVA, considerando as cinco regiões geográficas, foram observados os índices ϕ_{CT} e ϕ_{SC}, que indicam quanto da variação pode ser atribuída a diferenças entre os grupos e entre as populações dentro dos grupos, respectivamente. Com o intuito de conhecer a estrutura genética do Atlântico Sul/Brasil e do Atlântico Total (Leste, Norte e Sul) em relação às demais regiões geográficas, esta análise foi realizada separando os seguintes grupos: i) Atlântico Sul/Brasil vs. demais regiões geográficas; ii) Atlântico total vs. Indo-Pacífico vs. Pacífico/ Havaí; iii) Atlântico Norte vs. Indo-Pacífico; iv) Atlântico Norte vs. Pacífico/ Havaí; v) Atlântico Leste vs. Indo-Pacífico; e vi) Atlântico Leste vs. Pacífico/ Havaí.

O fluxo gênico global e entre as populações de *C. riisei* de cada um dos estados estudados no Brasil foram calculados a partir do número de migrantes por geração (Nm), utilizando DnaSP v.5.10.00 (Rozas et al. 2003). O fluxo gênico global do mundo, bem como para cada uma das cinco regiões geográficas foi igualmente determinado conforme acima.

Relações filogenéticas foram estimadas por Inferência Bayesiana (com cinco milhões de gerações e desvio padrão < 0,01), usando o software Mr Bayes v.3.1 (Ronquist e Huelsenbeck 2003). As análises filogenéticas foram realizadas utilizando como grupo externo, sequências do GenBank de *Siphonogorgia* sp. e *Alcyonium rudyi* (números de acesso EU006871 e AF530488, respectivamente). A confiança estatística dos agrupamentos foi testada através do método de probabilidade a posteriori com valores de 90% no limiar de significância dos ramos. Cabe relatar que o modelo evolutivo da variância dos sítios do ND2 foi avaliado pelo jModeltest (Posada 2008) e o mesmo indicou o modelo Jukes e Cantor (K= 530, lnL=1080.640, para o Brasil; K= 590, lnL=1010.482, para o mundo) como aquele mais bem ajustado à variância dos sítios ND2. Assim a Inferência Bayesiana foi conduzida seguindo os valores de distância Jukes e Cantor entre as amostras.

Análises de regressão linear entre ϕ_{ST} e distâncias geográficas foram realizadas por meio do software BioEstat 5.0 (Ayres et al. 2007), com a finalidade de testar a hipótese de isolamento genético-evolutivo por distância (IBD). As distâncias geográficas entre os estados brasileiros foram estimadas a partir do contorno do litoral, enquanto que para o mundo e para as diferentes regiões geográficas, a partir da rota mais curta traçada entre os oceanos pelo uso da plataforma Google Earth (Google Inc. 2013).

Para testar as hipóteses de neutralidade foram realizados os testes de distribuição dos sítios segregantes (D de Tajima) (Ramos-Onsins e Rozas 2002) e distribuição dos

haplótipos (Fs de Fu) pelo software DNAsp v.5.10.1 (Librado e Rozas 2009). Para esse trabalho, valores de D de Tajima (Tajima 1989) e Fs de Fu (Fu 1997) positivos foram considerados referentes a populações balanceadas, redução da população, gargalo recente (Maruyama e Fuerst 1985), subdivisão da população ou migração. E valores de D e Fs negativos para populações que sofreram crescimento populacional (Maruyama e Fuerst 1984) ou um gargalo menos recente (Maruyama e Fuerst 1985).

Para todas as análises estatísticas foi adotado um nível de significância de 5%.

Resultados

Atlântico Sul

Nas análises mitocondriais (ND2) foram utilizados 141 indivíduos amostrados, provenientes de seis estados do Brasil (Tabela 3). As reações de PCR para o ND2 amplificaram uma região de aproximadamente 574bp. A análise revelou um total de 10 haplótipos nos estados amostrados, com seis polimorfismos, representando 1,04% de variação. A diversidade haplotípica total foi de 0,606 e a diversidade de nucleotídeos foi de 0,00134. A população de Pernambuco apresentou a maior diversidade genética, seguido da população da Paraíba, enquanto que os menores valores foram encontrados para a população de São Paulo (Tabela 3).

Tabela 3 Parâmetros genéticos das populações de *Carijoa riisei* do Brasil pela análise do gene ND2. N = número de amostras; H = número de haplótipos; hd = diversidade haplotípica; $\boldsymbol{\pi}$ = diversidade nucleotídica

	Populações	**N**	**H**	**Hd**	$\boldsymbol{\pi}$
BRASIL	Ceará	17	3	0,529	0,00092
	Paraíba	25	6	0,627	0,00152
	Pernambuco	40	7	0,664	0,00156
	Alagoas	23	3	0,553	0,00116
	São Paulo	25	2	0,153	0,00027
	Santa Catarina	11	2	0,509	0,00089
Total		**141**	**10**	**0,606**	**0,00134**

Dados de distribuição dos haplótipos nas populações podem ser observados na Tabela 4 e na rede haplotípica (Fig 2). No geral, o Haplótipo 3 foi o mais frequente em todas as localidades estudadas, seguido do haplótipo 2, ambos compartilhados por todas as localidades amostradas. O haplótipo 1 esteve presente apenas nas amostras do Ceará, Pernambuco e Alagoas. Ainda foram observados haplótipos exclusivos nas populações dos estados de Pernambuco e Paraíba.

Tabela 4 Distribuição dos haplótipos pela análise do gene ND2 nas populações de *Carijoa riisei* no Brasil. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos

Localidade	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	H_8	H_9	H_10	N	h
Ceará	1	9	8								17	3
Paraíba		7	14					1	1	1	25	5
Pernambuco	4	12	20	1	1	1	1				40	7
Alagoas	14	2	7								23	3
São Paulo		2	23								25	2
Santa Catarina		4	7								11	2
Total	**19**	**36**	**79**	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**	17	**10**

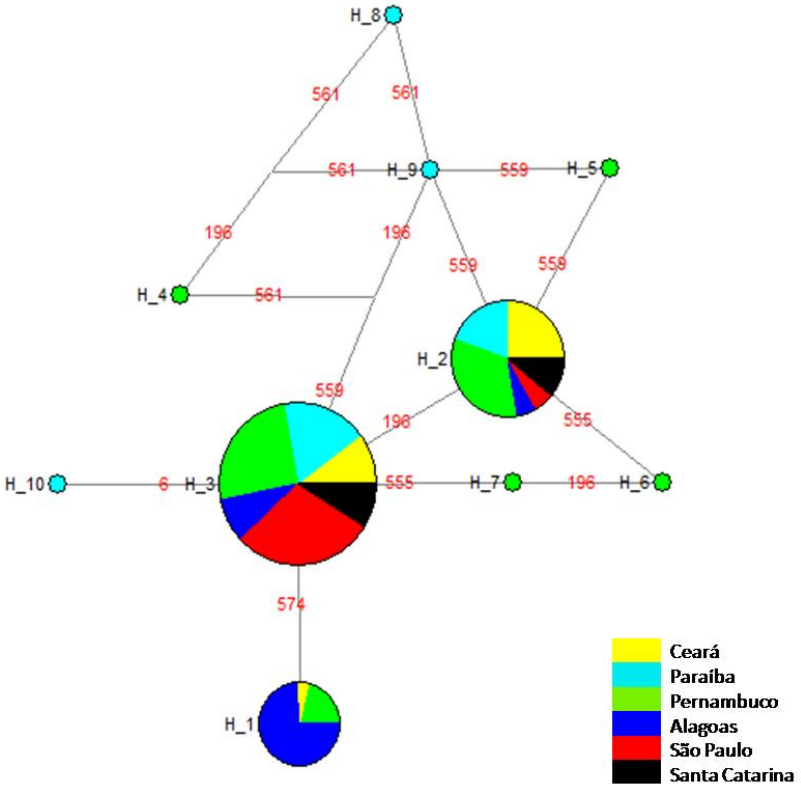

Fig 2 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* para o Brasil por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência dos haplótipos

A AMOVA global mostrou um valor de ϕ_{ST} = 0,184 ($p < 0,001$) e a maior fonte de variação ocorreu dentro das populações (Tabela 5). Uma comparação pareada entre os espécimes dos diferentes estados revelou valores de ϕ_{ST} entre -0,041 (Pernambuco x Santa Catarina) e 0,47 (São Paulo x Alagoas). A população de Alagoas mostrou diferenciação genética em relação às demais localidades. O mesmo ocorreu para a população de São Paulo, que não se diferenciou apenas do estado de Santa Catarina (Tabela 6). Distâncias geográficas entre as populações variaram de 108 a 2781 km. O fluxo gênico global, estimado através do número de migrantes por geração, foi de 2,19 entre as populações de *C. riisei* do Brasil. Os valores pareados de Nm oscilaram entre 1,03 (São Paulo x Alagoas) e 80,47 (Pernambuco e Paraíba) (Tabela 6). As análises de regressão linear realizadas entre ϕ_{ST} e distância geográfica (km) (p=0,6; R^2= 1,0) não foram significativas nas populações estudadas da costa brasileira (108-2781 km).

O teste de neutralidade de Tajima D para as populações do Brasil foi positivo (0,15654), enquanto que Fs de Fu apresentou valor negativo (-0,40431), mas ambos os testes não foram significativos (p>0,3).

Tabela 5 Análise de variância molecular obtidos em todas as populações de *Carijoa riisei* estudadas no Brasil pela na análise do gene ND2. ϕ_{ST} = variação dentro das populações. $^{*}p < 0,001$

Fontes de variação	Gl	Ss	Variância	% variação	Φ Estatística
Entre as populações	5	10,038	0,073	18,476	ϕ_{ST} = 0,184*
Dentro das populações	135	43,905	0,325	81,523	
Total	140	53,943	0,398		

Tabela 6 Valores de Nm (abaixo da diagonal) e de ϕ_{ST} pareados (acima da diagonal) entre as amostras de *Carijoa riisei* estudadas no Brasil. $^{*}p < 0,05$, $^{**}p < 0,001$

	Pernambuco	Alagoas	Paraíba	Santa Catarina	São Paulo	Ceará
Pernambuco	-	0,272**	-0,020	-0,041	0,099*	0,017
Alagoas	2,55	-	0,326**	0,397**	0,470**	0,468**
Paraíba	80,47	1,82	-	-0,053	0,118**	0,004
Santa Catarina	76,5	1,48	76,03	-	0,197	-0,022
São Paulo	7,15	1,03	5,5	3,57	-	0,380**
Ceará	19,3	1,04	18,22	18,47	1,47	-

A topologia de inferência bayesiana mostrou dois grandes grupos. O primeiro formado pelos haplótipos exclusivos encontrados em Pernambuco e na Paraíba. O segundo agrupamento foi constituído pelos demais haplótipos, onde os haplótipos H_1, H_3 e H_10 foram mais relacionados entre si do que entre os haplótipos 7 e 6 pertencentes ao outro agrupamento. Os valores de probabilidade a posterori não foram estatisticamente significativos para nenhum dos ramos (Fig 3).

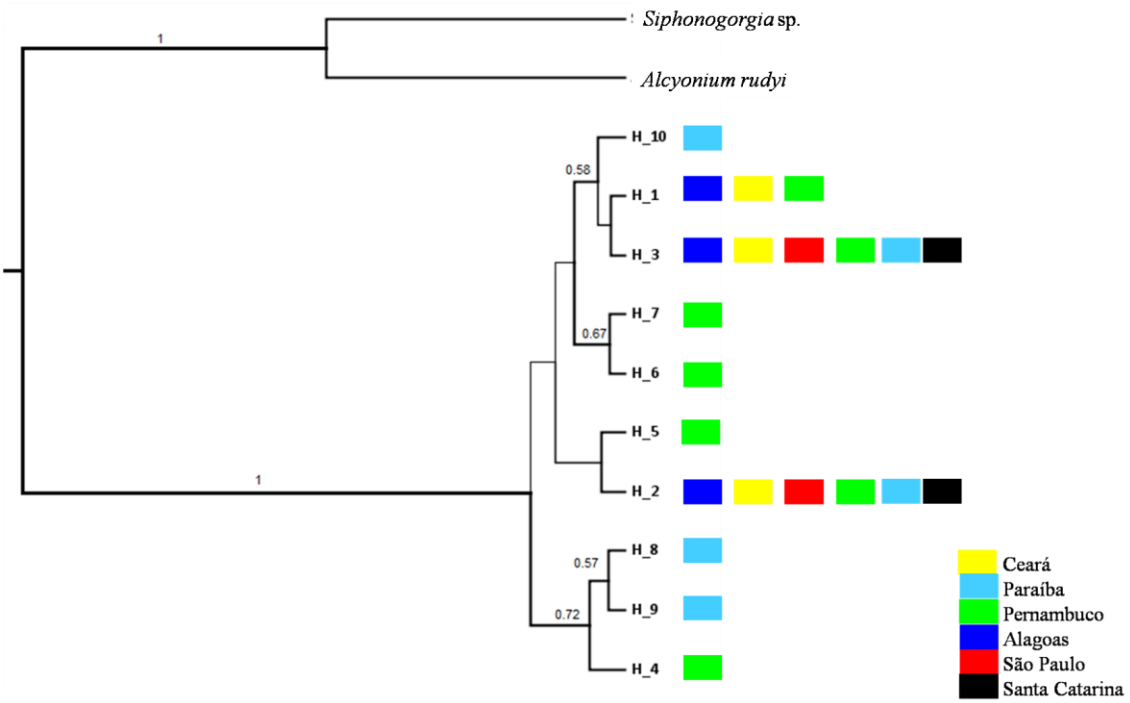

Fig 3 Topologia de Inferência bayesiana para os haplótipos de *Carijoa riisei* encontrados no Brasil para o gene ND2

Escala geofráfica mundial

Um total de 387 indivíduos provenientes das amostras do Brasil e amostras adicionais de diferentes regiões geográficas (Tabela 2), representaram as populações em escala mundial. A análise revelou um total de sete haplótipos, cada qual com um total de 542pb, com oito sítios polimórficos, representando 1,47% da variação. A diversidade haplotípica (hd) total foi de 0,465 e a diversidade de nucleotídeos (π) de 0,00122. A diversidade geral foi maior para o Indo-Pacífico, enquanto que as populações do Atlântico Norte não apresentaram diversidade genética (Tabela 7).

Tabela 7 Parâmetros genéticos das populações de *Carijoa riisei* em diferentes regiões geográficas do mundo pela análise do gene ND2. N = número de amostras; H = número de haplótipos; hd = diversidade haplotípica; $\boldsymbol{\pi}$ = diversidade nucleotídica

REGIÃO GEOGRÁFICA	**N**	**H**	**hd**	**Π**
Atlântico Sul/Brasil	142	3	0,417	0,00078
Atlântico Norte/Caribe	46	1	0,000	0,00000
Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe	6	2	0,333	0,00062
Pacífico/Havaí	96	3	0,349	0,00080
Indo-Pacífico	98	6	0,705	0,00256
Total	**387**	**7**	**0,465**	**0,00122**

Dados de distribuição dos haplótipos nas populações do mundo podem ser observados na Tabela 8 e na rede haplotípica (Fig 4). Dos sete haplótipos observados para o mundo, três foram compartilhados entre regiões geográficas. O haplótipo 1 foi o mais frequente e compartilhado com todas as regiões geográficas estudadas, seguido do haplótipo 2, que não foi compartilhado apenas com o Atlântico Norte/Caribe. O Atlântico Sul/Brasil apresentou três haplótipos, dois dos quais apresentaram esse mesmo padrão (H_1 e H_2). O terceiro haplótipo compartilhado (H_6) foi o menos frequente e encontrado apenas no Indo-Pacífico e no Pacífico. Haplótipos exclusivos foram encontrados no Atlântico Sul/Brasil (H_3) e Indo-Pacífico (H_4, H_5 e H_7).

A AMOVA global mostrou um valor de ϕ_{ST} = 0,137 ($p < 0,001$) e a maior fonte de variação foi dentro das populações (Tabela 9). Na análise de Variância molecular considerando grupos, valores de ϕ_{CT} não mostraram diferenças significativas entre o Atlântico Sul/Brasil e as demais regiões geográficas. Quando o Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe é comparado com o Indo-Pacífico e o Pacífico, diferenciações significativas por grupos também não são encontradas. Porém, valores de ϕ_{CT} calculados para o Atlântico Norte/Caribe em comparação com Indo-Pacífico e Pacífico mostraram diferenças significativas. Valores significativos foram encontrados quando comparadas as regiões do Atlântico Total, Indo-Pacífico e Pacífico como diferentes grupos (Tabela 10).

Tabela 8 Distribuição dos haplótipos pela análise do gene ND2 nas populações de *Carijoa. riisei* de diferentes regiões geográficas do mundo. H_ = haplótipos; N = número de amostras; n = total de haplótipos

REGIÃO GEOGRÁFICA	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	N	H
Atlântico Sul									
Brasil	101	40	1					142	3
Atlântico Norte/Caribe									
Panamá	5							5	1
Flórida	23							23	1
Porto Rico/Ilhas Virgens	18							18	1
Total	46							46	1
Atlântico Leste									
São Tomé/ Príncipe	5	1						6	2
Pacífico									
Havaí	76	15				5		96	3
Indo Pacífico									
Austrália	2	3				1		6	3
Indonésia	11	8		2				21	3
Ilhas Mauricio	1	4						5	2
Fiji/Tonga	3							3	1
Ilhas Mariana e Carolinas	3	2						5	2
Palau	23	4			10		17	54	4
Papua Nova Guiné/Ilhas Salomão		2					1	3	2
Total	43	23		2	10	1	18	97	6
Total	**271**	**79**	**1**	**2**	**10**	**6**	**18**	**387**	**7**

Os testes de neutralidade de Tajima D e o Fs de Fu para as populações do mundo apresentaram valores positivos (0,29576 e 0,52921, respectivamente), mas ambos não foram significativos ($p>0,7$).

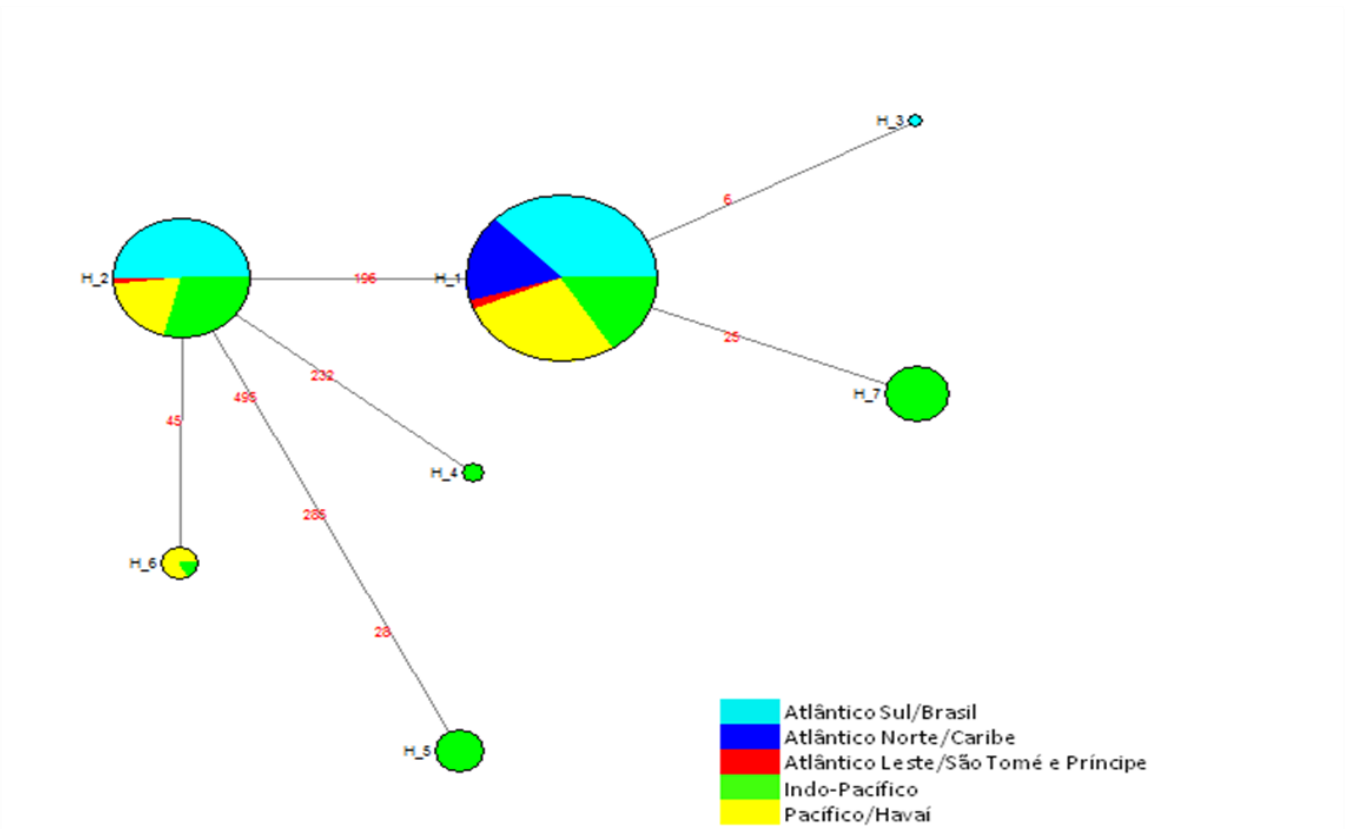

Fig 4 Rede de haplótipos de *Carijoa riisei* para diferentes regiões geográficas do mundo por meio do método de Median-Joinning, a partir do gene mitocondrial ND2. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o diâmetro do círculo correspondente à frequência dos haplótipos

Tabela 9 Análise de variância molecular global para as populações de *Carijoa riisei* do mundo pela análise do gene ND2. ϕ_{ST} = variação dentro das populações. $^{*}p < 0,001$

Fontes de variação	gl	Ss	Variância	% variação	Φ Estatística
Entre as populações	20	22,278	0,046	13,72	ϕ_{ST} = 0,137*
Dentro das populações	365	105,624	0,289	86,28	
Total	385	127,902	0,335		

O fluxo gênico global, estimado através do número de migrantes por geração entre as populações de *C. riisei* do mundo, foi de 6,21. Os valores pareados de Nm oscilaram entre 2,83 (Atlântico Leste x Atlântico Norte) e 426,04 (Pacífico e Atlântico Leste) (Tabela 11). Análises de regressão linear realizadas entre ϕ_{ST} e distância geográfica (km) não foram significativos para todas as amostras das populações do mundo (p=0,5 e R^2= 0,001), do

Atlântico Total (Leste, Norte e Sul) (p=0,5; R^2= 0,007), do Pacífico/Havaí (p=0,2 e R^2= 0,32) e do Indo Pacífico (p=0,8 e R^2= 0,001).

Tabela 10 Análise de variância molecular obtida da comparação das populações de *Carijoa riisei* do Atlântico com outras regiões geográficas do mundo pela análise do gene ND2. ϕ_{CT} = variação genética entre grupos, ϕ_{SC} = variação genética entre populações dentro dos grupos, ϕ_{ST} = variação genética dentro dos grupos. $^{*}p < 0,05$; $^{**}p < 0,005$; $^{***}p < 0,001$

Teste	Fontes de variação	gl	ss	Variância	% variação	ϕ Estatística
Atlântico Sul/Brasil *vs.* Atlântico Norte/Caribe	Entre grupos	1	2,793	0,033	16,78	ϕ_{CT}=0,167
	Entre populações dentro dos grupos	7	3,379	0,016	8,43	**ϕ_{SC}=0,101*** **
	Dentro dos grupos	178	26,267	0,147	74,79	**ϕ_{ST}=0,252*** **
Atlântico Sul/Brasil *vs.* Atlântico Leste	Entre grupos	1	0,079	-0,022	-11,72	ϕ_{CT}=-0,117
	Entre populações dentro dos grupos	5	3,379	0.021	10,99	ϕ_{SC}=0,098
	Dentro dos grupos	140	27,1	0,193	100,73	**ϕ_{ST}=-0,007****
Atlântico Sul *vs.* Atlântico Leste *vs.* Atlântico Norte	Entre grupos	2	2,806	0,026	13,65	ϕ_{CT}=0,136
	Entre populações dentro dos grupos	7	3,379	0,016	8,71	**ϕ_{SC}=0,100****
	Dentro dos grupos	183	27,100	0,148	77,65	**ϕ_{ST}=0,223*** **
Atlântico Sul/Brasil *vs.* Indo-pacífico	Entre grupos	1	4,284	0,022	5,03	ϕ_{CT}=0,050
	Entre populações dentro dos grupos	11	11,523	0,041	9,46	**ϕ_{SC}=0,099****
	Dentro dos grupos	225	85,277	0,379	85,52	**ϕ_{ST}=0,144*** **
Atlântico Sul/Brasil *vs.* Pacífico	Entre grupos	1	0,482	0,001	0,51	ϕ_{CT}=0,066
	Entre populações dentro dos grupos	8	4,438	0,015	7,11	ϕ_{SC}=0,070
	Dentro dos grupos	227	45,780	0,201	93,4	**ϕ_{ST}=0,066****
Atlântico Leste *vs.* Atlântico Norte	Entre grupos	1	0,147	0,013	45,03	ϕ_{CT}=0,450
	Entre populações dentro dos grupos	2	0,000	-0,001	-4,41	ϕ_{SC}=-0,080
	Dentro dos grupos	48	0,833	0,017	59,38	ϕ_{ST}=0,406
Atlântico Leste *vs.* Indo-pacífico	Entre grupos	1	0,614	-0,050	-7,69	ϕ_{CT}=-0,076
	Entre populações dentro dos grupos	6	8,144	0,071	10,93	**ϕ_{SC}=0,101***
	Dentro dos grupos	95	59,844	0,629	96,76	**ϕ_{ST}=0,032***
Atlântico Leste *vs.* Pacífico	Entre grupos	1	0,025	-0,020	-10,36	ϕ_{CT}=-0,103
	Entre populações dentro dos grupos	3	1,06	0,006	3,15	ϕ_{SC}=0,028
	Dentro dos grupos	97	20,347	0,209	107,21	ϕ_{ST}=-0,072
Atlântico Norte *vs.* Indo-Pacífico	Entre grupos	1	6,384	0,074	13,11	**ϕ_{CT}=0,131*** **
	Entre populações dentro dos grupos	8	8,144	0,052	9,13	**ϕ_{SC}=0,105***
	Dentro dos grupos	133	59,011	0,443	77,76	**ϕ_{ST}=0,222*** **
Atlântico Norte *vs.* Pacífico	Entre grupos	1	1,434	0,019	11,66	**ϕ_{CT}=0,116***
	Entre populações dentro dos grupos	5	1,06	0,003	2,08	ϕ_{SC}=0,023
	Dentro dos grupos	135	19,513	0,144	86,26	**ϕ_{ST}=0,137***
Atlântico Total (Leste, Norte e Sul) *vs.* Indo-pacífico vs. Pacífico	Entre grupos	2	6,889	0,017	5,25	**ϕ_{CT}=0,052***
	Entre populações dentro dos grupos	18	15,389	0,033	9,95	**ϕ_{SC}=0,104*** **
	Dentro dos grupos	365	105,624	0,289	84,8	**ϕ_{ST}=0,152*** **

Tabela 11 Valores de Nm pareados entre as populações de *Carijoa riisei* de diferentes regiões geográficas mundiais

	Atlântico Sul/Brasil	Atlântico Norte/Caribe	Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe	Indo-Pacífico	Pacífico/ Havaí
Atlântico Sul/Brasil	-				
Atlântico Norte/Caribe	5,39	-			
Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe	199,86	2,83	-		
Indo-Pacífico	11,49	5,37	57,02	-	
Pacífico/Havaí	53,92	7,17	426,04	9,81	-

A topologia de inferência bayesiana para *C. riisei* demonstrou dois grupos filogenéticos. O primeiro representado pelo haplótipo 5 e o segundo pelos demais haplótipos. O haplótipo 3, que é exclusivo para o Brasil, agrupou com o haplótipo 1, encontrado em todas as regiões, e ambos agruparam com o haplótipo 7 que é exclusivo do Indo-Pacífico. Os valores de probabilidade a posteriori não foram estatisticamente significativos para nenhum dos ramos (Fig 5).

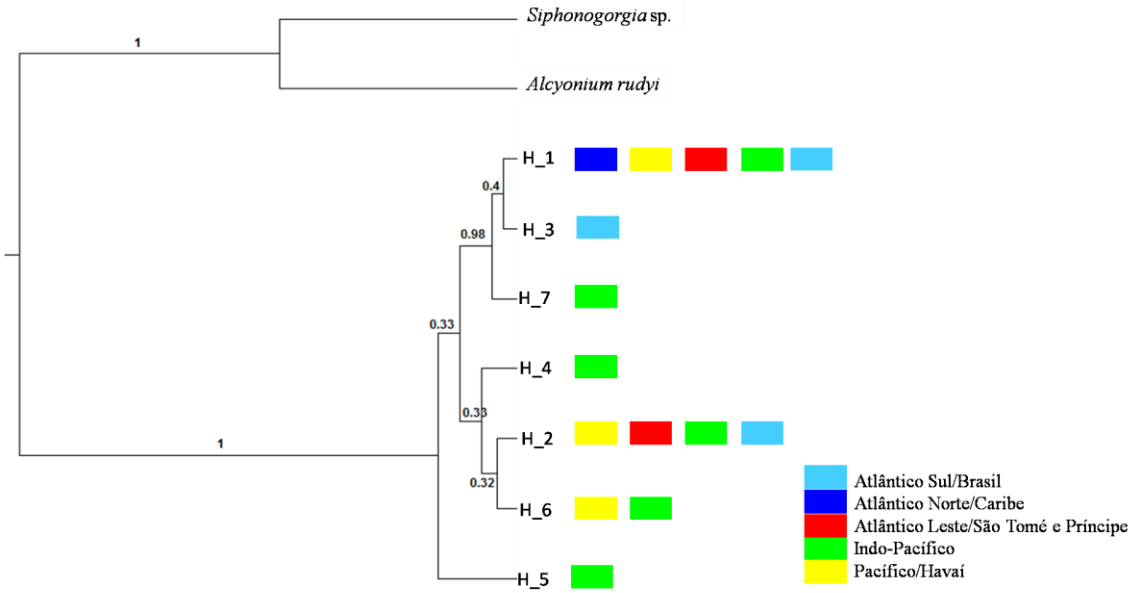

Fig 5 Topologia de Inferência bayesiana para os haplótipos de *Carijoa riisei* encontrados nas diferentes regiões geográficas mundiais para o gene ND2

Discussão

Diversidade genética no Atlântico Sul

A diversidade genética mensurada através do número de haplótipos (h) e da diversidades haplotípica (hd) e nucleotídica (π) no Atlântico Sul/Brasil foi mais elevada nas populações de Pernambuco e Paraíba e menor na população de São Paulo (Tabela 3 e 4; Fig 2). A baixa diversidade genética pode resultar de uma pequena população fundadora ou de um pequeno tamanho efetivo devido à deriva genética ou da depressão endogâmica. Como a variação genética é a matéria-prima que permite as populações evoluirem em resposta a mudanças ambientais, níveis baixos de diversidade genética podem aumentar a vulnerabilidade de uma população para lidar com distúrbios (Nunes et al. 2009). Assim, a baixa diversidade em São Paulo pode sugerir que essa população será menos resistente a futuros episódios de estresse ambiental ou antropogênico, uma vez que, eles não têm o espectro completo de genótipos, alguns dos quais poderiam se sair melhor sob perturbação.

Fluxo gênico no Atlântico Sul

Intercâmbio genético é geralmente monitorado em termos de número significativo de migrantes que se movem entre as populações e entram na população reprodutora em cada geração (Palumbi 2003). A extensão de transporte varia, dependendo da longevidade e do comportamento das larvas e da circulação oceânica (Nunes et al. 2009). Apesar da alta estruturação global (ϕ_{ST} = 0,184), há fluxo gênico entre as populações distibuídas em 2781 km na costa brasileira (Nm global = 2,19), que pode ser corroborado pela frequência de haplótipos de alta frequência compartilhados por todos os locais de estudo (H_2 e H_3; Tabela 4). Apenas um migrante por geração que se assente e faça parte da população reprodutiva é o suficiente para prevenir a acumulação de largas diferenças genéticas e por

outro lado, dez migrantes seriam suficientes para homogeneizar totalmente as populações (Slatkin 1987). Das seis localidades estudadas, apenas duas populações se diferenciaram estatisticamente (Alagoas e São Paulo), o que refletiu na alta estruturação e no baixo fluxo global encontrados. A comparação pareada entre as populações brasileiras revelaram valores de ϕ_{ST} significativos de diferenciação genética entre a população de Alagoas em relação às demais localidades. Da mesma forma a população de São Paulo, que não se diferenciou apenas do estado de Santa Catarina. Contudo, apesar da evidência de auto-recrutamento nessas populações estruturadas, populações separadas em quase 3000 km não apresentaram diferenciação significativa (Ceará *vs.* Santa Catarina), sugerindo que esta espécie tem a capacidade de dispersar ao longo de grandes distâncias com alto fluxo gênico (Tabela 6). Ayre e Hughes (2000) encontraram vários corais incubadores e liberadores de gametas na Grande Barreira de Recifes da Austrália que dependem de auto-recrutamento para a manutenção da população, mas também existe fluxo gênico suficiente entre os recifes para evitar a acumulação de diferenças genéticas.

Sabe-se que *C. riisei* é uma espécie liberadora de gametas que se reproduz ao longo do ano, com larvas que podem nadar por toda a coluna d'água durante um período de competência de até 18 dias em laboratório, com potencial para se dispersar por grandes distâncias (Barbosa et al. 2015; Cap. 2), o que seria de esperar que aumentasse a homogeneização das populações, reduzindo a diferenciação. Praticamente nada se sabe sobre as capacidades de dispersão de *C. riisei* sob condições de campo. Assim, o tempo de competência observado em condições de laboratório pode ser uma subestimação. No seu meio ambiente natural, com as condições físicas e bióticas adequadas, poderia potencializar um maior tempo de vida das larvas que vivem no plâncton (Neves et al. 2008). Algumas espécies de corais que liberam gametas são capazes de manter larvas competentes entre 50-100 dias após a fertilização (Richmond 1987;. Graham et al. 2008).

Portanto, era esperado que a espécie tivesse um alto fluxo gênico entre as populações da costa brasileira, homogeneizando todas as populações. Contudo, há um número crescente de estudos que mostram elevada diferenciação genética em espécies marinhas com grande potencial de dispersão (Palumbi 2003). Quatro corais liberadores de gametas (*Acropora cythere*a, *A. hyacinthus, A. millepora* e *A. valida*) apresentaram variação significativa entre os níveis de subdivisão genética ao longo da Grande Barreira de Corais (Ayre e Hughes 2000).

Considerando as evidências de estruturação populacional em *C. riisei*, verifica-se que, apesar da grande capacidade de dispersão larval apresentada pela espécie, uma série de fatores pode estar limitando o amplo fluxo gênico entre as populações. Uma grande estruturação genética local ocorre quando o fluxo gênico entre populações distintas é impedido ou reduzido por barreiras como a salinidade, temperatura, variação nos padrões de fluxo de correntes e barreiras biogeográficas, levando alguns locais a serem mais propensos a receber larvas do que outros (Benzie e Stoddart 1992; Lee et al. 1994; Limouzy-Paris et al. 1997; Doonan et al. 2011; Fadhlaoui-Zid et al. 2012). Por outro lado, o transporte pode ocorrer, mas os indivíduos que migram podem não ter uma grande chance de recrutamento nos novos habitats. Em alternativa, o recrutamento pode ocorrer, mas a seleção natural pode impedir os migrantes de crescerem e entrarem na população reprodutora (Koehn et al. 1980). Talvez, a alta estruturação genética encontrada na população de Alagoas em relação às demais populações brasileiras, pode ser devido ao efeito de características ambientais locais, que ainda não foram identificadas, já que não existe na área de coleta uma barreira biogeográfica que justifique essa diferenciação. Estudos recentes demonstraram que populações podem ser adaptadas a determinadas condições abióticas locais (por exemplo Barreto et al. 2011), levando ao isolamento genético da população. Em contrapartida, a estruturação genética encontrada na população

de São Paulo com as demais, exceto da população de Santa Catarina, pode estar sob a influência da ressurgência costeira na região de Cabo Frio no estado do Rio de Janeiro (23°01'S, 42° 00'W). Na costa do Brasil, a diferenciação entre populações do Nordeste e Sudeste em diversas espécies de invertebrados foi atribuída a essa ressurgência, representando uma forte barreira ambiental à dispersão (Silva 1992; Maggioni et al. 2003). Contudo, não foi observada estruturação genética entre a população de Santa Catarina com as demais, inclusive com a população de São Paulo. Isso indica que as larvas que são dispersadas pela corrente do Brasil, que atravessam toda a costa Nordestina até o litoral Sul do Brasil (Edwards e Lubbock 1983), não encontram resistência para colonizar a área de Santa Catarina, uma vez que a área de ressurgência de Cabo Frio se estende até São Paulo (Rossi-Wongtschowski e Madureira 2006).

As diferenciações genéticas encontradas nas populações de São Paulo e Santa Catarina são independentes da distância geográfica, dado que o teste de regressão linear simples não indicou uma relação significativa entre as variáveis de distância genética e distância geográfica das populações distribuídas ao longo da costa do Brasil. A topologia de inferência bayesiana não apresentou suporte estatístico suficiente para inferir relações filogeográficas entre os haplótipos.

Diversidade genética em escala mundial

A diversidade genética de *Carijoa riisei* entre as regiões geográficas não é distribuída aleatoriamente, como seria de se esperar em um cenário de panmixia global. Dentro do Oceano Atlântico, observa-se que a maior diversidade genética encontra-se no Atlântico Sul/Brasil, seguida do Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe e por fim, o Atlântico Norte/Caribe (Tabela 7 e 8; Fig 4). Quando todas as regiões geográficas são consideradas, a diversidade genética é maior na região do Indo-Pacífico e menor no

Atlântico Norte/Caribe. A diversidade do Pacífico/Havaí e do Atlântico Total (Leste, Norte e Sul) deve ser um subconjunto da diversidade do Indo-Pacífico.

A menor diversidade genética encontrada no Atlântico Norte/Caribe em relação às demais regiões geográficas não foi devida ao isolamento por distância, mas sim à maior diversidade genética e riqueza alélica encontrada nas demais regiões geográficas (Tabela 7). Uma possível explicação para esse fato é que a população do Atlântico Norte/Caribe é relativamente a mais jovem quando comparado às regiões estudadas, pois apresenta apenas o haplótipo 1, que é possivelmente o ancestral, por ser o mais frequente em todas as regiões estudadas (Tabela 8). Em alternativa, a menor diversidade genética observada no Atlântico Norte/Caribe pode ser o resultado de gargalos recentes ou reduções no tamanho da população, seguido de colonização de um número limitado de indivíduos.

Embora a topologia de inferência bayesiana não tenha apresentado suporte estatístico suficiente para inferir relações filogeográficas entre os haplótipos, loci nucleares e mitocondriais permitiram inferir que a população mais antiga de *C. riisei* está no Indo-Pacífico, seguida pelo Pacífico/Havaí, e o Atlântico/Caribe é a população mais jovem (Concepcion et al. 2010), o que corrobora com este trabalho. Contudo, esses autores não encontraram nenhum haplótipo do Caribe compatilhado com o Havaí, indicando que as populações havaianas derivam do Indo-Pacífico, em vez do Caribe. Neste trabalho encontramos um único haplótipo do Caribe compartilhando com o Havaí, Brasil e Indo-Pacífico.

As sequências provenientes do GenBank de diferentes regiões geográficas do mundo apresentam erros, que culminou na necessidade de cortar as partes finais das sequências do Brasil que alinharam justamente nessa região com defeito. Como conseqüência, as sequências do Brasil passaram de 574 para 532pb, perdendo a parte nucleotídica mais variante captada pelo ND2, que registravam sete dos 10 haplótipos

encontrados para o Brasil. Dos três haplótipos restantes, dois foram os mais frequêntes no mundo e o terceiro foi exclusivo para o Atlântico Sul (Tabela 8; Fig 4), representado pelo haplótipo 10 da Paraíba (Tabela 4; Fig 2). Entretanto, o alinhamento resultante das sequências do Brasil e com as do mundo foi suficiente para retratar um quadro semelhante à diversidade genética encontrada por Concepcion et al. (2010), tal que ambos encontraram uma maior diversidade genética no Indo-Pacífico, seguido do Havaí/Pacífico, e a menor no Caribe/Atlântico.

Fluxo gênico em escala mundial

O valor significativo do ϕ_{ST} em escala mundial (0,137; Tabela 9) indica que existem moderadas diferenças significativas na composição genética entre as populações. Os dados mitocondriais revelam estruturação significativa (ϕ_{ST}=0,223) entre as populações de *C. riisei* abrangendo três regiões separadas por 5617-10828 km no Oceano Atlântico - Caribe, Brasil e Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe (Tabela 10). As diferenças em pares significativas de ϕ_{ST} indicam que o Atlântico Sul/Brasil tem baixa estruturação genética com o Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe e alta estruturação com Atlântico Norte/Caribe. A comparação do Atlântico Sul/Brasil com as regiões do Pacífico/Havaí e Indo-Pacífico mostrou uma estruturação genética moderada entre elas. Contudo, na AMOVA considerando grupos, valores de ϕ_{CT} não foram significativos para formar grupos de qualquer região geográfica com o Atlântico Sul/Brasil (Tabela 10). Esses resultados, aliados aos valores encontrados de Nm global entre as regiões geográficas (Nm = 6,21) e da presença de haplótipos de alta freqüência, indicam que há fluxo gênico das populações do Atlântico Sul com as das demais regiões separadas por escalas espaciais de até 32382 km (Tabela 8 e 11; Fig 4). Em contrapartida, Concepcion et al. (2010) encontrou valores de ϕ_{CT} altos e estatisticamente significativos entre as populações de *C. riisei* do Atlântico

(Caribe, Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe e considerando uma única amostra brasileira), Pacífico/Havaí e Indo-Pacífico, indicando que as populações do Atlântico formam um grupo diferenciado das outras regiões geográficas. No presente estudo, quando considerado o Atântico Sul, Leste e Norte como uma única população representando o todo o Atlântico (Total), valores significativos de ϕ_{CT} também foram encontrados entre as regiões geográficas do Atlântico Total, Indo-Pacífico e Pacífico/Havaí. Este resultado indica essaa separação por grupos se deve exclusivamente ao Atlântico Norte/Caribe, tal que o Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe quando comparado ao Indo-Pacífico e ao Pacífico, diferenciações significativas de ϕ_{CT} não são encontradas, assim como no Atlântico Sul/Brasil como discutido acima (Tabela 10). Portanto, não se pode afirmar que as populações de *C. riisei* de todo o Oceano Atlântico formam um grupo diferenciado das outras regiões geográficas estudadas.

Dentro do Oceano Atlântico pode-se perceber que a população do Atlântico Leste/São Tomé tem uma conectividade alta com o Atlântico Sul/Brasil e com o Atlântico Norte/Caribe. Todavia, o mesmo não pode ser observado entre o Atlântico Sul/Brasil e Norte (Fig 10 e 11). Esse padrão pode ser explicado pelas correntes oceânicas e barreiras biogeográficas do Atlântico. As larvas do Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe (em cima da linha do Equador) podem ser dispersas pela corrente Sul - Equatorial do Oceano Atlântico, que se movimenta no sentido Leste-oeste e sofre uma bifurcação ao alcançar a costa nordestina brasileira (Campos 1995). A corrente que se desvia para o norte é denominada corrente Norte do Brasil, que por sua vez, flui em direção ao Equador/Caribe. A corrente que se volta para o Sul é a corrente do Brasil, que corre superficialmente e circula sobre a plataforma (Signorini 1976; Campos 1995). A bifurcação da corrente Sul-Equatorial em sentidos opostos deve estabelecer um alto fluxo gênico do Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe com o Atlântico Sul/Brasil e Norte/Caribe, dispersando as

larvas que saem do Atlântico Leste/São Tomé e Príncipe para as duas regiões. A estruturação genética encontrada entre o Atlântico Sul/Brasil e Norte/Caribe pode ser também explicada pela bifurcação da corrente Sul-Equatorial, com a corrente do Brasil que flui do Nordeste ao Sul do Brasil (sentido contrário ao Atlântico/Norte), limitando a dispersão das larvas entre essas regiões. Entretanto, a influência da corrente Norte do Brasil possibilita o estabelecimento de um fluxo gênico moderado entre essas regiões (Nm=5,39; Tabela 11). Além disso, entre as duas regiões existem uma forte barreira biogeográfica que é a pluma dos rios Amazonas e Orinoco, que consiste em uma descarga de água doce e sedimentos que se alastra por 2300 km ao longo da costa norte/nordeste da América do Sul/Brasil e adentra 300 km em águas oceânicas. Esta barreira afeta não só a dispersão, mas também o potencial para estabelecer uma nova população depois que a barreira foi cruzada (Rocha et al. 2005). Nunes et al. (2009) através de dados nucleares e mitocondriais revelaram estrutura significativa entre as populações do coral *Montastraea cavernosa* do Brasil e do Caribe, sugerindo que a pluma de água doce dos rios Amazonas e Orinoco também seja uma barreira ao fluxo gênico para essa espécie. Fluxo gênico restrito entre regiões do Atlântico também foi observado para as populações do Caribe e do Brasil para o ouriço do mar *Tripneustes ventricosus* (Lessios et al. 2003).

Análises de regressão linear realizadas entre ϕ_{ST} e a distância geográfica (km) não foram significativas para as populações do mundo, do Atlântico Sul/Brasil, do Atlântico Total (Leste, Norte e Sul), do Pacífico/Havaí e do Indo Pacífico neste estudo. Utilizando o DNAmt, Concepcion et al (2010) encontraram significativo isolamento pela distância nos conjuntos de dados globais e na região do Indo-Pacífico, mas não no Atlântico e no Pacífico/Havaí. Mas com o DNA nuclear, apenas o Atlântico não foi estatisticamente significativo. A diferença entre os estudos pode ser em função do tipo de análise realizada para tal. Concepcion et al (2010) utilizaram uma distância linear entre os locais, enquanto

que este trabalho utilizou a rota mais curta traçada entre os oceanos. Independente do tipo de análise e do tipo de marcador utilizados, as populações do Atlântico não mostram uma relação significativa entre distância genética e geográfica. A ausência de correlação entre distância geográfica e diferenciação genética tem sido observada com freqüência em populações marinhas (Ouriços do mar, Palumbi e Wilson 1990; Corais antipatários, Miller 1997; Anêmonas do mar, Ayre et al. 1991; Corais moles, McFadden 1997; Corais duros, Goffredo et al. 2004). Contudo, processos históricos e/ou vicariantes podem contribuir para o padrão espacial de estruturação populacional das espécies marinhas (Grosberg e Cunningham 2001).

A rota de dispersão natural, mediada pela deriva de larvas planctônicas pode ser modificada por atividades do homem, como o transporte marítimo (Ferreira et al. 2004). Concepcion et al. (2010) sugeriram que as populações do Indo-Pacífico seriam mais antigas que a do Atlântico e refutaram a introdução de *Carijoa* do Atlântico/Caribe para o Havaí. Isto contraria a ideia de que *C. riisei* seria invasor no Havaí, vindo do Atlântico através de navios como sugerido por alguns autores (Thomas 1979; Coles e Eldredge 2002; Calcinai et al. 2004;. Kahng e Grigg 2005). Mesmo que a espécie não seja invasora no Havaí, tem as características propícias a bioinvasão, demonstrando rápida dinâmica populacional, altas taxas de crescimento vegetativo, reprodução sexual contínua com larvas com potencial de ampla dispersão. Estas características favorecem a sua rápida proliferação em ambientes adequados (Barbosa et al. 2014). No Havaí, *C. riisei* ocupa vários tipos de substrato naturais e artificiais e compete diretamente com outras espécies (Grigg 2003; Kahng e Grigg 2005; Kahng e Kelley 2007). No Nordeste brasileiro a espécie é amplamente encontrada nos recifes costeiros, em áreas próximas a estuários, presas a piers e estruturas de madeira, além de serem abundantes em naufrágios, constituindo, assim, parte da comunidade de incrustantes (Amaral et al. 2009/2010). Este padrão de

distribuição se repete em outros estados brasileiros, havendo registros para toda a costa do país, desde o Maranhão (Almeida et al. 2005) até Santa Catarina (Silva e Perez 2002).

Apesar de ser hoje uma das espécies de cnidário mais comum na área costeira, *C. riisei* não foi registrada em abundância em um extenso levantamento dos recifes brasileiros feitos na década de 1960. Laborel (1967, 1969) fez uma detalhada descrição dos recifes costeiros desde o Ceará a São Paulo, descrevendo a comunidade, as principais espécies e a estrutura dos recifes, de forma detalhada para o Nordeste. Em todo o trabalho *C. riisei* (citada como *Telesto riisei*) foi registrada só na região de Abrolhos na Bahia e no Canal de São Sebastião em São Paulo. Na descrição dos recifes costeiros do Nordeste do país, o autor não registra a presença de *C. riisei*, mesmo tendo visitado áreas onde a espécie hoje é muito abundante. Os primeiros registros para o litoral brasileiro foram feitos por Müller em 1867 como *Carijoa rupicola* para a região de Desterro (hoje Florianópolis) e por Laackmann em 1909 como *Telesto rupicola* para a costa de Rio do Janeiro (Müller 1867 e Laackmann 1909 in Bayer 1961). O primeiro registro para a região costeira do Nordeste foi feito por Tixier-Durivault em 1970 para Maceió, estado de Alagoas, coletado pela expedição Calypso realizada nos anos de 1961-1962 na América do Sul (Tixier-Durivault 1970). Esta situação, junto com a informação de que a espécie é nativa do Indo-Pacífico (Concepcion et al. 2010) e com os resultados apresentados neste trabalho, leva a suspeitar que *C. riisei* possa ter chegado mais recentemente ao litoral do Atlântico Sul/Brasil pelo Atlântico Leste ou pelo Indo-Pacífico, introduzida através de dispersão natural por suas larvas de longa duração ou acidentalmente, aderida nos cascos de barcos. A presença de larvas e cistos de organismos marinhos em água de lastro é normalmente apontada como a principal causa do incremento de espécies exóticas (Carlton 1985; Smith et al. 1999). Porém, recentemente, outros vetores de bioinvasão em ecossistemas marinhos, como bioincrustação em cascos de navios têm sido considerados tão importantes como a água de

lastro (Gollasch 2002). Em grande escala de tempo e espaço, as bioinvasões podem causar a homogeneização da biota, alterando padrões evolutivos (Carroll e Dingle 1996; Williamsom 1996; Cox 1999). Resultados inconsistentes e não-significantes para Tajima D e de F_S de Fu encontrados neste trabalho, indicam que *C. riisei* tem uma história demográfica estável em toda a gama geográfica estudada.

As populações estudadas de *C. riisei* não apresentaram um cenário de panmixia ao longo de grandes distâncias geográficas como esperado para espécies que liberam gametas e apresentam larvas de longa duração. Contudo, apesar de *C. riisei* apresentar estruturação genética dentro do Atlântico Sul, e entre esta região com as demais, há fluxo gênico histórico suficiente conectando as populações em grandes escalas espaciais. De acordo com as características comportamentais propícias a bioinvasão da espécie relatadas neste estudo, a ausência de correlação significativa da diferenciação genética com a distribuição geográfica no Atlântico Sul e a maior diversidade genética estar no Indo-Pacífico, sugere-se que *C. riisei* seja não-nativa do Atlântico Sul.

Agradecimentos

Aos pesquisadores que gentilmente coletaram amostras para esta pesquisa. FACEPE- Fundação de Apoio a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pela bolsa de Doutorado de TM Barbosa. Este estudo foi financiado pelo CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Edital PROTAX 2010 - 562320/2010-5) e pela FACEPE - Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (APQ-0828-2.04/12).

Referências

Almeida, LV, Perez CD, Silva BGT (2005) Octocorais (Cnidaria, Anthozoa) do litoral Maranhense, Brasil. Trop Ocean, Recife 33(1): 73–78

Amaral FD, Farrapeira CMR, Lira SMA, Ramos CAC (2009/2010) Benthic macrofauna inventory of two shipwrecks from Pernambuco coast, northeastern of Brazil. Rev Nord Zool 4: 24–41

Ayre DJ, Read J, Wishart J (1991) Genetic subdivision within theeastern Australian population of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. Mar Biol 109:379–390

Ayre DJ, Dufty SL (1994) Evidence for restricted gene flow in the viviparous coral *Seriatopora hystrix* on Australia's Great Barrier Reef. Evolution 48:1183–1201

Ayre DJ, Hughes TP, Standish RJ (1997) Genetic differentiation, reproductive mode, and gene flow in the brooding coral *Pocillopora damicornis* along the Great Barrier Reef, Australia. Mar Ecol Prog Ser 159:175–187

Ayre DJ, Hughes TP (2000) Genotypic diversity and gene flow in brooding and spawning corals along the Great Barrier Reef, Australia. Evolution 54(5): 1590–1605

Ayres M, Ayres-Júnior M, Ayres DL, Santos AA (2007) BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Ong Mamiraua. Belém, PA

Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol 16(1): 37-48

Barber RT, Hilting AK, Hayes ML (2001) The changing health of coral reefs. Hum Ecol Risk Assess 7:1255–1270

Barbosa TM, Gomes PB, Bergeron A-S, Santos AM, Chagas C, Freitas SEM, Perez CD (2014) Comparisons of sexual reproduction in *Carijoa riisei* (Cnidaria, Alcyonacea) in South Atlantic, Caribbean, and Pacific areas. Hydrobiologia 734:201–212

Bayer F (1961) The shallow-water Octocorallia of the West Indian Region. A manual for marine biologists. Martinus Nijhoff, The Hague, p373

Bellwood D, Hughes T, Folke C, Nystrom M (2004) Confronting the coral reef crisis. Nature 429:827–833

Benzie JAH, Stoddart JA (1992) The genetic structure of outbreaking and non-outbreaking crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) populations on the Great Barrier Reef. Mar Biol 112:119–30

Bilewitch JP, Degnan SM (2011) A unique horizontal gene transferevent has provided the octocoral mitochondrial genome with an active mismatch repair gene that has potential for an unusual self-contained function. BMC Evol Biol 11:228

Calcinai B, Bavestrello G, Cerrano C (2004) Dispersal and association of two alien species in the Indonesian coral reefs: the octocoral *Carijoa riisei* and the demosponge *Desmapsamma anchorata*. J Mar Biol Assoc UK 84: 937–941

Campos EJD (1995) Estudos da circulação oceânica no Atlântico tropical e região oeste do Atlântico Subtropical Sul. Tese de livre docência. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico

Carlon DB (1999) The evolution of mating systems in tropical reef corals. Trends Ecol Evol 14:491–495

Carlton JT (1979) History, biogeography, and ecology of the introduced marine invertebrates of the Pacific coast of North America. D.Sc. University of California. California

Carlton JT (1985) Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organisms: the biology of ballast water. Oceanogr Mar Biol 23:313-371

Carroll SP, Dingle H (1996) The biology of post-invasions events. Biol Conserv, 78:207-214

Clarke KR, Gorley RN (2006) Primer v6: user manual/tutorial. PRIMER-E, Plymouth

Coles SL, Eldredge LG (2002) Nonindigenous species introductions on coral reefs: a need for information. Pac Sci 56: 191–209

Concepcion GT, Crepeau MW, Wagner D, Kahng SE, Toonen RJ (2008) An alternative to ITS, a hypervariable, single-copy nuclear intron in corals, and its use in detecting cryptic species within the octocoral genus *Carijoa*. Coral Reefs 27: 323–336

Concepcion, GT, Kahng SE, Crepeau MW, Franklin EC, Coles SL, Toonen RJ (2010) Resolving natural ranges and marine invasions in a globally distributed octocoral (genus *Carijoa*). Mar Ecol Prog Ser 401:113–127

Cornish AS, DiDonato EM (2004) Resurvey of a reef flat in American Samoa after 85 years reveals devastation to a soft coral (Alcyonacea) community. Mar Pollut Bull 48:768–777

Cote IM, Gill JA, Gardner TA, Watkinson AR (2005) Measuring coral reef decline through meta-analyses. Phil Trans R Soc B 360:385–395

Cox GW (1999) Alien species in North America and Hawaii: impacts on natural ecosystems. Island Press, Washington, DC.

Doonan J, Beatty GE, Sigwart JD, Provan J (2012). Extensive local-scale gene flow and long-term population stability in the intertidal mollusc *Katharina tunicata* (Mollusca: Polyplacophora). Biol J Linnean Soc 106 (3):589–597

Edwards A, Lubbock R (1983) Marine zoogeography of St. Paul's Rocks. J Biogeography 10:65-72

Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131:479-491

Excoffier L, Lischer HE (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mol Ecol Res, 10(3), 564-567

Fadhlaoui-Zid K, Knittweis L, Aurelle D, Nafkha C, Ezzeddine S, Fiorentino F, Ghmati H, Ceriola L, Jarboui O, Maltagliati F (2012) Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda, Octopodidae) in the central Mediterranean Sea inferred from the mitochondrial COIII gene. C R Biol 335:625-636

Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: na approach using the bootstrap. Evolution 783-791.

Ferreira CEL, Gonçalvez JEA, Coutinho R (2004) Cascos de navios em plataformas como vetores na introdução de espécies exóticas. In: Silva JSV, Souza RCCL (Org.). Água de lastro e bioinvasão, Rio de Janeiro, Ed. Interciência, p. 143–155

France SC, Hoover LL (2001) Analysis of variation in mitochondrial DNA sequences (ND3, ND4L, MSH) among Octocorallia (=Alcyonaria) (Cnidaria: Anthozoa). Bull Biol Soc Wash 10:110–118

Fu Y (1997) Statistical Tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics 147: 915-925

Fuchs Y, Douek J, Rinkevich B, Ben-Shlomo R (2006) Gene diversity and mode of reproduction in the brooded larvae of the coral *Heteroxenia fuscescens*. J Hered 97(5):493–498

Goffredo S, Mattioli G, Zaccanti F (2004) Growth and population dynamics model of the Mediterranean solitary coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophylliidae). Coral Reefs 23(3):433-443

Gollasch S (2002) The importance of ship hull fouling as a vector of species introductions into the North Sea. Biofouling 18:105-121

Gomes PB, Lira AKF, Naud J-P, Santos AM, Perez CD (2012) Prey selectivity of the octocoral *Carijoa riisei* at Pernambuco, Brazil. An Acad Bras Ciênc 84: 157–164

Google Inc. (2013) Google Earth. Mountain View, CA

Graham EM, Baird AH, Connolly SR (2008) Survival dynamics of scleractinian coral larvae and implications for dispersal. Coral Reefs 27:529–539

Grigg RW (2003) Invasion of a deep water coral bed by an alien species, *Carijoa riisei*. Coral Reefs 22: 121–122

Grosberg RK, Cunningham CW (2001) Genetic structure in the sea: from populations to communities. Marine Community Ecology (M. D. Bertness, S. Gaines, and M. E. Hay, eds.), Sinauer Associates, Sunderland, MA, p61-84

Herrera S, Baco A, Sánchez JA (2010) Molecular systematics of the bubblegum coral genera (Paragorgiidae, Octocorallia) and description of a new deep-sea species. Molecular Phylogenet and Evol 55:123–135

Herrera S, Shank TM, Sánchez JA (2012) Spatial and temporal patterns of genetic variation in the widespread antitropical deep-sea coral *Paragorgia arborea*. Mol Ecol 21:6053–6067

Hellberg ME (1995) Stepping-stone gene flow in the solitary coral *Balanophyllia elegans*: equilibrium and non-equilibrium at different spatial scales. Mar. Biol. 123:573–581

Hughes TP, Baird AH, Dinsdale EA, Moltschaniwskyj NA, Pratchett MS, Tanner JE, Willis BL (2000) Supply-side ecology works both ways: the link between benthic adults, fecundity, and larval recruits. Ecology 81:2241–2249

Kahng SE, Grigg RW (2005) Impact of an alien octocoral, *Carijoa riisei*, on black corals in Hawaii. Coral Reefs 24:556–562

Kahng SE, Kelley C (2007) Vertical zonation of habitat forming benthic species on the deep reef (60–150 m) in the Au'au Channel, Hawaii. Coral Reefs 26: 679–687

Koehn RK, Newell RIE, Immerman F (1980) Maintenance of an aminopeptidase allele frequency cline by natural selection. Proc Natl Acad Sci USA 77:5385–5389

Laborel J (1967) Les peuplements de Madréporaires des côtes tropicales du Brésil. Faculté des Sciences de l'Université d'Aix-Marseille, partI. p162

Laborel J (1969/70) Madréporaires et hydrocoralliaires récifaux dês côtes brésiliennes. Systématique, écologie, répartition verticale et géographique. Annales de l'Institut Océanographique 47: 15-229

Lira AKF, Naud JP, Gomes PB, Santos AM, Perez CD (2009) Trophic ecology of the octocoral *Carijoa riisei* from littoral of Pernambuco, Brazil. I. Composition and spatio-temporal variation of the diet. J Mar Biol Assoc UK 89:89–99

Lee T, Clarke ME, Williams E, Szmant AF, Berger T (1994) Evolution of the Tortugas Gyre and its influence on recruitment in the Florida Keys. Bull Mar Sci 54:621–646

Lessios HA, Kane J, Robertson DR (2003) Phylogeography of the pantropical sea urchin Tripneustes: contrasting patterns of population structure between oceans. Evolution 57:2026–2036

Librado P; Rozas J (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25 (11): 1451–1452

Limouzy-Paris CB, Graber HC, Jones DL, Ropke AW, Richards WJ (1997) Translocation of larval coral reef fishes via sub-mesoscale spin-off eddies from the Florida current. Bull Mar Sci 60:966–983

Maggioni R, Rogers AD, Maclean N (2003) Population structure of *Litopeneans schmitti* (Decapoda, Penaeidae) from the Brazilian coast identified using six polymorphic microsatellite loci. Mol Ecol 12: 3213–3217

Maruyama T, Fuerst PA (1984) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. Genetics 108 (3): 745–763

Maruyama T, Fuerst PA (1985) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. Genetics. 111(3): 675–689

McFadden CS, Aydin KY (1996) Spatial autocorrelation analysis of small-scale genetic structure in a clonal soft coral with limited larval dispersal. Mar Biol 126:215–224

McFadden CS (1997) Contributions of sexual and asexual reproduction to population structure in the clonal soft coral *Alcyonium rudyi*. Evolution 51:112–126

McFadden CS, Tullis ID, Breton Hutchinson M, Winner K, Sohm JA (2004) Variation in coding (NADH dehydrogenase subunits 2, 3, and 6) and noncoding intergenic spacer regions of the mitochondrial genome in Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa). Mar Biotechnol 6:516–526

McFadden CS, Sánchez JA, France SC (2010) Molecular phylogenetic insights into the evolution of Octocorallia: a review. Integr Comparat Biol 50:389–410

Miller KJ (1997) Genetic structure of black coral populations in New Zealand's fiords. Mar Ecol Prog Ser 161:123–132

Neves BM, Lima EJB e Perez CD (2007) Brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) associated with the octocoral *Carijoa riisei* (Cnidaria: Anthozoa) from the littoral of Pernambuco, Brazil. J Mar Biol Assoc UK 87:1263–1267

Neves EG, Andrade SC, Silveira FL, Solferini VN (2008) Genetic variation and population structuring in two brooding coral species (*Siderastrea stellata* and *Siderastrea radians*) from Brazil. Genetica, 132(3):243-54

Nunes F, Norris RD, Knowlton N (2009) Implications of isolation and low genetic diversity in peripheral populations of an amphi-Atlantic coral. Mol Ecol 18: 4283–4297

Palumbi SR, Wilson AC (1990) Mitochondrial DNA diversity in the sea urchins *Strongylocentrotus purpuratus* and *S. droebachiensis*. Evolution 44:403–415

Palumbi SR (2003) Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. Ecol Appl 13(1):S146–S158

Pérez CD (2002) Octocorais (Cnidaria, Anthozoa) do litoral Pernambucano (Brasil). In Tabarelli, M. e J. M. Silva (eds), Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco. Editora Massangana, Recife: 365–368

Posada D. (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging Richmond RH (1987) Energetics, competence, and longdistance dispersal of planula larvae of the coral Pocillopora damicornis. Mar Biol 93:527–533

Ramos-Onsins SE, Rozas J (2002) Statistical properties of new neutrality tests against population growth. Mol Biol Evol 19(12): 2092–2100

Rocha LA, Robertson DR, Rocha CR (2005) Recent invasion of the tropical Atlantic by an Indo-Pacific coral reef fish. Mol Ecol 14:3921–3928

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572–1574

Rossi-Wongtschowski, CLDB, Madureira, LSP (2006) O ambiente oceanográfico da plataforma continental e do talude na região sudeste-sul do Brasil. Ed USP, São Paulo, p.466

Rozas J, Sánchez-DeI, Barrio JC, Messegyer X, Rozas R (2003) Dnasp: DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19, 2496–2497

Shearer TL, Van Oppen MJH, Romano SL, Worheide G (2002) Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). Mol Ecol 11:2475–2487

Signorini SR, Miranda LB, Evans DL, Stevenson MR, Inostroza HM (1989) Corrente do Brasil: estrutura térmica entre 19º e 25ºS e circulação geostrófica. Bolm Inst Oceanog 37(1):33-49

Silva EP (2002) Especiação no ambiente marinho In: Pereira RP, Soares-Gomes A (Ed). Biol Mar, Ed. Interciência, Rio de Janeiro, p.35-47

Silva BT, Perez CD (2002) Diagnosis Del Conocimiento de la Fauna de Octocorales (Cnidária, Anthozoa) de la Región Nordeste de Brasil. Trop Ocean 30(1): 15-22

Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 236:787-792

Smilansky V, Lasker HR (2014) Fine-scale genetic structure in the surface brooding Caribbean octocoral, *Antillogorgia elisabethae*. Mar Biol 161:853–861

Smith LD, Wonham MJ, Mccann LD, Ruiz GM, Hines AH, Carlton JT (1999) Invasion pressure to a ballast-flooted estuary and an assessment of inoculants survival. Biol Invasions 1:67-87

Souza JRB, Rodrigues HA, Neves BM, Pérez CD (2007) First report of bristleworm predator of the reef octocoral *Carijoa riisei*. Coral Reefs 26:1033

Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics 123: 585-595

Thomas WJ (1979) Aspects of the Micro-community Associated with *Telesto riisei* an Introduced Alcyonarian Species. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu

Tixier-Durivault A (1970) Octocoralliaires. Campagne de la "*Calypso*" au large des côtes atlantiques de l'Amérique du Sud (1961–1962). Ann Inst Océan 47:145–169

Vermeij MJA, Sampayo E, Broker K, Bak RPM (2004) The reproductive biology of closely related coral species: gametogenesis in Madracis from the southern Caribbean. Coral Reefs 23:206–214

Williamsom, M. 1996. Biological invasions. Chapman and Hall, London, UK

Yoneshigue Y (1985) Taxonomie et écologie des algues marines dans la region de Cabo Frio-Rio de Janeiro, Brésil. Tese. Université d' Aix Marseille II Facuité de Sciences de Luminy

7. Conclusões

- Há alta variabilidade morfológica em *C. riisei* em diferentes ambientes (naufrágios, recifes costeiros e estuários), o que provavelmente favorece a adaptação da espécie em condições ecológicas heterogêneas, contribuindo para a sua ampla distribuição. No entanto, a espécie não apresentou diferenciação genética entre as populações estudadas e exibiu um alto fluxo gênico. Assim, a alta variabilidade morfológica de *C. riisei* encontrada neste estudo é devido à plasticidade fenotípica em resposta a mudanças ambientais, e não ao acúmulo de diferenças genéticas devido à interrupção do fluxo gênico entre as populações.

- O parâmetro morfológico, densidade dos pólipos, não apresentou variabilidade significativa, demonstrando ser um caráter estável entre os indivíduos, útil para a taxonomia do grupo.

- A espécie apresenta larvas com potencial para se dispersar por amplas distâncias, devido ao longo tempo de vida e a capacidade de nadar por toda a coluna d'água.

- *Carijoa riisei*, em pequena escala geográfica espacial, é uma única população panmítica.

- No entanto, as populações estudadas de *C. riisei* não apresentaram um cenário de panmixia ao longo de grandes distâncias geográficas como esperado para espécies que liberam gametas e apresentam larvas de longa duração.

* Apesar da estruturação genética observada nas populações do Atlântico Sul, e entre esta região com as demais, há fluxo gênico conectando as populações de forma suficiente para impedir o isolamento reprodutivo.