

Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Instituto de Biologia  
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva

**Lívia Peluso Azevedo**

Conectividade genética do coral endêmico *Mussismilia hispida*  
(Scleractinia: Mussidae) ao longo da costa brasileira



Rio de Janeiro  
2015

Lívia Peluso Azevedo

**Conectividade genética do coral endêmico  
*Mussismilia hispida* (Scleractinia: Mussidae) ao  
longo da costa brasileira**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Biologia Evolutiva.

Orientadora: Carla Zilberberg

Fotos da capa: Caetano Dable e Fábio Negrão.

Rio de Janeiro  
2015

A994 Azevedo, Livia Peluso  
Conectividade genética do coral endêmico *Mussismilia hispida*  
(Scleractinia: Mussidae) ao longo da costa brasileira / Livia Peluso  
Azevedo. –Rio de Janeiro: UFRJ, 2015.

80f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva,  
2015.

Orientadora: Carla Zilberberg.

1. *Mussismilia hispida*. 2. Corais. 3. Scleractinia. I. Universidade  
Federal do Rio de Janeiro. II. Título.

CDD 574.91

Lívia Peluso Azevedo

**Conectividade genética do coral endêmico  
*Mussismilia hispida* (Scleractinia: Mussidae) ao  
longo da costa brasileira**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Biologia Evolutiva.

Aprovada em

---

Dra. Carla Zilberberg, UFRJ

---

Dr. Antonio Solé Cava, UFRJ

---

Dr. Eduardo M. Hajdu, Museu Nacional

---

Dra. Haydée Cunha, UERJ

---

Dr. Edson Pereira, UFF (Suplente)

---

Dr. Paulo Paiva, UFRJ (Suplente)

## AGRADECIMENTOS

O meu primeiro agradecimento é para minha mãe acadêmica, Carla. Muito obrigada por ter me ensinado tudo, por ter me orientado nesses últimos cinco anos, por ter me feito amar fazer pesquisa, por ter feito eu me apaixonar pelos corais, por ter me dado bronca, por ter me dado diversas oportunidades incríveis, por ter sido uma grande amiga. Já falei isso mil vezes e repito aqui de novo, tive muita sorte de ter te encontrado logo no primeiro estágio que fui fazer.

Agradeço ao Prof. Clóvis Barreira e Castro e a Profa. Débora Oliveira Pires por todo apoio, discussões e idéias que deram para esse projeto. Obrigada a Dra. Flavia Nunes pelas idéias e coletas de parte das amostras e também ao Dr. Emiliano Calderon pela ajuda nas coletas das colônias e do material de desova.

Fico agradecida ao Projeto SISBIOTA-Mar por ter proporcionado amostras do Brasil inteiro e principalmente das ilhas oceânicas. Ao projeto agradeço também pelas reuniões, que sempre levaram a discussões muito interessantes e me incentivaram e empolgaram mais para entender a conectividade dos corais.

Fico muito agradecida ao Projeto Coral Vivo e toda sua equipe pelo apoio nas coletas de *Mussimilia hispida* na Bahia e por todo apoio logístico. Agradeço ao Fábio Negrão pelas coletas de Abrolhos e fotos disponibilizadas e ao Projeto BIOTA, principalmente aos Profs. Paulo Paiva, Fabio Pitombo e Renato Ventura, pelas coletas em Angra dos Reis.

Agradeço aos professores Antonio Solé-Cava, Michelle Klautau e Paulo Paiva pela disponibilidade de espaço de trabalho nos seus laboratórios e a todos os integrantes dos laboratórios LBDM, LABIPOR e LABPOLY que sempre foram muito prestativos. Obrigada especialmente ao Msc. Victor Correa Seixas, Msc. André Padua e ao Prof. Anderson Vilasboa de Vasconcellos pela ajuda com as análises e as genotipagens.

Agradeço ao Prof. Rodolpho Albano da UERJ, por ter cedido o uso do seu sequenciador e a técnica Denise por fazer as eletroforeses dos microssatélites. Fico agradecida também a Profa. Cátia Barbosa da UFF pela disponibilidade e ajuda prestada.

Agradeço muito a todo o pessoal do LABICNI, por todo apoio, amizade, risadas, discussões, PCRs e géis quebrados. Todos já me ajudaram, desde uma extração de *Mussismilia*, durante o treinamento, ou tirando um PCR pra mim porque tinha que ir embora mais cedo, muito obrigada. Não posso deixar de agradecer muito a Veronica Tascheri, pela grande ajuda com os mil PCRs e géis que tivemos que fazer e pela amizade que vou levar sempre. Um obrigada especial para Amana Garrido, pelas coletas e perrengues que

sofremos, pelos nossos mil projetos paralelos, pelas nossas discussões sobre a *Mussismilia hispida*, por tirar mil dúvidas sempre que eu preciso, pelo companheirismo e pela grande amizade.

Agradeço a FAPERJ pela minha bolsa de mestrado e ao PPGBBE pelas disciplinas oferecidas e também por recursos disponibilizados para coleta.

Agradeço ao Caetano pelo companheirismo nesses últimos anos, por me aguentar nesta fase final, por aguentar todas minhas viagens pra Bahia e por sempre me fazer muito feliz.

Agradeço também aos meus amigos, que reclamaram da minha ausência durante meu período de reclusão social enquanto estava escrevendo, pela companhia, por aguentar meu papo de bióloga, pelas cervejas e carinho sempre. Agradeço também aos meus primos e primas quase irmãos, por todas nossas saídas e festas de família. Vocês fazem a minha vida muito mais divertida.

Por último, não posso deixar de agradecer muito a minha família linda, todas minhas tias, meus tios, minhas avós e meus primos e primas. Agradeço principalmente a minha mãe, Cícero, meu pai, Fátima e meus irmãos, pelo apoio e amor.

## RESUMO

Entender como as populações estão conectadas, ou seja, o quanto elas trocam indivíduos entre si e o quanto elas são interdependentes, tem grande importância evolutiva e ecológica. O coral escleractíneo endêmico *Mussismilia hispida* é um dos principais organismos construtores dos recifes brasileiros. Esse coral possui um ciclo reprodutivo anual e já foi observado uma assincronia na época da liberação de gametas entre diferentes regiões ao longo da sua distribuição. Tal fato poderia causar um isolamento reprodutivo entre suas populações e levanta diversas perguntas acerca da sua conectividade, já que esse coral ocorre por toda a extensão costeira do Brasil. Devido a importância de compreender a conectividade de uma espécie e visto que não existem estudos sobre esse tema para nenhum coral brasileiro, o objetivo do presente estudo foi descrever como as populações de *M. hispida* estão conectadas. Como métodos diretos de estimar a conectividade são escassos para corais, foram utilizados marcadores moleculares afim de avaliar seus padrões de dispersão. Para tal, foram amostradas quinze localidades ao longo da costa, incluindo ilhas oceânicas. Onze *loci* de microssatélites específicos foram amplificados e, a partir dos genótipos obtidos, foram estimadas a diversidade genética, o padrão de estruturação e a direção do fluxo gênico dessa espécie. A assincronia reprodutiva reportada previamente para essa espécie parece não interferir no fluxo gênico observado, já que regiões com épocas reprodutivas distintas estão conectadas e regiões com épocas reprodutivas concomitantes encontram-se estruturadas. Os indivíduos de *M. hispida* podem ser divididos em cinco populações, sendo estas: população Norte (estados da região Norte); população Ilhas (Atol das Rocas, Fernando de Noronha e Ilha de Trindade); população NE/ES (da Paraíba até Espírito Santo); população Região dos Lagos (centro do Rio de Janeiro); e população Limite Sul (sul do Rio de Janeiro e São Paulo). A população mais diferenciada é a do Limite Sul, sendo esta também uma região sumidouro, além de possuir a menor diversidade genética. As populações mais centrais, NE/ES e Região dos Lagos, podem ser consideradas locais fonte, que exportam larvas para as demais. Observou-se uma estruturação genética das ilhas oceânicas em relação a populações da costa, podendo ser explicada pelo oceano aberto funcionando como barreira, e parece ser comum a outros organismos. Fica claro também a presença de uma barreira para a dispersão na Região dos Lagos, provavelmente devido à ressurgência, o que parece novamente não se limitar a essa espécie. Além disso, as principais direções de fluxo gênico dessa espécie ficam evidentes, o que, aliado às estimativas de diversidade genética aqui feitas, serão uma ferramenta de grande importância para estratégias de manejo adequadas.

## ABSTRACT

Understand how populations are connected, that is, how much they exchange individuals and are interdependent, is ecologically and evolutionary significant. The scleractinian endemic coral *Mussismilia hispida* is one of the main reef builders in Brazilian reefs. This coral has an annual reproductive cycle and it has been observed an asynchrony in its time of gamete release among different regions within its distributional range. This fact could cause a reproductive isolation among its populations and raises several questions about their connectivity, since this coral occurs along the entire coast of Brazil. Due to the importance of understanding a species' connectivity and since there are no studies about this matter for none of the Brazilian corals, the goal of the present study was to describe how *M. hispida* populations are connected. As direct methods for estimating connectivity are scarce for corals, molecular markers were used to estimate its dispersal patterns. For that, fifteen sites were sampled along the coast, including oceanic islands. Eleven specific microsatellite *loci* were amplified and from the genotypes obtained the genetic diversity, structure pattern and gene flow direction were estimated. The reproductive asynchrony previously reported for this species does not appear to interfere with the observed gene flow, since regions with distinct reproductive periods were connected and regions with similar reproductive periods were structured. *M. hispida* individuals can be divided into five populations: North population (states from the Northern region), Island population (Atol das Rocas, Fernando de Noronha and Trindade Island); NE/ES population (from Paraíba state to Espírito Santo state); 'Região dos Lagos' population (central portion of Rio de Janeiro state); and South Limit population (south of Rio de Janeiro state and São Paulo state). The most differentiated population is the South Limit, also being a sink population, besides having the smallest genetic diversity. The central populations of NE/ES and 'Região dos Lagos' can be considered source populations that export larvae to the others. Genetic structure was observed between the oceanic islands and the coast populations, which could be explained by the open ocean working as a barrier, and may be common to other organisms. It is also clear the presence of a dispersal barrier for the Região dos Lagos, probably due to an upwelling event that again does not appears to be limited to this species. Furthermore, the main directions of gene flow are evident, that together with the estimative of genetic diversities here calculated, will be an important tool for adequate management strategies.

## LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1: Representação dos processos que determinam a dispersão larval e a conexão entre populações, modificado de Cowen e Sponaugle (2009). Esses processos estão abreviados na figura e são os seguintes: produção da desova, dispersão larval (correntes), dispersão larval e comportamento, sobrevivência à predação, disponibilidade de habitat favorável, sobrevivência pós-assentamento. Pag. 17
- Fig. 2: A origem da Corrente do Norte do Brasil (CNB) e da Corrente do Brasil pela Corrente Sul Equatorial. Em destaque, o sistema de contra correntes alimentado pela CNB. Retirado de Johns et al. (1998). Pag. 22
- Fig. 3: A Corrente do Brasil (CB) e os principais vórtices encontrados ao norte de 20°S (A), sendo eles o Vórtice de Ilhéus (VI), o Vórtice Royal-Charlotte (VRC) e o Vórtice de Abrolhos (VAb) e os vórtices ao sul de 20°S (B), sendo eles o Vórtice de Vitória (VV) e o Vórtice Sul de Vitória (VSV). Mapas retirados de Soutelino (2008) e Arruda et al.(2013), respectivamente. Pag. 22
- Fig. 4: Fotos de *Mussismilia hispida* em campo, na Ilha Grande, RJ (A) (Foto de Caetano Dable) e em Abrolhos, BA (B) (Foto de Fábio Negrão). Pag. 24
- Fig. 5: Mapa da região onde foram feitas as coletas no Oceano Atlântico (A) e das localidade dos pontos de coleta ao longo da costa brasileira (B). Em losango vermelho estão demarcados os pontos: Parcel do Manuel Luís, MA (PML), Fortaleza, CE (FZ), Atol das Rocas, RN (AR), Fernando de Noronha, PB (FN), João Pessoa, PB (JP), Tamandaré, PE (TE), Salvador, BA (SA), Porto Seguro, BA (PS), Complexo Recifal de Abrolhos, BA (AB), Guarapari, ES (GP), Ilha de Trindade, ES (TR), Armação dos Búzios, RJ (BZ), Arraial do Cabo, RJ (AC), Ilha Grande, RJ (IG) e Ilha Bela, SP (IB). Pag. 29

Fig. 6: Número total de alelos ( $N_a$ ) encontrado em cada um dos *loci* analisados, com o número de alelos compartilhados por todas as localidades ( $N_{ac}$ ) e o número de alelos exclusivos de uma localidade ( $N_{aex}$ ). Pag. 37

Fig. 7: Correlação entre a distância genética ( $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ) e a distância geográfica (Km) das quinze localidades analisadas, mostrando também uma linha de regressão de Eixo Principal Reduzido calculada pelo programa IBDWS. Pag. 39

Fig. 8: Gráfico de dispersão da Análise Fatorial de Correspondência (A) e a aproximação da imagem para melhor visualização dos pontos (B). Cada ponto corresponde a um indivíduo e a cor corresponde à localidade na qual ele foi coletado. Pag. 41

Fig. 9: Número de populações mais provável de acordo com o programa Structure. Em A o método de  $\Delta(k)$  e em B o de maior média de verossimilhança ( $\ln PD$ ). Pag. 42

Fig. 10: Compilação dos dez gráficos em barras gerados pelo programa Structure para  $k=2$  (A),  $k=3$  (B),  $k=4$  (C) e  $k=5$  (D), nas análises sem informação de localidade *a priori*. Cada barra vertical corresponde ao genótipo composto de um indivíduo e as cores correspondem à proporção do genótipo pertencente a uma determinada população. As barras pretas separam indivíduos de uma mesma localidade. Pag. 43

Fig. 11: Compilação dos dez gráficos em barras gerados pelo programa Structure para  $k=2$  (A),  $k=3$  (B),  $k=4$  (C) e  $k=5$  (D), nas análises com informação de localidade *a priori*. Cada barra vertical corresponde ao genótipo composto de um indivíduo e as cores correspondem à proporção do genótipo pertencente a uma determinada população. As barras pretas separam indivíduos de uma mesma localidade. Pag. 44

Fig. 12: Gráfico de dispersão da Análise Fatorial de Correspondência utilizando as populações definidas no Structure para  $k=3$  (A),  $k=4$  (B) e  $k=5$ . Cada ponto corresponde a um indivíduo e a cor corresponde às populações de acordo com a análise do Structure. Somente a aproximação da imagem para melhor visualização dos pontos foi representada e o gráfico original pode ser visto na Figura 8 A.

Fig. 13: Esquema dos modelos de migração, onde as setas indicam a direção do fluxo de migração entre as populações que foram estimadas. A ausência de setas indica que tal direção de fluxo gênico não foi estimada pelo modelo, sendo considerada zero. Os modelos testados foram: modelo 1 (A), modelo 2 (B), modelo 3 (C), modelo 4 (D), modelo 5 (E) e modelo 6 (F). Os valores abaixo indicam a distribuição marginal de verossimilhança (lnML) pela aproximação de Bezier de cada um dos modelos.

Fig. 14: Mapa esquemático com as populações e o fluxo gênico estimado entre elas. Localidades que apresentam a mesma cor indicam uma mesma população.

Fig. 15: Gráfico em barras mostrando a proporção dos alelos exclusivos de cada população, dos alelos compartilhados entre duas populações e dos alelos compartilhados entre as três populações para cada um dos *loci* e para todos os *loci* juntos (total).

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Período reprodutivo anual estimado para *M. hispida*, indicado pelos meses marcados em cinza, nas quatro localidades já estudadas. Pag. 25
- Tabela 2: Número de colônias amostradas e as coordenadas dos locais de coleta, sendo estes: Parcel do Manuel Luís, MA (PML), Fortaleza, CE (FZ), Atol das Rocas, RN (AR), Fernando de Noronha, PB (FN), João Pessoa, PB (JP), Tamandaré, PE (TE), Salvador, BA (SA), Porto Seguro, BA (PS), Complexo Recifal de Abrolhos, BA (AB), Guarapari, ES (GP), Ilha de Trindade, ES (TR), Armação dos Búzios, RJ (BZ), Arraial do Cabo, RJ (AC), Ilha Grande, RJ (IG) e Ilha Bela, SP (IB). Pag. 30
- Tabela 3: Os marcadores utilizados, descritos por Zilberberg et al. (2013), com seus respectivos fluorocromos, temperaturas de anelamento ( $T^{\circ}\text{C}$ ) e concentrações finais de  $\text{MgCl}_2$  no mix da PCR. Pag. 32
- Tabela 4: Número total de indivíduos analisados (N), número de alelos médio por *locus* ( $N_{a/locus}$ ), número de alelos exclusivos de cada localidade ( $N_{ex}$ ), valores do índice  $F_{IS}$  e a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e observada ( $H_o$ ) para cada localidade analisada. Os valores de  $F_{IS}$  em negrito apresentaram  $p < 0,05$  após correção de Bonferroni para testes múltiplos. Pag. 38
- Tabela 5: Índice  $F_{ST}$  calculado par a par entre as localidades. Os valores sublinhados e em negrito foram aqueles com  $p < 0,05$  após correção de Bonferroni para testes múltiplos. Pag. 40
- Tabela 6: Índice  $F_{ST}$  calculado par a par entre as populações determinadas pelo programa Structure para  $k=3$  (A),  $k=4$  (B) e  $k=5$  (C). Os valores sublinhados e em negrito foram aqueles com  $p < 0,05$  após correção para testes múltiplos. RL= Região dos Lagos. Pag. 45

Tabela 7: Moda da distribuição posterior para os parâmetros  $\Theta$  e  $M$  avaliados para cada um dos seis modelos testados. Os valores “x” indicam que o parâmetro não foi estimado. Para as estimativas de  $\Theta$  e  $M$ , 1 corresponde a população das Ilhas-Norte, 2 a população NE/ES/Região dos Lagos e 3 a população do Limite Sul.

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	13
1.1. Conectividade, fluxo gênico e estruturação entre populações .....	13
1.2. Conectividade marinha .....	15
1.3. Ambientes coralíneos, correntes e barreiras na costa brasileira .....	20
1.4. O coral <i>Mussismilia hispida</i> (Verril 1902) .....	24
2. Objetivos .....	28
3. Material e Métodos .....	29
3.1. Área de estudo e coleta .....	29
3.2. Extração de DNA e genotipagem .....	31
3.3. Análises .....	33
4. Resultados .....	37
5. Discussão .....	52
5.1. Diversidade genética.....	52
5.2. Estruturação populacional.....	53
5.3. Caracterização das populações.....	55
6. Conclusões .....	64
7. Referências .....	65
8. Anexo I – Parâmetros estimados pelo Migrate para os modelos testados .....	75

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Conectividade, fluxo gênico e estruturação entre populações

A conectividade populacional pode ser definida de diversas formas e, no geral, é entendida como a “troca de indivíduos entre subpopulações de uma metapopulação que são geograficamente separadas” (Cowen et al. 2007). Uma definição interessante de conectividade é a utilizada por Kool e colaboradores (2013) onde “conectividade é o resultado da dependência entre populações ou indivíduos”. Essas duas definições se sobrepõem e a avaliação desse processo depende da escala analisada, podendo ser tanto ecológica como evolutiva. Ambientes que apresentam a mesma espécie já foram conectados em algum momento ao longo do tempo evolutivo e saber quais são as características dessa conexão, ou seja, os padrões de migração e estruturação, é uma das principais metas ao se estudar a conectividade (Hellberg 2007). Já o entendimento da dinâmica populacional, que é uma escala de tempo mais restrita, depende tanto das taxas de natalidade e mortalidade, como das taxas de imigração e emigração (Caley et al. 1996). Portanto, determinar a conectividade entre populações é essencial para compreender tanto a dinâmica populacional como os processos evolutivos de uma espécie (Kool et al. 2013).

A conectividade pode ser medida diretamente, utilizando metodologias como marcação e recaptura, ou indiretamente por meio de marcadores moleculares (Kool et al. 2013). Medir todos os mecanismos que influenciam a dispersão diretamente é uma tarefa complicada e, dependendo do organismo, como por exemplo, em corais, nem sempre possível (Cowen e Sponaugle 2009). Nesse contexto, a estimativa da conectividade utilizando ferramentas moleculares, ou seja, a conectividade genética, vem sendo amplamente utilizada. A conectividade genética é inferida pela existência de fluxo gênico entre as populações, quando se observa alguma estruturação entre elas. O fluxo gênico pode ser definido como a entrada de alelos em uma população, através do movimento de indivíduos ou de gametas, o que vai causar mudanças nas suas frequências gênicas (Hamilton 2009).

A evolução pode ser entendida como a mudança cumulativa na composição genética de uma população (Hartl 2008). Essa mudança ocorre devido às variações nas frequências gênicas dessa população, que são causadas pelos processos de migração, mutação, seleção natural e deriva gênica. A mutação ocorre quando há alguma mudança no material genético, o que gera variação genética, enquanto que a seleção atua aumentando a frequência de alelos que conferem uma maior capacidade de sobrevivência e reprodução. Já a deriva gênica é a variação aleatória das frequências alélicas de uma população (Hamilton

2009). Nesse sentido, essas três forças tem a capacidade de aumentar a variabilidade de uma população, mudando suas frequências alélicas e aumentando sua divergência genética em relação a outras populações, onde essas atuam de maneiras distintas. A migração, também chamada de fluxo gênico, contrabalança essas outras forças evolutivas, causando a homogeneização entre populações, por conta do movimento de indivíduos ou gametas entre elas. Assim, o fluxo gênico permite que genes evolutivamente vantajosos sejam levados de uma população para outra, o que é importante para a persistência da espécie (Slatkin 1987). Quando esta força está ausente, ou seja, quando não há migração, as diferenças entre as populações se acumulam e determinados alelos podem se fixar, podendo levar, com o tempo, à formação de espécies distintas (Slatkin 1987).

As populações podem ter um baixo fluxo gênico entre si, caracterizando populações estruturadas. Em uma população estruturada existe uma probabilidade diferenciada de dois indivíduos aleatórios cruzarem e ela será subdividida em populações distintas, onde as frequências gênicas dessas irão variar independentemente (Hamilton 2009). Essa estruturação populacional pode ser causada por alguma barreira que impede o fluxo gênico, como, por exemplo, barreiras geográficas, diferenças ambientais e comportamentais, ou pela existência de isolamento por distância, que ocorre quando a probabilidade de indivíduos cruzarem diminui com o aumento da distância entre eles (Hamilton 2009). Quando ocorre troca aleatória de genes ou indivíduos entre populações, ou seja, quando há um alto fluxo gênico, essas populações podem ser consideradas panmíticas (Lowe e Allendorf 2010). Populações panmíticas podem ser consideradas uma única grande população, já que as frequências gênicas serão iguais (Lowe e Allendorf 2010).

A existência de fluxo gênico entre populações é associada à manutenção de altos níveis de diversidade genética, sendo importante para a resiliência de uma espécie a longo prazo (Roberts et al. 2006). O fluxo gênico também pode influenciar o tamanho efetivo de uma população. Esse tamanho efetivo é importante, pois populações com o tamanho efetivo pequeno possuem maior risco de sofrer depressão endogâmica, o que aumenta suas chances de extinção (Frankham 2005). Se a migração for alta e igual entre populações distintas, eventualmente a frequência alélica destas será igual à frequência alélica média de todas as populações juntas (Futuyma 2013). No entanto, a direção do fluxo gênico e quantidade de migrantes que chegam em uma população normalmente variam. Essa assimetria do fluxo gênico é explicada pela existência de populações fonte (“source”), onde as taxas de nascimento e emigração são maiores que as de mortalidade e imigração, e populações sumidouro (“sink”), onde as taxas de mortalidade e emigração são maiores que as de nascimento e imigração (Pulliam 1988). Uma população sumidouro apresenta altas taxas de imigração e dependência da fonte quanto à sua densidade (Pulliam 1988, Kawecki

e Holt 2002). As populações fonte exportam mais migrantes por estarem em ambientes mais vantajosos e terem uma maior natalidade, além de contribuírem mais para o pool gênico da espécie (Kawecki e Holt 2002).

Entender os padrões de fluxo gênico entre as populações, além da importância ecológica e evolutiva, também possui grande importância na conservação da espécie. Por exemplo, a diminuição do número de indivíduos em uma população por impactos antrópicos pode levar a uma maior imigração relativa e, conseqüentemente, uma maior entrada de alelos de outra população não adaptados localmente, diminuindo ainda mais a população local (“migration meltdown”, Lenormand 2002). Por outro lado, se a população impactada for uma população fonte, as populações sumidouro dependentes dela podem ser extintas. Segundo Frankham (2005), ignorar fatores genéticos em medidas de manejo leva a uma série de efeitos adversos e um manejo feito dessa forma não pode ser considerado cientificamente confiável. Ultimamente, o entendimento da conectividade vem sendo visto como de extrema importância no desenho de áreas protegidas, já que vai ajudar a determinar o tamanho e a distância entre diferentes áreas, de modo que o fluxo gênico entre as populações seja mantido (e. g. McCook et al. 2009, Botsford et al. 2009). Além de depender dos métodos utilizados, a compreensão da conectividade entre populações depende também de diversas características biológicas da espécie em questão e das características do meio em que ela vive.

## **1.2. Conectividade marinha**

A maioria dos organismos marinhos bentônicos depende dos seus estágios de vida planctônicos iniciais para realizar dispersão, já que os adultos possuem pouca ou nenhuma mobilidade. Como nesses animais os gametas são liberados na água, a existência de um “pool” de gametas onde estes se misturam randomicamente seria possível (Futuyma 2013). Além disso, as larvas e gametas são pequenos e, por isso, podem ser vistos como partículas passivas frente às correntes oceânicas (Thorson 1950, Scheltema 1988), podendo, então, ser carregados por longas distâncias. Portanto, as populações marinhas podem ser consideradas demograficamente abertas, ou seja, o recrutamento local não depende da reprodução local, sendo bastante influenciado por migrantes (Roughgarden et al. 1985, Caley et al. 1996). Diversas informações corroboraram essa idéia, como a observação de larvas em ambientes oceânicos longe do ambiente onde ocorrem, a existência de um alto fluxo gênico entre populações geograficamente distantes, a dificuldade em se prever o recrutamento local e o fato das larvas serem planctônicas, ou seja, terem um tamanho pequeno e não terem alta capacidade natatória (Swearer et al. 2002).

A existência de populações abertas e panmíticas implica na ocorrência de uma alta dispersão larval e, portanto, uma alta conectividade. Considerando as larvas como partículas passivas sendo carregadas pelas correntes oceânicas, sua dispersão dependeria diretamente do tempo em que ela fica no plâncton antes de assentar (“pelagical larval duration”, PLD) (Thorson 1950, Scheltema 1988). O PLD foi utilizado por muito tempo como modelo para estimar a dispersão (Siegel et al. 2003), porém essa estimativa pode variar de acordo com diferentes condições ambientais além de existirem outros fatores que contribuem para a dispersão, tornando tais modelos insuficientes (Cowen e Sponaugle 2009). O estudo de Weersing e Toonen (2009) mostrou que o PLD médio, normalmente utilizado, tem pouca correlação com a estruturação genética e que ele sozinho não explica bem a variação na estrutura populacional. Além disso, segundo esses autores, a própria estimativa do PLD pode ser limitada para determinado organismo por ser medida em condições artificiais de laboratório, ser uma característica plástica que varia dependendo das condições e por assumir erroneamente que a larva é uma partícula passiva.

Com isso, contradizendo esse conceito de populações abertas, começou-se a observar autorecrutamento em escalas menores do que o esperado pelo modelo de populações abertas (Pineda et al. 2007). Alguns estudos começaram a mostrar a existência de recrutamento dependente da produção de larvas local, fato que fica evidente em estudos de espécies endêmicas em ilhas afastadas, de espécies com larva planctônica em ambientes estuarinos, que precisam manter suas larvas próximas, e de espécies invasoras que se estabelecem em um novo ambiente (Swearer et al. 2002). Alguns estudos de modelagem biofísica também evidenciaram isso, como o estudo feito por Cowen e colaboradores (2000), que mostrou que poucas larvas chegam em ambientes vizinhos, sendo a migração insuficiente para sustentar outras populações. Outro estudo, feito por Hughes e colaboradores (2000), mostrou que a fecundidade local era o fator que mais explicava o recrutamento local observado. Portanto, apesar das correntes indicarem um potencial de dispersão das larvas por longas distâncias, a concentração delas diminui muito quanto maior a distância, devido à mortalidade e à diluição (Cowen et al. 2000), e pelo menos uma parte da produção de larvas local permanece em áreas próximas.

Diversas revisões foram feitas sobre a dispersão larval e existência ou não de populações abertas em organismos marinhos (e.g. Swearer et al. 2002, Levin 2006, Pineda et al. 2007, Hellberg 2009, Cowen e Sponaugle 2009). No âmbito dessas discussões, surgem conceitos diferentes de conectividade, onde passa-se a distinguir a dispersão realizada pelas larvas da existência de migrantes que sobrevivem e se reproduzem em uma nova população (Pineda et al. 2007, Hamilton et al. 2008). Desse modo, o termo conectividade, no presente estudo, será entendido como dependente dos organismos que se

dispersaram, se estabeleceram e se reproduziram em uma população diferente da sua de origem. Levando em conta esse conceito de conectividade, a dispersão larval passou a ser vista não só como dependente das correntes oceânicas, mas como dependente de diversos fatores biológicos e físicos que determinam a dispersão e a sobrevivência pós-assentamento (Kinlan et al. 2005, Cowen e Sponaugle 2009, Hellberg 2009). Em relação à idéia de que populações marinhas são abertas, fica claro que isto depende da escala estudada, já que a retenção de larvas pode variar entre 10-100 km (Kinlan et al. 2005). De acordo com essas revisões, o recrutamento local parece ter grande importância e não pode ser relevado. Informações existentes para peixes marinhos, o grupo mais estudado, sugerem que a dispersão por longas distâncias é rara, levando em consideração o tempo ecológico (Swearer et al. 2002). No entanto, mesmo que menos comum, a dispersão por longas distâncias parece ser importante para manter a conectividade genética e para a colonização de novos ambientes (Kinlan et al. 2005). Portanto, a conectividade de uma espécie não se resume ao seu PLD ou às correntes oceânicas, como pensado anteriormente, e diversos processos atuam em conjunto, levando a padrões de conectividade bem mais complexos (Fig. 1, Cowen e Sponaugle 2009).

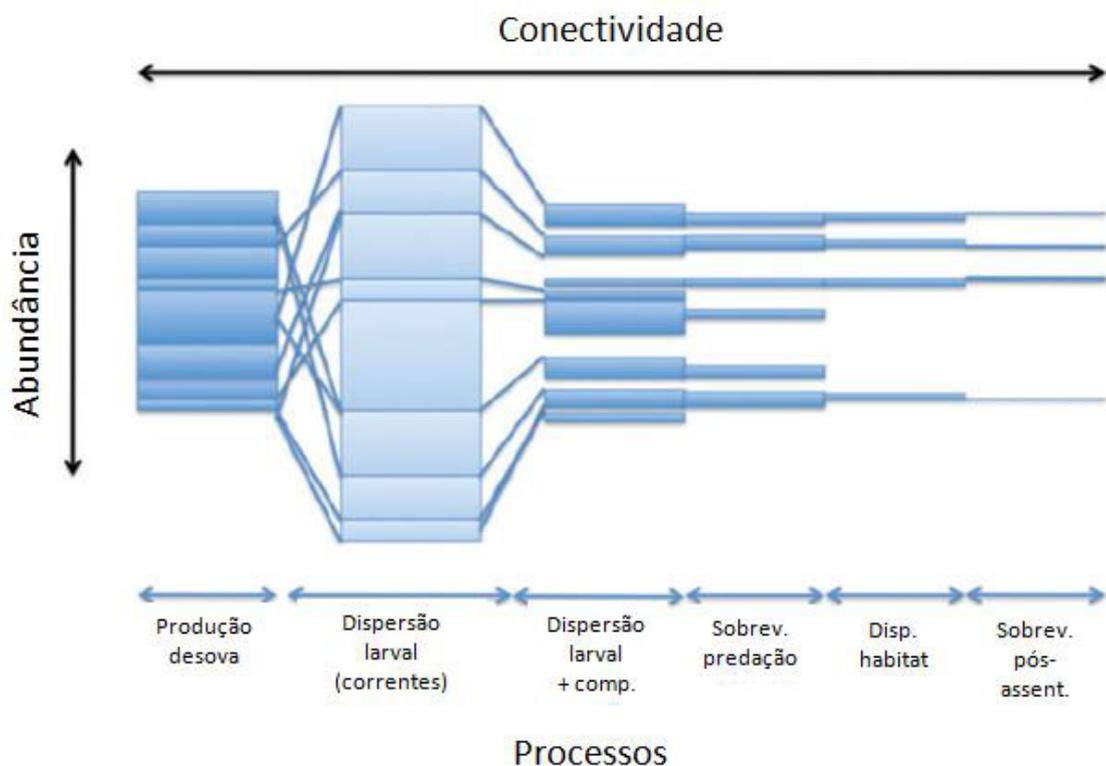


Fig. 1: Representação dos processos que determinam a dispersão larval e a conexão entre populações, modificado de Cowen e Sponaugle (2009). Esses processos estão abreviados na figura e são os seguintes: produção da desova, dispersão larval (correntes), dispersão larval e comportamento, sobrevivência à predação, disponibilidade de habitat favorável, sobrevivência pós-assentamento.

Alguns dos fatores biológicos que influenciam na conectividade dos organismos estão ligados às características larvais, como seu tamanho inicial e se ela é lecitotrófica ou não. O PLD também é um desses fatores, apesar de não poder ser usado para estimar diretamente a distância de dispersão, como era feito anteriormente. É importante considerar que o PLD pode variar dependendo das condições ambientais e do táxon estudado (Cowen e Sponaugle 2009). Além disso, as larvas possuem diversos comportamentos que também influenciam na dispersão e no assentamento. A maioria das larvas tem capacidade natatória suficiente para superar as correntes verticais (Chia et al. 1984) e possuem estruturas sensoriais que permitem a detecção de sinais ambientais (Sponaugle et al. 2002). Raimondi e Morse (2000) mostraram em um experimento em campo no Caribe que as larvas do coral *Agaricia humilis* se deslocavam verticalmente na coluna d'água e sugeriram que tal comportamento seria responsável pela distribuição desse organismo no ambiente. Diversos outros comportamentos, como evitar a predação e procura por alimento, podem explicar a natação vertical das larvas e já foi visto que tal movimento vertical pode ter grande importância na dispersão, já que pequenas distâncias verticais separam águas com diferentes fluxos e velocidades (Largier 2003).

Outro fator importante que afeta a dispersão é a mortalidade da larva no plâncton (Paris et al. 2007). Já foi visto que a maior taxa de mortalidade em organismos marinhos ocorre nos estágios iniciais do ciclo de vida, sendo este um fator pouco estudado (Pineda et al. 2007). Além disso, as características larvais ótimas podem variar com o ambiente e depender das condições demográficas locais, além de poderem ser diferentes das características ótimas para os recrutas, sendo a sobrevivência pós-assentamento também de grande importância (Cowen e Sponaugle 2009). Mesmo que a larva chegue ao seu ambiente ideal, se ela não se assentar na faixa ideal de distribuição, como por exemplo em uma determinada profundidade, a probabilidade de sobrevivência do recruta pode ser bem mais baixa (Raimondi e Morse 2000). Além de características da larva e dos recrutas, diversos comportamentos dos parentais também influenciam a dispersão. Fatores ambientais podem influenciar o comportamento de liberação de gametas e a qualidade dos gametas produzidos, o momento da reprodução ou aglomerações para reprodução. No caso de corais, por exemplo, a liberação simultânea dos gametas é um comportamento importante para garantir o sucesso reprodutivo (Richmond e Hunter 1990). Outro fator interessante demonstrado por alguns estudos é que a nutrição dos parentais influencia na produção de gametas e leva à uma sobrevivência diferenciada das larvas (Millican e Helm 1994, Green et al. 2005). Além disso, se os parentais sofrem algum estresse, o esforço reprodutivo pode ser reduzido (Szmant 1986, Villinsky 2003), o que leva a um menor aporte de larvas em uma ou mais épocas reprodutivas.

Além desses aspectos biológicos, diversos fatores físicos também influenciam a dispersão. O fluxo da água em diversas escalas, tanto as correntes oceânicas principais como hidrodinamismos menores próximos a costa, podem aumentar ou diminuir o transporte de larvas nessas regiões (Pineda et al. 2007). As correntes oceânicas criam barreiras para dispersão, que funcionam mais como filtros do que barreiras absolutas, dificultando a movimentação em uma determinada direção (Gaines et al. 2007). Além disso, os padrões de corrente podem ter influência sazonal e, se tratando de ambientes costeiros, possuem alta complexidade. Em regiões costeiras, outros fatores ambientais influenciam a dispersão, como pluviosidade, existência de ressurgências, maior estratificação da coluna d'água e maior complexidade de circulação devido a profundidades menores (Pineda et al. 2007). A disponibilidade de habitats favoráveis também pode limitar a dispersão, uma vez que a existência de um habitat desfavorável entre locais favoráveis pode atuar como barreira e levar a uma menor dispersão entre populações (Riginos e Nachman 2001, Hellberg 2007). A existência de regiões de oceano aberto, por exemplo, parece funcionar como barreira para a conectividade para cinco espécies de corais na Austrália, o que foi associado a ausência de habitats viáveis intermediários (Ayre e Hughes 2004). Portanto, mesmo que uma espécie possua um potencial de dispersão alto, sua dispersão real é dependente também da distribuição de habitats favoráveis disponíveis, já que a dispersão só será alta se for grande o suficiente para conseguir cruzar zonas de habitats desfavoráveis (Jones et al. 2007).

Uma das maneiras de avaliar os efeitos físicos associados à hidrodinâmica dos oceanos no transporte de larvas é através dos modelos biofísicos (Pineda et al. 2007). Apesar de serem importantes para aumentar o conhecimento das características oceanográficas das regiões analisadas (Largier 2003), os modelos biofísicos possuem diversos problemas associados à dificuldade de modelar tanto processos oceanográficos como processos biológicos. O estudo de Cowen e colaboradores (2002) comparou duas modelagens distintas, uma utilizando um modelo de dispersão passiva e outro incorporando o comportamento larval. Segundo os resultados obtidos, o modelo de dispersão passiva superestima a dispersão por longas distâncias, enquanto que o modelo incluindo comportamento mostrou que as larvas ficam mais retidas, estando este último resultado de acordo com as taxas de recrutamento observadas localmente. Outras limitações dos modelos biofísicos são o uso de estimativas não realísticas de mortalidade das larvas e a pouca resolução dos padrões oceanográficos em ambientes costeiros, que normalmente são em escala de dezenas de quilômetros (Cowen e Sponaugle 2009, Pineda et al. 2007). Além disso, esses modelos só fornecem o padrão de dispersão das larvas, não sendo possível mensurar quantas larvas obtiveram sucesso após sua dispersão, tendo conseguido sobreviver e posteriormente se reproduzir na população. Portanto, esses padrões de

dispersão inferidos podem não corresponder exatamente aos padrões de conectividade de uma espécie, uma vez que provavelmente ocorre sobrevivência diferenciada entre os juvenis e nem todos sobrevivem para reproduzir (Pineda et al. 2007).

Com isso, fica claro a conectividade em organismos marinhos é influenciada por diversos processos, que resultam em padrões complexos. Existem diversas maneiras indiretas de medir a dispersão larval e a conectividade, sendo que tanto informações relacionadas ao transporte larval como informações sobre a origem das larvas e quais as direções da migração, utilizando marcadores moleculares ou geoquímicos, por exemplo, são importantes para compreender melhor esses processos (Cowen et al. 2007). Para corais, a estimativa de conectividade utilizando marcadores moleculares é cada vez mais comum, já que métodos diretos viáveis não existem. Quaisquer que sejam as estimativas de conectividade usadas, para uma melhor compreensão desses padrões também é necessário entender a distribuição da espécie foco, bem como outros fatores biológicos e físicos do ambiente em que ela vive.

### **1.3. Ambientes coralíneos, correntes e barreiras na costa brasileira**

A costa do Brasil possui ambientes coralíneos desde o Maranhão até Santa Catarina, compreendendo mais de 3000 km. Os ambientes recifais são considerados um dos mais diversos biologicamente do mundo, devido principalmente à sua complexidade estrutural que cria habitats diferentes, permitindo a existência de uma grande variedade de organismos (Stat et al. 2012). Os principais organismos construtores desses ambientes são os corais da ordem Scleractinia que possuem associação simbiótica com zooxantelas. O Brasil possui os únicos recifes verdadeiros do Atlântico Sul, sendo o mais ao sul o Banco Recifal de Abrolhos, além de possuir diversos ambientes coralíneos que não são considerados recifes biogênicos verdadeiros por estarem diretamente sobre substrato rochoso (Castro e Pires 2001).

Os recifes brasileiros são caracterizados por possuírem uma baixa diversidade de corais, existindo somente 15 espécies de corais zooxantelados construtores (Castro e Pires 2001) quando comparado a outras regiões. Por exemplo, na região central da Grande Barreira de Corais, Austrália, são encontradas 343 espécies de corais escleractíneos, enquanto que a porção central do Mar Vermelho apresenta 150 espécies e Curaçao, no Caribe, possui 50 espécies (revisado por Karlson e Cornell 1998). Portanto, os recifes brasileiros apresentam diferenças marcantes quanto aos recifes do Indo-Pacífico e do Caribe, sendo distintos por possuírem uma baixa diversidade de corais, um alto endemismo dos corais construtores (30%) e a predominância de corais maciços, sem a presença de

corais ramosos, típicos desses outros recifes (Leão e Kikuchi 2005). Essa diferença observada pode ser explicada pelas diferentes condições ambientais, já que os recifes brasileiros são caracterizados pelo alto grau de turbidez da água, ausência de tempestades fortes e pouca variação de habitats quando comparados aos recifes de outras regiões (Leão 1982). Além disso, alguns recifes são caracterizados por formações únicas, chamadas de chapeirões, presentes em diversos recifes do Complexo Recifal de Abrolhos (Leão 1999).

A maioria dos recifes brasileiros ocorre na plataforma continental, próxima à linha de costa e muitas vezes próximos a regiões de grande desenvolvimento humano, apesar de existirem alguns recifes oceânicos, como o Atol das Rocas (RN) (Castro e Pires 2001). A plataforma continental brasileira varia bastante em relação ao formato e largura, sendo predominantemente estreita com uma média de 50 km, mas na parte sul se estende até 200 km próximo à área de Abrolhos (Leão et al. 2003). Essa localização próxima a regiões desenvolvidas expõe a maioria dos recifes a diversos impactos antrópicos, como sedimentação, sobrepesca, eutrofização e turismo (Leão et al. 2003), que são associados à perda de diversidade nesses ambientes (Hughes 1994, McCook 1999).

Os padrões de circulação oceânica entre os recifes brasileiros são influenciados por duas principais correntes oceânicas na costa brasileira: a Corrente do Norte do Brasil (CNB) e a Corrente do Brasil (CB). Essas correntes se originam do ramo mais ao sul (10°S) da Corrente Sul Equatorial, que se bifurca (Fig. 2) (Silveira et al. 2000). A CNB flui em direção noroeste a 5°S, sendo que a maioria do seu transporte ocorre na região da termoclina, enquanto que na superfície seu transporte é mais lento (Johns et al. 1998). Entre 5°S e o Equador, a CNB aumenta seu transporte devido a influência da Corrente Sul Equatorial (Johns et al. 1998). Não há grande variação sazonal na corrente entre 10°S e o Equador, mas ao norte do Equador as águas da CNB começam a alimentar um sistema de contra correntes que possui grande variação sazonal (Johns et al. 1998). A CB percorre a maior parte da costa e flui em direção sul até a região da Convergência Subtropical (33-38°S), onde se junta à Corrente das Malvinas (Silveira et al. 2000). Essa corrente segue a quebra da plataforma continental, se afastando da costa nos alargamentos da plataforma e parece ser dominada por meandros (Soutelino et al. 2011, Arruda et al. 2013).

As massas d'água que formam as primeiras camadas da CB são a Água Tropical (AT), caracterizada por ser quente (>20°C), salina e mais superficial, e a Água Central do Atlântico Sul (ACAS), encontrada na região da picnoclina com menor temperatura (6°C-20°C) e salinidade, sendo rica em nutrientes (Stramma et al. 1990, Silveira et al. 2000). Próximo à área de sua origem, a CB é uma corrente rasa e quente, constituída principalmente por AT, enquanto que perto de 20°S recebe grande influência da ACAS e ao

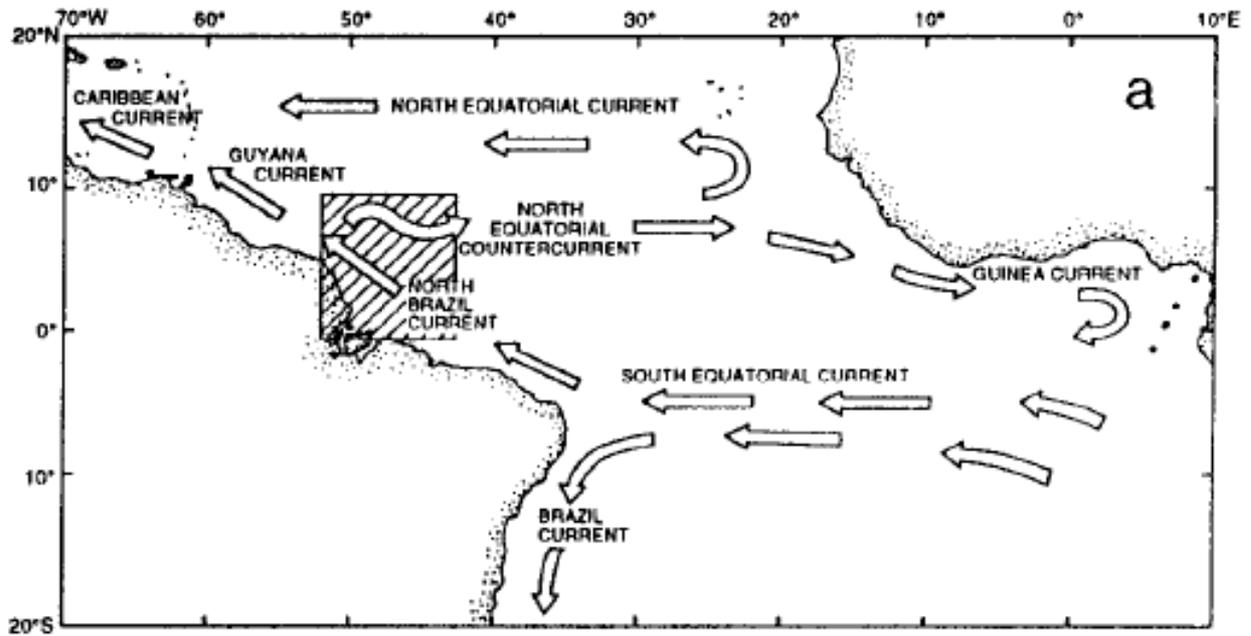


Fig. 2: A origem da Corrente do Norte do Brasil (CNB) e da Corrente do Brasil pela Corrente Sul Equatorial. Em destaque, o sistema de contra correntes alimentado pela CNB. Retirado de Johns et al. (1998).

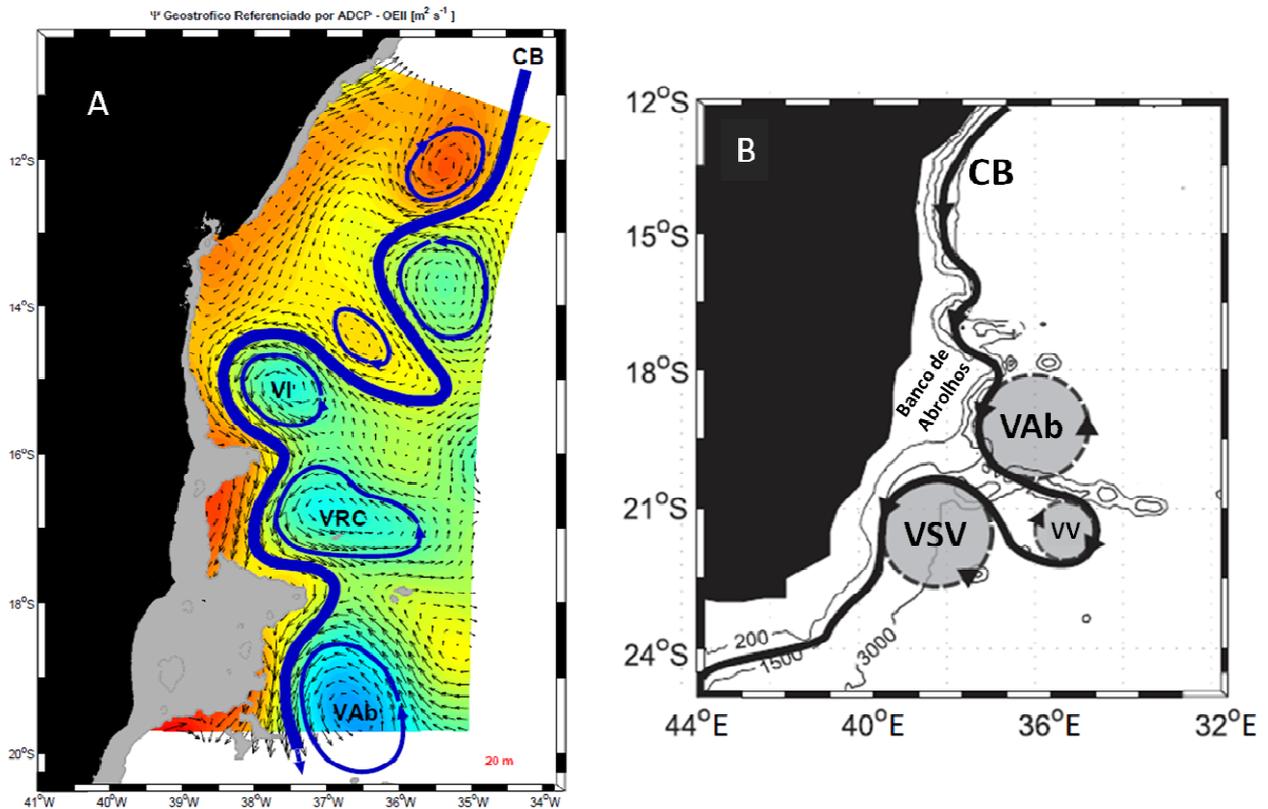


Fig. 3: A Corrente do Brasil (CB) e os principais vórtices encontrados ao norte de 20°S (A), sendo eles o Vórtice de Ilhéus (VI), o Vórtice Royal-Charlotte (VRC) e o Vórtice de Abrolhos (VAb) e os vórtices ao sul de 20°S (B), sendo eles o Vórtice de Vitória (VV) e o Vórtice Sul de Vitória (VSV). Mapas retirados de Soutelino (2008) e Arruda et al. (2013), respectivamente.

sul de 25°S recebe também influência de águas mais profundas (Silveira et al. 2000). Quando a CB encontra a complexidade topográfica da região dos bancos de Royal-Charlotte e de Abrolhos, formam-se vários meandros, sendo os principais deles o Vórtice de Ilhéus (15,5°S), o Vórtice Royal-Charlotte (17°S) e o Vórtice de Abrolhos (19°S), todos anticiclônicos (Soutelino et al. 2008) (Fig. 3 A). Após isso, a CB encontra com a Cordilheira Vitória-Trindade em 20,5°S e flui pela passagem mais próxima da costa ficando estreita e, ao sul dessa cordilheira, forma-se o Vórtice ciclônico de Vitória (21°S) e o Vórtice anticiclônico Sul de Vitória (22°S) (Arruda et al. 2013) (Fig. 3 B).

Além desses meandros, existem eventos de ressurgência ao longo da costa. A ressurgência ocorre quando águas mais profundas e frias afloram na superfície, geralmente trazendo uma maior quantidade de nutrientes, com grande importância na produtividade local. A região de Cabo Frio (23°S), na Região dos Lagos (RJ), apresenta a ressurgência mais forte da costa brasileira, ocasionada pela sinergia entre a ressurgência causada pelo vento e a ressurgência causada pelo estreitamento e mudança de direção da plataforma continental (Palma e Matano 2009). A região entre Vitória (ES) e São Sebastião (SP) como um todo é caracterizada por possuir estresse de vento, que pode levar à ressurgência, sendo que esse padrão é mais forte no verão e mais fraco durante o outono (Castelao e Barth 2006). Por isso, a ressurgência de Cabo Frio é menor durante o outono, mas a força do vento pode causar ressurgências menores em outros locais dessa região (Castelao e Barth 2006).

Além das correntes oceânicas apresentadas, que ocorrem em uma escala maior, existem também as correntes costeiras, caracterizadas localmente e que influenciam grande parte das populações de corais por estarem mais próximas aos seus habitats. O entendimento da oceanografia em pequena escala é muitas vezes necessário para compreender bem os padrões de transporte de larvas (Swearer et al. 2002). Diversas características influenciam as correntes costeiras, como a topografia costeira, a topografia de fundo e a existência de vórtices em sub-mesoescala (~5-20 km), que podem aumentar a retenção de larvas no local e a existência de zonas de convergência, que minimizam o transporte para regiões oceânicas (Cowen e Sponaugle 2009). Quando a água passa ao longo de uma costa irregular, ela se separa e forma vórtices (Largier 2003), que podem ser observados em baías e penínsulas, que ocorrem na região de Abrolhos em uma escala maior. A circulação da água gerada por esses vórtices pode reter larvas ou gametas, aumentando o recrutamento local e formando zonas de retenção que tem duração e área variáveis (Largier 2003). Os ambientes próximos à costa possuem diversos padrões de correntes diferenciados, além de um aporte maior de água doce e maior estratificação da

água, que podem interferir no transporte das larvas, mas são processos pouco estudados e difíceis de modelar (Pineda et al. 2007).

#### 1.4. O coral *Mussismilia hispida* (Verril 1902)

O coral *Mussismilia hispida* (Verril 1902) (Fig. 4), espécie foco desse estudo, faz parte do gênero *Mussimilia* da família Mussidae, tendo sido recentemente colocado dentro da subfamília Faviinae (Budd et al. 2012). O gênero apresenta ainda outras três espécies, *Mussismilia harttii* (Verrill 1868), *Mussismilia braziliensis* (Verrill 1868) e *Mussismilia leptophylla* (Verrill 1868), sendo tanto estas quanto *M. hispida* endêmicas do Brasil. Apesar de hoje ser restrito ao Brasil, registros fósseis indicam que o gênero ocorria no Caribe e Mediterrâneo (o antigo Mar de Tethys) (Budd et al. 1994, Nunes et al. 2008). O gênero foi extinto do Caribe mais recentemente, entre o final do Mioceno e o início do Pleistoceno e já foram encontrados fósseis de *M. hispida* no Caribe, datando entre 3-3,5 Ma (Budd et al. 1994).

As espécies do gênero *Mussismilia* estão entre as principais construtoras dos recifes brasileiros. *M. hispida* é a espécie que possui a distribuição mais ampla dentro do gênero, ocorrendo desde o Parcel do Manuel Luís (MA) até a Ilha de Queimada Grande (SP) e também no arquipélago de Fernando de Noronha, no Atol das Rocas e na Ilha de Trindade (Castro e Pires 2001, D. Barneche com. pess.). As suas colônias são maciças, podendo ser hemisféricas a planas, e possuem pólipos maiores e normalmente mais arredondados que *M. braziliensis* (Hetzl e Castro 1994, Antônio-de-Souza e Amaral 2002).

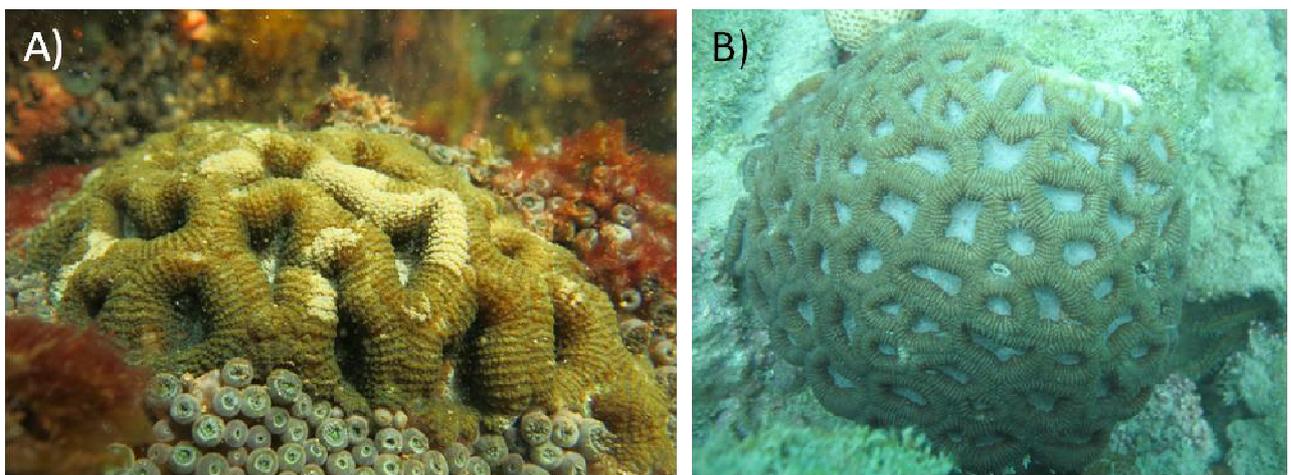


Fig. 4: Fotos de *Mussismilia hispida* em campo, na Ilha Grande, RJ (A) (Foto de Caetano Dable) e em Abrolhos, BA (B) (Foto de Fábio Negrão).

Esses corais são hermafroditas, liberadores de gametas, possuem o ciclo reprodutivo anual e sua larva é lecitotrófica (Pires et al. 1999). O primeiro estudo do período reprodutivo dessa espécie foi feito em Abrolhos (BA), com duração aproximada de um ano, sendo a época de liberação de gametas estimada entre Abril e Junho pelos padrões da gametogênese avaliados (Pires et al. 1999) (Tabela1). No entanto, um estudo posterior encontrou uma variação nos estágios reprodutivos entre colônias de um mesmo recife em Abrolhos (Alvarenga 2009), coletadas numa mesma época. Além disso, em Porto Seguro (BA) já foram observadas desovas desse coral entre Agosto e Novembro durante mais de dez anos, não ocorrendo desovas em outros períodos (Projeto Coral Vivo, dados não publicados) (Tabela 1). Alvarenga (2009) também encontrou variabilidade dos estágios reprodutivos de *M. hispida* ao longo da costa, sendo observadas diferenças entre o nordeste e sudeste. Para a região sudeste, o estudo de Neves e Pires (2002), realizado num intervalo de um ano, avaliou que o período de liberação de gametas de *M. hispida* na Armação de Búzios (RJ) ocorre provavelmente entre Fevereiro e Abril. Já em Santos (SP) foi feita uma observação pontual de desova de *M. hispida* em Abril (Francini et al. 2002), o que estaria de acordo com o padrão observado para a região de Búzios (Tabela1).

Tabela 1: Período reprodutivo anual estimado para *M. hispida*, indicado pelos meses marcados em cinza, nas quatro localidades já estudadas.

	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Abrolhos												
P. Seguro												
A. Búzios												
Santos												

A assincronia observada entre na época de desova de *M. hispida* em diferentes localidades (Tabela 1) é peculiar, já que corais que possuem ciclos gametogênicos anuais normalmente apresentam sincronia do crescimento gonadal e da produção de gametas (Fadlallah 1983). Essa variação na época reprodutiva poderia impedir a reprodução entre os indivíduos de diferentes regiões, já que a liberação simultânea dos gametas é importante para garantir o sucesso reprodutivo, uma vez que depois de liberados os gametas são diluídos rapidamente na coluna d'água e a chance de fertilização diminui (Richmond e Hunter 1990, Oliver e Babcock 1992). No entanto, diferenças entre condições ambientais de diferentes regiões, como temperatura da água e regime de chuvas, podem levar a essas diferenças observadas (Mendes e Woodley 2002). Mesmo assim, a assincronia reprodutiva dentro do Complexo Recifal de Abrolhos não poderia ser explicada por diferenças ambientais e provavelmente é associada a diferenças genéticas. Espécies com tempos de

liberação de gametas distintos, mesmo que em locais próximos e com diferenças de poucas horas, são consideradas reprodutivamente isoladas (Knowlton et al. 1997, van Oppen et al. 2001). Desse modo, variações temporais na desova entre populações alopátricas tanto podem indicar adaptações a condições locais como a existência de grupos taxonômicos distintos que não foram identificados (Richmond e Hunter 1990). Esses dados levantam muitas questões acerca do quanto as diferentes populações dessa espécie estão conectadas. Apesar dessa assincronia indicar que diferentes regiões não reproduzem concomitantemente, podem existir larvas que migram de uma determinada região para outra, o que manteria a conectividade populacional dependendo da frequência com que isso ocorra. No entanto, não existem estudos que avaliaram a conectividade para *M. hispida* e não existem estimativas da sua capacidade de dispersão. Visto esses fatores e a divergência entre épocas reprodutivas, pode-se especular que estas populações estão estruturadas, além de existir a possibilidade de um isolamento reprodutivo entre elas.

Ultimamente, diversas técnicas moleculares tem sido utilizadas para entender aspectos da genética de populações de corais. Os microssatélites são marcadores hipervariáveis, sendo atualmente uma das principais ferramentas utilizadas para avaliar aspectos populacionais de corais, como a diversidade genética e o fluxo gênico entre populações (e.g. Baums et al. 2005, Ridgway et al. 2008, van Oppen et al. 2011). Essa abordagem tem grande poder de detectar padrões de migração recentes, barreiras geográficas e o isolamento entre as populações (Kool et al. 2013). A possibilidade de detectar padrões de conectividade atuais está associada à utilização de dados baseados em desequilíbrio gamético, pois esse desequilíbrio é alcançado ou quebrado mais rapidamente do que o equilíbrio migração-deriva, sendo possível detectar diferenciação mesmo que recente (Hellberg 2007). Além disso, o uso de múltiplos *loci* para inferir a conectividade genética permite atribuir indivíduos a uma determinada população, sendo análogo a métodos não genéticos para estimar imigrantes, como o método de marcação e recaptura (Lowe e Allendorf 2010).

Conhecer a conectividade é importante para entender o contexto geográfico da formação das espécies, avaliar as diferenças entre as comunidades e desenhar Unidades de Conservação que sejam evolutivamente importantes (Hellberg 2007). Além disso, organismos que sofrem impactos antrópicos, como os corais (Hughes 1994), provavelmente tem sua conectividade reduzida por conta da diminuição da sua população e do aumento da fragmentação entre os habitats (Jones et al. 2007). Portanto, avaliar se uma espécie consegue resistir a tais distúrbios está associado também à sua capacidade de dispersão (Jones et al. 2007). Compreender os níveis de fluxo gênico entre as populações de *M. hispida* permitiria um manejo mais adequado, especialmente na implementação das

Unidades de Conservação no Brasil. Além disso, seria de grande valor tanto ecológico como evolutivo, já que não existem estimativas de diversidade genética desse coral ao longo da costa e nenhuma inferência de fluxo gênico entre populações de coral no Brasil.

## 2. OBJETIVOS

Geral:

Caracterizar o grau de conectividade genética entre populações de *Mussismilia hispida* ao longo da costa e das ilhas oceânicas no Brasil.

Específicos:

- Estimar a diversidade genética de *Mussismilia hispida* de cada uma das localidades analisadas;
- Averiguar a presença de estruturação populacional, afim de estimar quantas populações geneticamente distintas de *Mussismilia hispida* existem no Brasil;
- Inferir os padrões de direção de fluxo gênico entre as populações de *Mussismilia hispida* definidas geneticamente.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Área de estudo e coleta

Para avaliar a conectividade populacional de *Mussismilia hispida*, foram amostradas 15 localidades ao longo da sua distribuição, entre 2008 e 2014. Foram amostradas 12 localidades em regiões costeiras, sendo elas: Parcel do Manuel Luís, MA (PML); Fortaleza, CE (FZ); João Pessoa, PB (JP); Tamandaré, PE (TE); Salvador, BA (SA); Porto Seguro, BA (PS); Complexo Recifal de Abrolhos, BA (AB); Guarapari, ES (GP), Armação dos Búzios, RJ (BZ); Arraial do Cabo, RJ (AC), Ilha Grande, RJ (IG); e Ilhabela, SP (IB) (Fig. 5; Tabela 2). Além destas, também foram amostradas três localidades em regiões oceânicas, sendo elas: Atol das Rocas, RN (AR); Fernando de Noronha, PB (FN); e Ilha de Trindade, ES (TR) (Fig. 5; Tabela 2). Essa amostragem abrange toda a amplitude de distribuição conhecida de *M. hispida*.

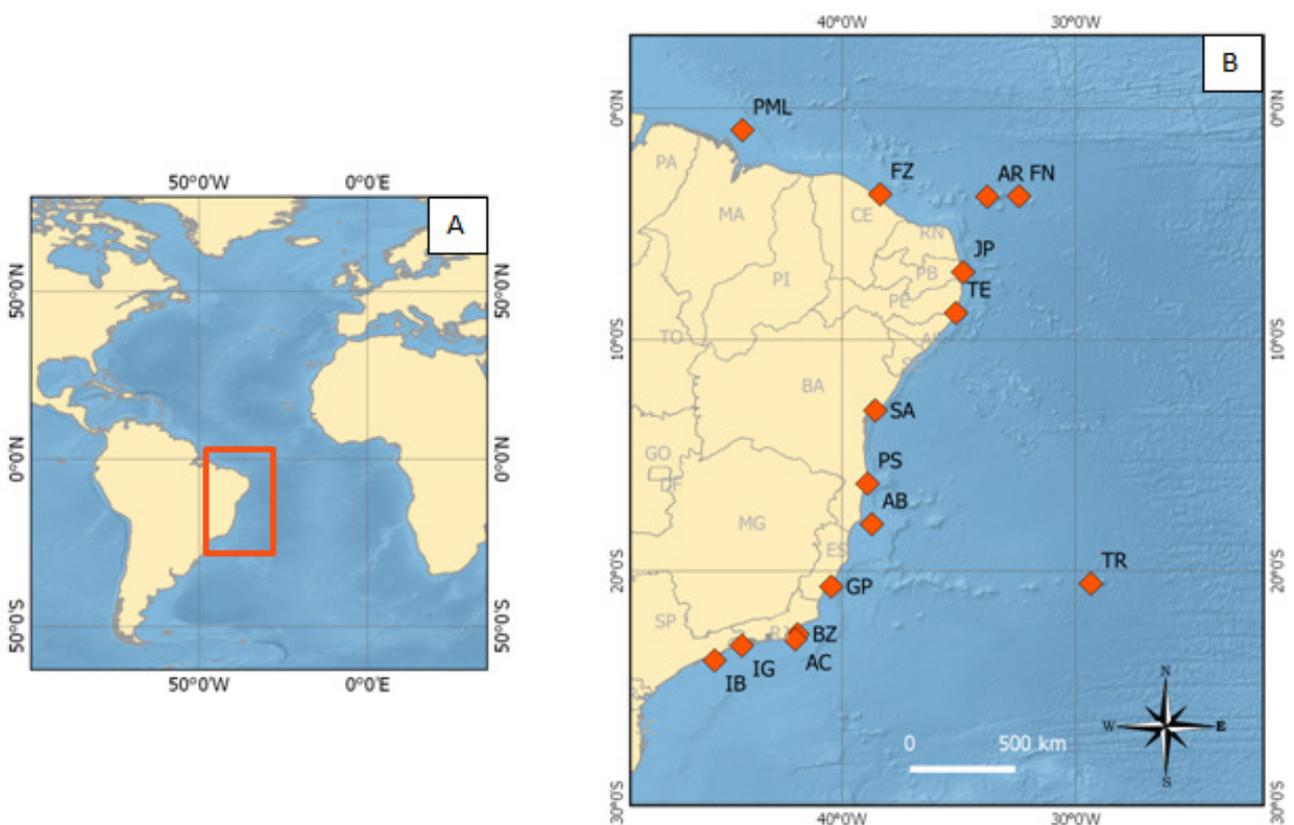


Fig. 5: Mapa da região onde foram feitas as coletas no Oceano Atlântico (A) e das localidades dos pontos de coleta ao longo da costa brasileira (B). Em losango vermelho estão demarcados os pontos: Parcel do Manuel Luís, MA (PML), Fortaleza, CE (FZ), Atol das Rocas, RN (AR), Fernando de Noronha, PB (FN), João Pessoa, PB (JP), Tamandaré, PE (TE), Salvador, BA (SA), Porto Seguro, BA (PS), Complexo Recifal de Abrolhos, BA (AB), Guarapari, ES (GP), Ilha de Trindade, ES (TR), Armação dos Búzios, RJ (BZ), Arraial do Cabo, RJ (AC), Ilha Grande, RJ (IG) e Ilhabela, SP (IB).

Um fragmento de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> foi retirado de cada colônia, com ajuda de uma ponteira e martelo, utilizando mergulho autônomo ou livre. As coletas de GP, BZ, AC, IG e IB foram feitas pela autora do presente trabalho, enquanto as demais foram realizadas por colegas de diferentes projetos de pesquisa (Rede SISBIOTA-Mar e Rede Coral Vivo). A identificação da espécie foi garantida por um guia de campo que possuía fotos e uma breve descrição da espécie foco, bem como características que a diferenciam das suas espécies congênicas. A licença de coleta foi obtida através dos órgãos governamentais correspondentes para cada um dos locais amostrados. Os fragmentos coletados foram armazenados em uma solução de lise CHAOS (Tiocianato de guanidina 4 M, N-laurilsarcosil 0,5%, Tris pH 8,0 25 µM, 2-mercaptoetanol 0,1M; Fukami *et al.* 2004) e mantidos a 4 °C por pelo menos uma semana antes da extração do DNA. Em cada localidade foi procurado amostrar pelo menos 30 colônias, mas isso nem sempre foi alcançado devido a menor abundância do coral em determinados locais. O número total de colônias amostradas foi 400 e a quantidade de colônias coletadas em cada localidade variou de sete a 40 (Tabela 2).

Tabela 2: Número de colônias amostradas e as coordenadas dos locais de coleta, sendo estes: Parcel do Manuel Luís, MA (PML), Fortaleza, CE (FZ), Atol das Rocas, RN (AR), Fernando de Noronha, PB (FN), João Pessoa, PB (JP), Tamandaré, PE (TE), Salvador, BA (SA), Porto Seguro, BA (PS), Complexo Recifal de Abrolhos, BA (AB), Guarapari, ES (GP), Ilha de Trindade, ES (TR), Armação dos Búzios, RJ (BZ), Arraial do Cabo, RJ (AC), Ilha Grande, RJ (IG) e Ilha Bela, SP (IB).

	N	Coordenadas
PML	7	0°52'21.7"S 44°15'39.3"W
FZ	30	3°35'51.2"S 38°24'27.3"W
AR	20	3°52'00.4"S 33°48'07.4"W
FN	40	3°51'15.1"S 32°26'43.0"W
JP	16	7°06'46.4"S 34°48'46.7"W
TE	17	8°45'28.5"S 35°05'09.3"W
SA	22	12°56'38.4"S 38°30'50.2"W
PS	33	16°24'58.0"S 38°58'53.0"W
AB	40	17°58'00.7"S 39°11'52.1"W
GP	12	20°42'41.0"S 40°30'29.9"W
TR	31	20°30'06.0"S 29°20'45.7"W
BZ	26	22°44'20.9"S 41°52'27.4"W
AC	31	22°58'02.1"S 42°00'54.5"W
IG	39	23°08'49.0"S 44°19'18.0"W
IB	36	23°52'14.0"S 45°26'26.3"W

### 3.2. Extração de DNA e genotipagem

A extração do DNA genômico total de cada uma das amostras foi feita segundo o protocolo de Fukami e colaboradores (2004). Primeiramente, 250 µL da solução de CHAOS com tecido lisado e 250 µL do tampão PEB ("Phenol Extraction Buffer"; 1M TRIS base pH 8,0, 0,5 M EDTA, 1% SDS) foram adicionados em um novo microtubo de 1,5 mL e a este foram adicionados 500 µL de uma solução de fenol:clorofórmio (1:1). Essa solução foi então misturada com auxílio de um vórtex, centrifugada a 14000 rpm (rotações por minuto) por cinco minutos e o sobrenadante foi recuperado. Esse procedimento foi repetido duas vezes. Ao sobrenadante final recuperado foram adicionados 500 µL de isopropanol P.A. gelado e esta solução permaneceu a -20°C por um período maior que cinco horas para que o DNA fosse precipitado. Depois desse período, a solução foi centrifugada a 14000 rpm por dez minutos, o sobrenadante foi descartado e o DNA obtido foi deixado secando a temperatura ambiente. Depois de seco, o DNA foi ressuscitado em 50 µL de água ultra pura (água MQ; água deionizada pelo sistema Milli-Q da Merck Millipore) autoclavada contendo 0,5 µL de RNase (10 mg/mL). A solução com o DNA foi mantida a -20° C para conservação. Para verificar a integridade e a qualidade do DNA obtido, as extrações foram visualizadas junto com o padrão de DNA Lambda (125 ng/µL) em uma eletroforese em gel de agarose 0.8% em tampão TBE 0,5X (4,45 mM Tris base pH 8,0, 4,45 mM ácido bórico, 0,1 mM EDTA) corado com Gel Red (1000x, Biotium).

A partir do DNA extraído de todas as amostras, foram amplificados via reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) treze *loci* de microssatélites (Mhi1, Mhi2, Mhi4, Mhi14, Mhi16, Mhi17, Mhi18, Mhi20, Mhi21, Mhi23, Mhi24, Mhi26, Mhi27) desenvolvidos especificamente para *M. hispida* por Zilberberg e colaboradores (2013). Cada reação de PCR foi feita utilizando um mix com 5x PCR Buffer (Promega), 200 µM de dNTP, 1 mg/ml de BSA, 1,5-2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM do iniciador F, 0,8 µM do iniciador R, 0,4 µM da cauda com o fluorocromo específico, 1U de Taq polimerase (Promega), entre 50-100 ng do DNA e água MQ para completar o volume final de 10 µl. A ciclagem para todos os marcadores foi um ciclo de 95°C por três minutos, cinco ciclos de 95°C por 30 segundos, 52-62°C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos, 35 ciclos de 92°C por 30 segundos, 52-62°C por 30 segundos, 72°C por 55 segundos e um ciclo final de 72°C por 30 minutos. O fluorocromo, a concentração de MgCl<sub>2</sub> e a temperatura de anelamento variaram de acordo com cada marcador (Tabela 3). O sucesso da amplificação foi verificado por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Gel Red (1000x, Biotium), corrida junto com um padrão de tamanho molecular (100 bp DNA ladder, Fermentas).

Para a genotipagem, os produtos amplificados foram agrupados de acordo com o fluorocromo associado a cada *locus*, procurando agrupar *loci* de fluorocromos diferentes, de modo a minimizar o número de corridas. Desse modo, foi colocado entre 1-3  $\mu\text{L}$  do produto de PCR de dois a quatro *loci* distintos de uma mesma amostra dentro de um mesmo poço em uma placa de PCR de 96 poços, constituindo um “poolplex”. Para a corrida no sequenciador automático (ABI3500) foi colocado 0,5  $\mu\text{L}$  da escada de tamanho LIZ 600 (AppliedBiosystems), 1  $\mu\text{L}$  do “poolplex” e 8,5  $\mu\text{L}$  de formamidaHiDi (AppliedBiosystems) para completar 10  $\mu\text{L}$  em cada poço de uma placa de PCR de 96 poços. A placa com as amostras foi colocada para desnaturar a 95°C por cinco minutos, para resfriar por dois minutos a -20°C e depois foi colocada no sequenciador. As amostras foram genotipadas e os eletroferogramas resultantes foram analisados no programa GeneMarker (SoftGenetics) a fim de obter os genótipos de cada *locus* para cada indivíduo. Todas as amostras que não funcionaram ou tiveram seu genótipo não confiável foram re-amplificadas e re-genotipadas, a fim de obter um genótipo *multilocus* mais completo. As amostras que não apresentaram eletroferogramas confiáveis para determinado *locus* ficaram sem o genótipo para esse marcador.

Tabela 3: Os marcadores utilizados, descritos por Zilberberg et al. (2013), com seus respectivos fluorocromos, temperaturas de anelamento (T° C) e concentrações finais de MgCl<sub>2</sub> no mix da PCR.

	Fluorocromo	T° C	MgCl <sub>2</sub>
Mhi1	VIC	60	2,5
Mhi2	NED	56	1,5
Mhi4	6-FAM	62	2,5
Mhi14	NED	56	2,5
Mhi16	PET	58	2,0
Mhi17	VIC	54	2,5
Mhi18	NED	52	2,5
Mhi20	PET	58	2,5
Mhi21	VIC	52	2,5
Mhi23	6-FAM	58	2,0
Mhi24	VIC	54	2,0
Mhi26	PET	54	2,0
Mhi27	NED	56	2,0

### 3.3. Análises

Como para muitas das análises descritas abaixo as populações a serem testadas devem ser definidas *a priori*, essas populações foram definidas de acordo com seu local de coleta (Fig. 5), assumindo que constituem uma única população. Para distinguir essas populações no restante do texto, elas serão referidas como “localidade” enquanto que o termo “população” será utilizado apenas para os agrupamentos de indivíduos que possuem um alto fluxo gênico entre si, sendo este verificado por alguma análise. Os arquivos nas extensões necessárias para todos os programas foram feitos a partir de uma tabela do Excel (Microsoft) com o programa CREATE (Coombs et al. 2008).

Primeiramente, foi testada a existência de desequilíbrio de ligação entre os *loci* no programa FSTAT (Goudet 2002) e um *locus* de cada par que apresentou desequilíbrio foi retirado, deixando somente um deles para as análises posteriores. Após esse teste, foi verificada a presença de alelos nulos em cada localidade para cada *locus* no programa MicroChecker (van Oosterhout et al. 2004). Os *loci* que tiveram evidência de alelos nulos em mais de dez localidades também foram retirados das análises posteriores. Para caracterizar cada *locus*, o número total de alelos para cada marcador e o número de alelos exclusivos de cada localidade foi calculado pelo programa Microsatellite Toolkit (Park 2001). Foi verificada a diversidade genética das localidades através do cálculo da heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e da heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), também utilizando o Microsatellite Toolkit. Para avaliar se os valores de  $H_o$  foram significativamente diferentes dos valores de  $H_e$ , valor da heterozigosidade esperado no equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), foi calculado o índice de endocruzamento  $F_{IS}$  no programa Genetix (Belkhir et al. 2004). Quando este apresentou um valor de  $p < 0,05$  após a correção de Bonferroni para testes múltiplos, a diferença entre  $H_o$  e  $H_e$  foi considerada significativa,.

A teoria de isolamento por distância apresentada por Wright (1943) afirma que uma população que possua uma distribuição contínua apresenta diferenças nas frequências gênicas, independente de seleção e mutação, se seus indivíduos possuem um potencial de dispersão limitado. Muitas análises utilizadas para detectar padrões de estruturação entre populações podem ser enviesadas se existe isolamento por distância entre as populações, já que pode ser detectada estruturação e inferida a existência de uma possível barreira quando na verdade só foram amostrados dois pontos extremos de uma distribuição contínua (Meirmans 2012). Portanto, foi averiguado se esse fenômeno ocorre antes das análises de estruturação populacional. Para calcular a existência de isolamento por distância entre as localidades, foi feita uma análise no programa IBDWS (Jensen et al. 2005) que coloca a distância genética como função da distância geográfica entre pares de populações. O

programa realiza um teste de Mantel, onde é avaliado se a matriz de distância genética entre cada par (A) se correlaciona com a matriz de distância geográfica entre cada par (B) de modo significativo, onde é calculado  $Z = \sum_{ij} A_{ij} B_{ij}$ . A significância da comparação entre essas matrizes foi obtida comparando o  $Z_{real}$  com uma distribuição de Z obtidos através da aleatorização das linhas e colunas de B, mantendo A constante (Bohonak 2002). O programa também calcula uma linha de regressão de Eixo Principal Reduzido (Reduced Major Axis, RMA). Nessa análise, a distância genética utilizada foi o  $F_{ST}$  e a distância geográfica (km) foi medida aproximadamente, utilizando o aplicativo de mapas do Google (<https://maps.google.com.br>), de modo que a distância fosse o mais reta possível e não passasse pelo continente.

A avaliação da estruturação populacional entre as localidades foi feita utilizando três análises: o índice  $F_{ST}$ , a Análise Fatorial de Correspondência (AFC) e uma análise Bayesiana de agrupamento. O índice de fixação  $F_{ST}$  (Weir e Cockerham 1984) compara a heterozigosidade média das subpopulações (no caso, das localidades) com a heterozigosidade total da população (todas as amostras), levando em consideração o EHW. Se o fluxo gênico entre as subpopulações for restrito, ou seja, se não existir panmixia, haverá uma redução na heterozigosidade média das subpopulações em relação à heterozigosidade total, indicando estruturação populacional (Hamilton 2009). Os índices de fixação  $F_{ST}$  foram calculados par a par e a significância dos valores foi calculada com 1000 permutações, no programa Genetix. A AFC fornece um gráfico de dispersão alélica, onde os objetos analisados (o conjunto de indivíduos) são vistos como uma nuvem de pontos em um hiperespaço, que terão as dimensões definidas pelos termos existentes, neste caso os alelos, em cada uma das variáveis (número de alelos em cada *locus*). Os dados genotípicos de cada indivíduo são representados por valores para cada modalidade de uma variável (os alelos nos diferentes *loci*), onde 0 corresponde à ausência, 1 à presença do alelo no estado heterozigoto e 2 ao alelo no estado homozigoto. Os gráficos da AFC foram gerados pelo programa Genetix.

A análise Bayesiana de agrupamento foi realizada no programa Structure (Pritchard et al. 2000). Nesse programa, os indivíduos são atribuídos a uma população de acordo com o seu genótipo *multilocus* de modo que cada população formada esteja em EHW e que seus *loci* estejam em equilíbrio gamético. Primeiramente, foi feita uma análise para determinar o número de populações, sem utilizar informações *a priori* sobre a localidade de coleta. Após isso, foi feita uma segunda análise utilizando as informações da localidade e o número de população definidas na análise anterior. Ambas as análises foram feitas utilizando o modelo de ancestralidade com mistura (“Admixture”), que assume que os indivíduos podem ter tido origem em mais de uma população e que esta pode não ter sido amostrada, e o de

frequências alélicas correlacionadas, que assume que as frequências alélicas das populações podem ser diferentes e correlacionadas (Falush et al. 2003). A corrida das duas análises foi feita com 1000000 de réplicas da cadeia de Markov-Monte Carlo, sendo 500000 réplicas descartadas no "burnin".

Para a primeira análise no Structure, foi testado um número de populações prováveis ( $k$ ) variando de um a 15 e com dez iterações para cada  $k$  testado. O  $k$  mais provável foi calculado utilizando duas metodologias: a de maior média de probabilidade posterior (LnPD) (Pritchard et al. 2000) e pelo cálculo de  $\Delta(k)$  (Evanno et al. 2005), usando a plataforma online Structure Harvester (Earl e van Holdt 2012). Foram gerados gráficos em barra para cada  $k$  testado, onde foram mostrados os valores do coeficiente  $Q$ , que representa a proporção do genótipo de um indivíduo que pertence à uma população determinada dependendo do  $k$  testado (Pritchard et al. 2000). Os dez gráficos gerados para cada  $k$ , correspondentes à cada iteração, foram sumarizados em um único gráfico usando os programas CLUMPP (Jakobsson e Rosenberg 2007) e Distruct (Rosenberg 2004). A segunda análise foi efetuada utilizando as informações das localidades como *prior* e usando um número de populações fixo, correspondente ao  $k$  mais provável da primeira análise, também com dez iterações. Os gráficos em barra gerados também foram sumarizados em um único gráfico pelos programas CLUMPP e Distruct. Após o  $k$  mais provável ter sido estimado, foi feita uma nova análise do índice  $F_{ST}$  no programa Genetix, para averiguar se houve corroboração da separação populacional indicada pelo Structure. Além disso, a separação das populações seguindo os resultados do Structure também foi averiguada pela AFC, feita pelo programa Genetix.

O modelo clássico populacional de Wright-Fisher, no qual os índices  $F$  foram baseados, assume que as populações não mudam de tamanho, todos os indivíduos se reproduzem igualmente e que cada geração é substituída por seus descendentes. Estimar o fluxo gênico através do índice  $F_{ST}$  é problemático, principalmente por conta das suposições feitas que não correspondem às populações naturais, como de que os tamanhos populacionais são iguais e que as taxas de imigração são simétricas (Whitlock e McCauley 1999, Beerli 2004). Portanto, foram feitas análises com o programa Migrate-N (Beerli e Felsenstein 2001) para estimar o fluxo gênico, que estima taxas de migração e o tamanho populacional das populações dadas utilizando uma abordagem Bayesiana. Nas análises, foram calculados os valores do tamanho populacional efetivo dimensionado pela mutação ( $\Theta$ , onde  $\Theta=4 \times$  tamanho populacional efetivo  $\times$  taxa de mutação por sítio por geração) e a taxa de imigração dimensionadas pela mutação ( $M$ , onde  $M=$  taxa de imigração  $\div$  taxa de mutação por sítio por geração), que quando multiplicados pode-se calcular o número de imigrantes por geração ( $xNm$ ). A taxa de mutação é calculada pelo programa, onde o

número de alelos é contado e isso é usado como medida relativa das taxas de mutação de cada *locus*, sendo a média dessas taxas igual a 1,0.

Como as análises para o Migrate estimam melhor as taxas de migração utilizando até três populações, sendo também muito custoso computacionalmente calcular para quatro ou mais populações (Beerli 2004), os dados foram subdivididos segundo os resultados obtidos pelo Structure quando o *k* era forçado para ser igual a três. O modelo da análise foi o Browniano para microssatélites, com taxa de migração constante. A análise foi feita pelo método de inferência Bayesiana com a distribuição dos *priors* para  $\Theta$  e *M* uniformes, tendo os valores entre 0 e 20 e 0 e 200 para cada um, respectivamente. Foi corrida uma única cadeia longa com 3 réplicas, usando “heating” entre as cadeias, totalizando 1200000 valores de parâmetros amostrados e 10000 de “burnin”. Foram testados seis diferentes tipos de modelo de migração utilizando o fator de Bayes para verificar qual explica melhor as direções de fluxo gênico dos dados de *M. hispida* obtidos, conforme proposto por Beerli e Palczewski (2010). O primeiro foi o modelo de migração completo, onde foi permitida a variação nas taxas de migração e do tamanho populacional efetivo entre todas as populações e todas essas taxas foram estimadas. Os quatro modelos subsequentes possuíam algumas direções de migração não estimadas, por poderem ser consideradas pouco prováveis, tendo como base o resultado obtido no primeiro modelo. O sexto modelo testou a possibilidade das populações serem uma única população panmítica, sendo um modelo controle. Os valores da distribuição marginal de verossimilhança (lnML) foram calculados pelo método de aproximação de Bezier e o modelo com maior valor foi determinado como mais adequado para os dados. O número de imigrantes por geração da população *i* que chegam na população *j* foi calculado da seguinte maneira:  $4Nm = \Theta_j \times M_{i-j}$ .

#### 4. RESULTADOS

Dos treze *loci* de microssatélites analisados no presente estudo, o Mhi24 e o Mhi27 não apresentaram boas amplificações e genotipagens confiáveis mesmo depois de refeitos, portanto, eles foram retirados das análises. Dos onze *loci* restantes, nenhum apresentou desequilíbrio de ligação, porém todos apresentaram probabilidade de presença de alelos nulos para pelo menos uma localidade. O *locus* Mhi4 foi o que apresentou probabilidade de alelos nulos para o maior número de localidades, sendo 14 das 15 analisadas e, com isso, este *locus* também foi retirado das análises de estruturação populacional e migração. Os pares de indivíduos IB4-IB5 e IB30-IB38 possuíam genótipos compostos idênticos, indicando que estes pares são produto de reprodução assexuada, portanto um de cada par foi retirado do conjunto de dados para realizar as análises. Além disso, três outros indivíduos (AR 16, TR 29 e FZ 43) foram retirados por terem o genótipo composto com menos de nove *loci*.

O *locus* com o maior número de alelos foi o Mhi18 (Na=58) e o com menor número foi o Mhi17 (Na=9) (Fig. 6). O número de alelos compartilhados por todas as localidades foi baixo em todos os *loci*, enquanto que o número de alelos exclusivos de um único local foi maior (Fig. 6). O número de alelos exclusivos total de uma localidade variou bastante, sendo TR a com maior número, com 20 alelos, enquanto IB não apresentou nenhum alelo exclusivo. A localidade que apresentou o maior número médio de alelos por *locus* foi FN, seguido de TR, com 13,09 e 12,18, respectivamente (Tabela 4). As localidades com menor número médio de alelos foram IG, com 5,18 e IB, com 4,91 (Tabela 4).

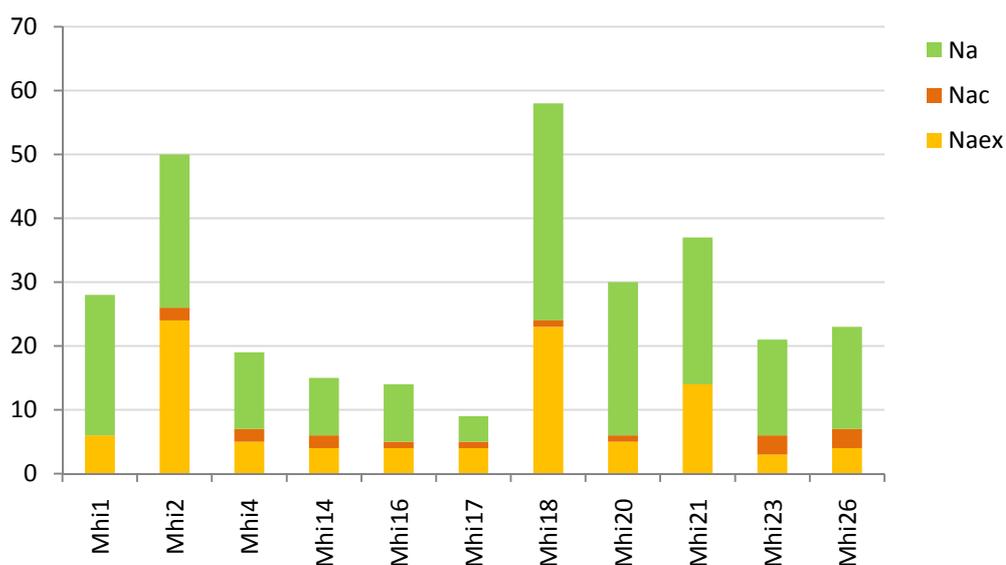


Fig. 6: Número total de alelos (Na) encontrado em cada um dos *loci* analisados, com o número de alelos compartilhados por todas as localidades (Nac) e o número de alelos exclusivos de uma localidade (Naex).

A maior diversidade genética, estimada pelo valor de heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), foi vista nas localidades de SA e TR (Tabela 4). A menor diversidade genética, assim como a diversidade alélica, foi encontrada nas localidades de IG e IB (Tabela 4). A heterozigosidade observada ( $H_o$ ) da maioria das localidades foi significativamente menor que a  $H_e$ , com exceção de FZ (Tabela 4), indicando deficiência de heterozigotos em relação ao esperado no Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 4: Número total de indivíduos analisados (N), número de alelos médio por *locus* ( $N_a/locus$ ), número de alelos exclusivos de cada localidade ( $N_{ex}$ ), valores do índice  $F_{IS}$  e a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e observada ( $H_o$ ) para cada localidade analisada. Os valores de  $F_{IS}$  em negrito apresentaram  $p < 0,05$  após correção de Bonferroni para testes múltiplos.

	N	$N_a/locus$	$N_{ex}$	$F_{IS}$	$H_e$	$H_o$
PML	7	6	5	<b>0,292</b>	0,737	0,532
FZ	29	10,45	9	0,083	0,718	0,659
AR	19	9,09	7	<b>0,171</b>	0,715	0,596
FN	40	13,09	20	<b>0,185</b>	0,715	0,584
JP	16	8,27	5	<b>0,272</b>	0,695	0,510
TE	17	8,45	4	<b>0,260</b>	0,727	0,542
SA	22	9,64	6	<b>0,236</b>	0,790	0,607
PS	33	10,45	4	<b>0,192</b>	0,697	0,565
AB	34	11,36	10	<b>0,227</b>	0,690	0,535
GP	12	6,64	3	<b>0,191</b>	0,703	0,574
TR	30	12,18	11	<b>0,227</b>	0,739	0,574
BZ	26	6,45	3	<b>0,225</b>	0,608	0,474
AC	31	7	5	<b>0,256</b>	0,639	0,477
IG	39	5,18	4	<b>0,160</b>	0,500	0,421
IB	34	4,91	0	<b>0,158</b>	0,505	0,427

O teste de Mantel, para verificar a existência de isolamento por distância, foi significativo ( $p=0,0025$ ), indicando que esse fenômeno provavelmente ocorre para as populações de *M. hispida* (Fig. 7). Apesar disso, a correlação observada entre as distâncias genética e geográfica foi baixa ( $Z=18912,17$ ;  $r=0,4330$ ), já que é possível observar vários pontos distantes da linha de regressão (Fig. 7).

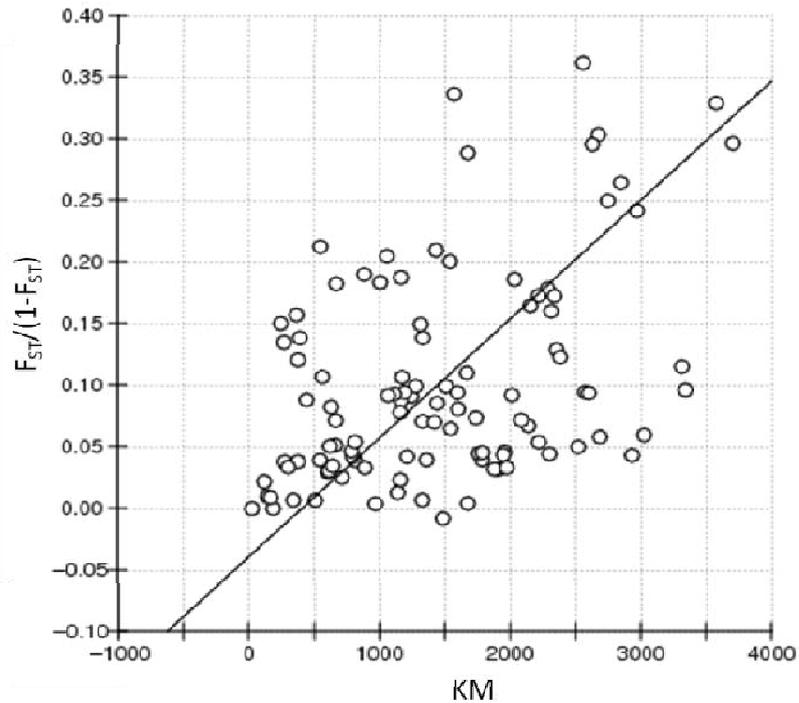


Fig. 7: Correlação entre a distância genética ( $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ) e a distância geográfica (Km) das quinze localidades analisadas, mostrando também uma linha de regressão de Eixo Principal Reduzido calculada pelo programa IBDWS.

A maioria dos índices  $F_{ST}$  calculados par a par foi significativa, indicando um fluxo gênico restrito entre localidades. O  $F_{ST}$  não foi significativo para alguns pares de localidades, sendo eles: PML e FZ; AR e FN; JP e TE; PS e TE; AB e PS; GP e JP; GP e TE; GP e PS; GP e AB; BZ e AC (Tabela 3). Além disso, podemos observar valores baixos de  $F_{ST}$  ( $<0,015$ ) nas comparações AB/JP, AB/TE e IG/IB (Tabela 5). As comparações com os valores mais altos ( $>0,100$ ) foram entre IG e IB com as demais localidades e de AR, FN e TR com AC e BZ, o que indica que essas localidades são as mais diferenciadas entre si (Tabela 5). De modo geral, a partir das análises de  $F_{ST}$ , podem ser consideradas como uma única população as localidades PML+FZ; AR+FN; JP+TE+AB+PS+GP; AC+BZ; já que por essa análise não existe estruturação populacional entre elas. As localidades SA, TR, IB e IG corresponderiam a uma população cada, uma vez que apresentaram valores significativos em todas as comparações feitas.

Tabela 5: Índice  $F_{ST}$  calculado par a par entre as localidades. Os valores sublinhados e em negrito foram aqueles com  $p < 0,05$  após correção de Bonferroni para testes múltiplos.

	FZ	AR	FN	JP	TE	SA	PS	AB	GP	TR	BZ	AC	IG	IB
PML	0,018	<b><u>0,044</u></b>	<b><u>0,035</u></b>	<b><u>0,045</u></b>	<b><u>0,057</u></b>	<b><u>0,054</u></b>	<b><u>0,047</u></b>	<b><u>0,032</u></b>	<b><u>0,050</u></b>	<b><u>0,048</u></b>	<b><u>0,098</u></b>	<b><u>0,089</u></b>	<b><u>0,264</u></b>	<b><u>0,231</u></b>
FZ		<b><u>0,056</u></b>	<b><u>0,044</u></b>	<b><u>0,048</u></b>	<b><u>0,041</u></b>	<b><u>0,071</u></b>	<b><u>0,042</u></b>	<b><u>0,045</u></b>	<b><u>0,044</u></b>	<b><u>0,049</u></b>	<b><u>0,094</u></b>	<b><u>0,094</u></b>	<b><u>0,224</u></b>	<b><u>0,189</u></b>
AR			0,007	<b><u>0,080</u></b>	<b><u>0,087</u></b>	<b><u>0,086</u></b>	<b><u>0,079</u></b>	<b><u>0,072</u></b>	<b><u>0,069</u></b>	<b><u>0,031</u></b>	<b><u>0,141</u></b>	<b><u>0,129</u></b>	<b><u>0,279</u></b>	<b><u>0,242</u></b>
FN				<b><u>0,066</u></b>	<b><u>0,074</u></b>	<b><u>0,083</u></b>	<b><u>0,066</u></b>	<b><u>0,054</u></b>	<b><u>0,061</u></b>	<b><u>0,026</u></b>	<b><u>0,112</u></b>	<b><u>0,107</u></b>	<b><u>0,246</u></b>	<b><u>0,214</u></b>
JP					-0,001	<b><u>0,041</u></b>	<b><u>0,020</u></b>	<b><u>0,008</u></b>	0,006	<b><u>0,072</u></b>	<b><u>0,045</u></b>	<b><u>0,034</u></b>	<b><u>0,148</u></b>	<b><u>0,118</u></b>
TE						<b><u>0,033</u></b>	0,003	<b><u>0,013</u></b>	-0,005	<b><u>0,079</u></b>	<b><u>0,047</u></b>	<b><u>0,049</u></b>	<b><u>0,166</u></b>	<b><u>0,127</u></b>
SA							<b><u>0,037</u></b>	<b><u>0,040</u></b>	<b><u>0,036</u></b>	<b><u>0,090</u></b>	<b><u>0,087</u></b>	<b><u>0,093</u></b>	<b><u>0,184</u></b>	<b><u>0,159</u></b>
PS								0,005	0,007	<b><u>0,086</u></b>	<b><u>0,046</u></b>	<b><u>0,055</u></b>	<b><u>0,174</u></b>	<b><u>0,138</u></b>
AB									0,008	<b><u>0,072</u></b>	<b><u>0,032</u></b>	<b><u>0,035</u></b>	<b><u>0,162</u></b>	<b><u>0,131</u></b>
GP										<b><u>0,068</u></b>	<b><u>0,041</u></b>	<b><u>0,037</u></b>	<b><u>0,183</u></b>	<b><u>0,139</u></b>
TR											<b><u>0,129</u></b>	<b><u>0,123</u></b>	<b><u>0,265</u></b>	<b><u>0,225</u></b>
BZ												0,002	<b><u>0,124</u></b>	<b><u>0,102</u></b>
AC													<b><u>0,137</u></b>	<b><u>0,118</u></b>
IG														<b><u>0,014</u></b>

A análise da AFC não mostrou uma separação clara entre as localidades, formando um contínuo (Fig. 8 A). No entanto, consegue-se perceber que as localidades de IG e IB estão juntas e separadas das demais no canto esquerdo do gráfico (Fig. 8 A), enquanto que AR, FN e TR ficam localizadas no canto direito do gráfico (Fig. 8 B). As demais localidades ficam misturadas entre esses dois grupos mais distintos, parecendo haver uma separação no sentido Norte-Sul, corroborando os resultados da análise de isolamento por distância.

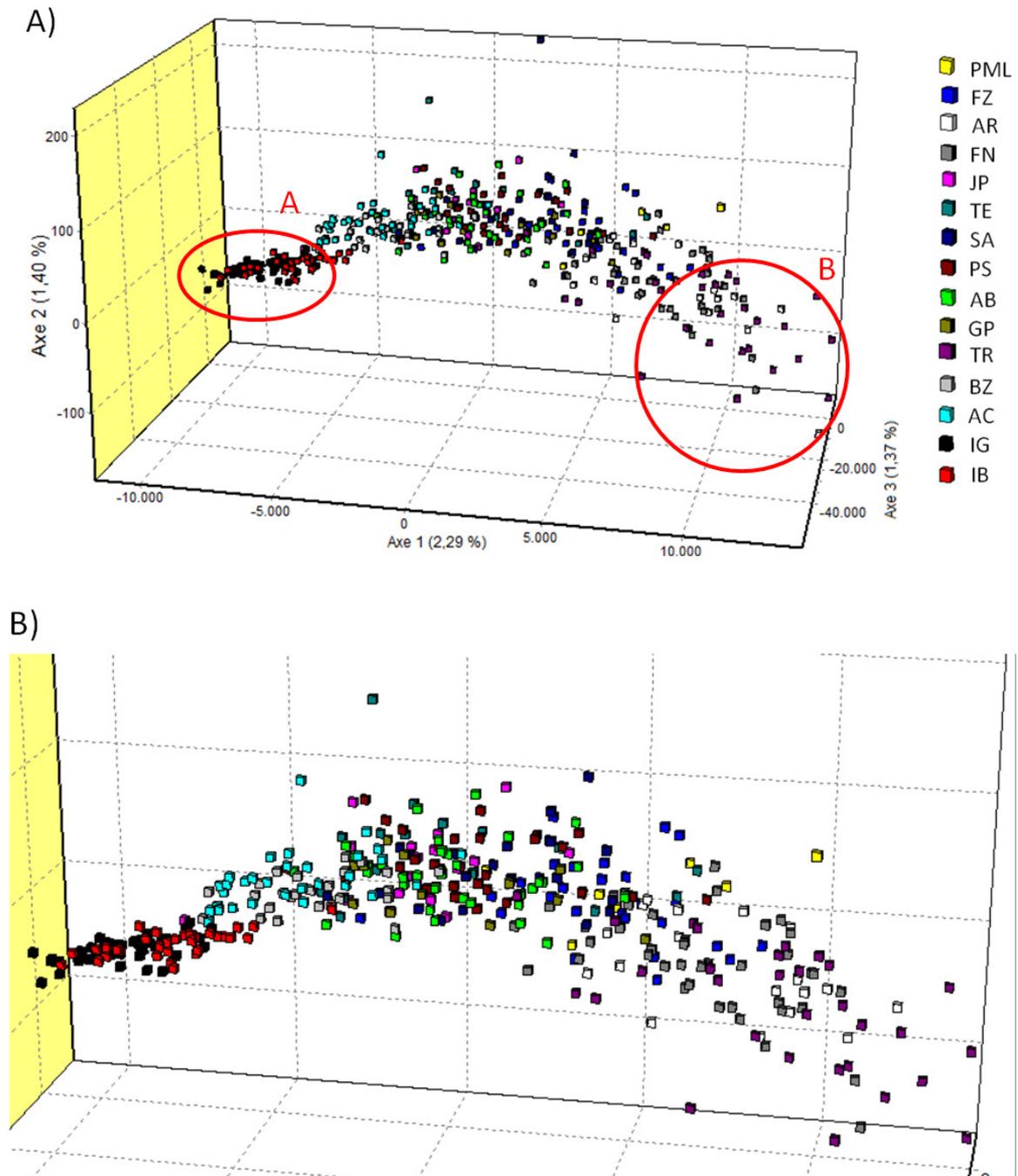


Fig. 8: Gráfico de dispersão da Análise Fatorial de Correspondência (A) e a aproximação da imagem para melhor visualização dos pontos (B). Cada ponto corresponde a um indivíduo e a cor corresponde à localidade na qual ele foi coletado.

O número mais provável de populações pela análise do Structure variou com a metodologia empregada, sendo  $k=4$  o mais provável pelo método do Delta(K) (Fig. 9 A) e  $k=5$  mais provável pelo método da maior média de verossimilhança (LnPD) (Fig. 9 B). Para  $k=4$ , temos as seguintes populações: Ilhas e Norte da costa brasileira (Ilhas-Norte; PML, FZ, AR, FN e TR); Nordeste e Espírito Santo (NE/ES; JP, TE, SA, PS, AB e GP); Região dos Lagos (Reg. Lagos; BZ e AC) e o limite sul de distribuição de *M. hispida* (Limite Sul; IG e IB) (Fig. 10 e 11 C). Para  $k=5$  temos essas mesmas populações, porém a população das Ilhas (AR, FN e TR) se separa da população Norte (PML e FZ) (Fig. 10 e 11 D).

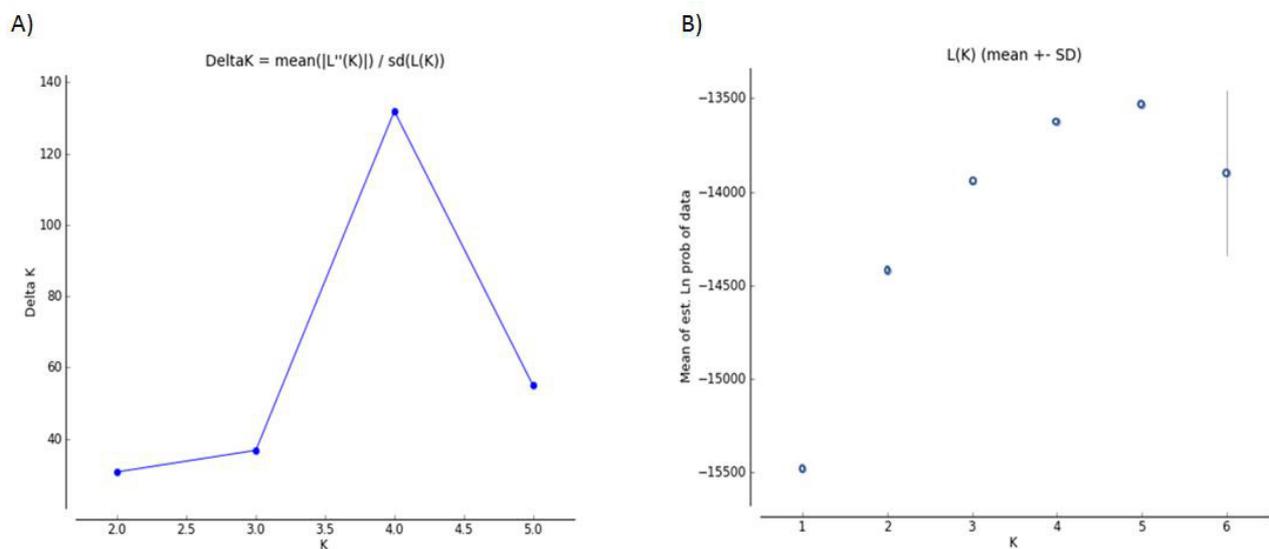


Fig. 9: Número de populações mais provável de acordo com o programa Structure. Em A o método de delta(k) e em B o de maior média de verossimilhança (LnPD).

Restringindo as análises para  $k=2$  e  $k=3$  conseguimos observar quais populações são as mais diferenciadas. Em  $k=2$ , a Região dos Lagos e Limite Sul formam uma única população, enquanto que as Ilhas Oceânicas, Norte e NE/ES formam outra população (Fig. 10 A). Na região do NE/ES e na Região dos Lagos, é possível observar uma mistura na proporção dos genótipos compostos de seus indivíduos, que possuem alelos das duas populações (Fig. 10 A). Para  $k=3$ , as Ilhas Oceânicas e Norte formam uma população, a Região dos Lagos se junta com a população NE/ES, formando outra população e o Limite Sul forma uma única população (Fig. 10 B). Para essa conformação, podemos observar que a população do NE/ES possui genótipos com uma proporção correspondente ao genótipo da população Ilhas-Norte e que a população da Região dos Lagos tem uma proporção dos seus genótipos correspondente ao da população do Limite Sul (Fig. 10 B). Tanto para  $k=2$  como para  $k=3$ , o Limite Sul é a população mais diferenciada, seguida das localidades AR, FN e TR, por terem menos mistura de alelos identificados como sendo de outras populações (Fig.

10 A e B). Para  $k=4$  (Fig. 10 C) e  $k=5$  (Fig. 10 D), também podemos ver que a região NE/ES, a mais central, possui genótipos misturados com o de outras populações. Do mesmo modo, pode-se observar que a população do Limite Sul é a que tem menor proporção de alelos de outras populações, indicando sua maior diferenciação, como visto para  $k=2$  e  $k=3$ .

Comparando os resultados das análises sem e com informação de localidade *a priori* (Fig. 10 e 11), podemos verificar que os padrões gerais são os mesmos, mas nos gráficos com a localidade como *prior* os limites são mais claros. Observando estes gráficos, fica evidente que a população do Limite Sul é a mais distinta, pois quase não se vê alelos pertencentes à outras populações (Fig. 11). Já a população do NE/ES parece ser a mais misturada, possuindo alelos de todas as outras populações, sendo JP a localidade com maior proporção de genótipos oriundos das populações mais ao sul (Fig. 11). A população das Ilhas Oceânicas parece ser a segunda mais distinta das demais, tendo mais influência da população do Norte (Fig. 11 D).

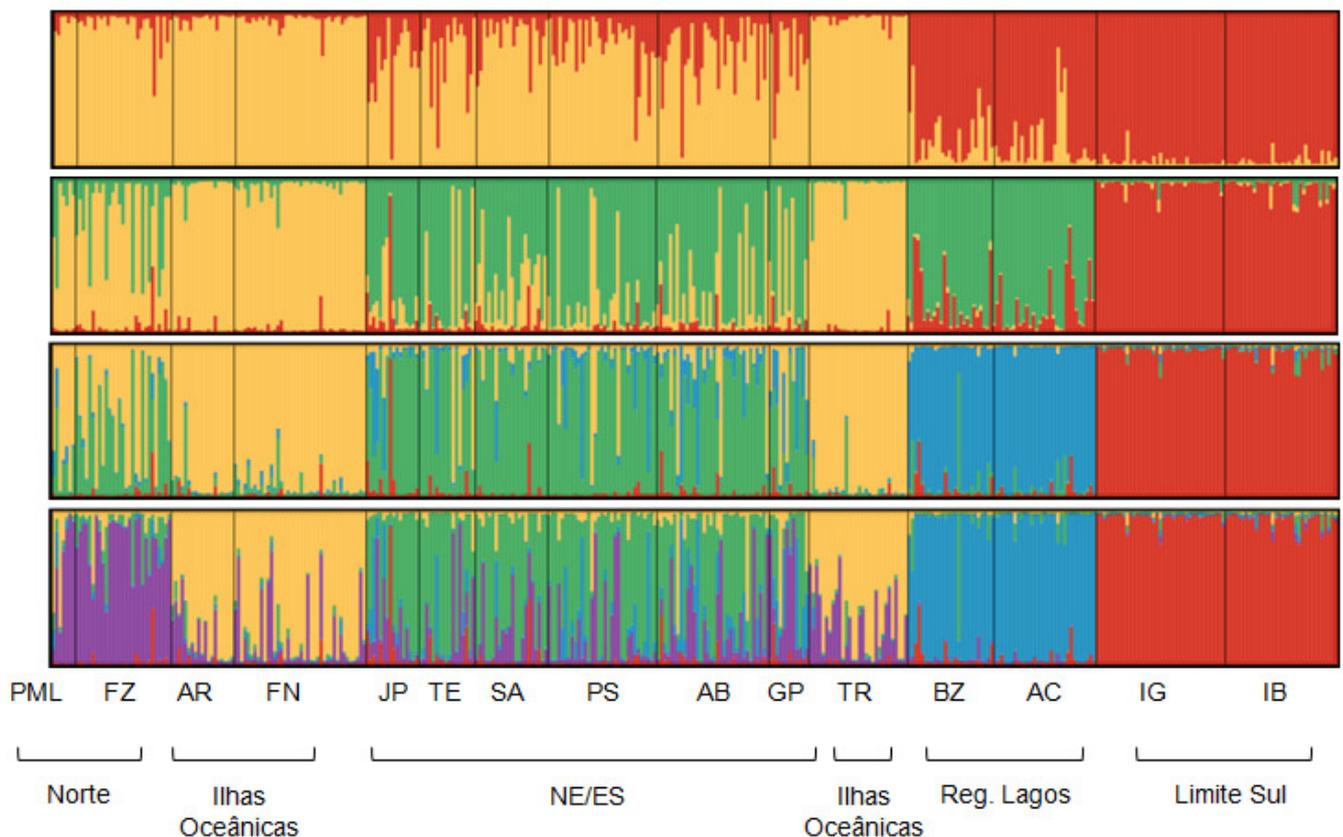


Fig. 10: Compilação dos dez gráficos em barras gerados pelo programa Structure para  $k=2$  (A),  $k=3$  (B),  $k=4$  (C) e  $k=5$  (D), nas análises sem informação de localidade *a priori*. Cada barra vertical corresponde ao genótipo composto de um indivíduo e as cores correspondem à proporção do genótipo pertencente a uma determinada população. As barras pretas separam indivíduos de uma mesma localidade.

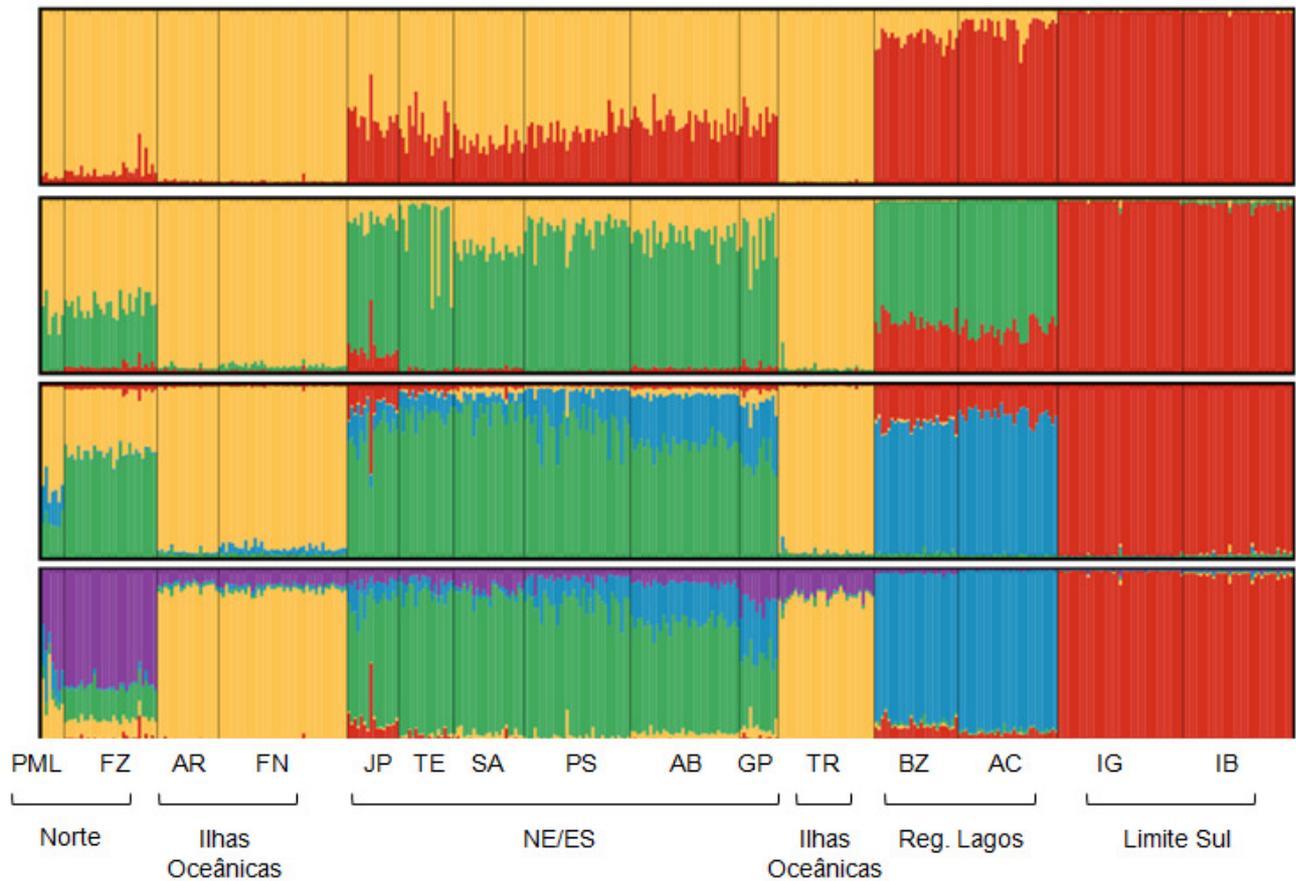


Fig. 11: Compilação dos dez gráficos em barras gerados pelo programa Structure para  $k=2$  (A),  $k=3$  (B),  $k=4$  (C) e  $k=5$  (D), nas análises com informação de localidade *a priori*. Cada barra vertical corresponde ao genótipo composto de um indivíduo e as cores correspondem à proporção do genótipo pertencente uma determinada população. As barras pretas separam indivíduos de uma mesma localidade.

O índice  $F_{ST}$  calculado para as populações observadas pelo programa Structure foi significativo em todas as comparações, tanto para  $k=4$  quanto para  $k=5$  (Tabela 6 B e C). Portanto, essas análises em conjunto apóiam a divisão das localidades em quatro ou cinco populações ao longo da costa. Corroborando as análises do Structure, a população do Limite Sul é a mais diferenciada, possuindo os maiores índices  $F_{ST}$  em todas as comparações ( $F_{ST} > 0,1$ , Tabela 6). Também, como observado no Structure, a população do NE/ES é mais similar as populações Ilhas e Norte, nas três configurações populacionais testadas (Tabela 6). Observa-se que a população do AC/BZ é mais similar à do NE/ES, pois possui valores de  $F_{ST}$  mais baixos quando comparado com as demais (Tabela 6 B e C).

Tabela 6: Índice  $F_{ST}$  calculado par a par entre as populações determinadas pelo programa Structure para  $k=3$  (A),  $k=4$  (B) e  $k=5$  (C). Os valores sublinhados e em negrito foram aqueles com  $p < 0,05$  após correção para testes múltiplos. RL= Região dos Lagos.

A)	NE/ES/RL	Lim. Sul		
Ilhas-N	<b><u>0,053</u></b>	<b><u>0,206</u></b>		
NE/ES/RL		<b><u>0,113</u></b>		

B)	NE/ES	R. Lagos	Lim. Sul	
Ilhas-N	<b><u>0,046</u></b>	<b><u>0,096</u></b>	<b><u>0,206</u></b>	
NE/ES		<b><u>0,040</u></b>	<b><u>0,130</u></b>	
R. Lagos			<b><u>0,118</u></b>	

C)	Ilhas	NE/ES	R. Lagos	Lim. Sul
Norte	<b><u>0,038</u></b>	<b><u>0,038</u></b>	<b><u>0,091</u></b>	<b><u>0,212</u></b>
Ilhas		<b><u>0,060</u></b>	<b><u>0,112</u></b>	<b><u>0,228</u></b>
NE/ES			<b><u>0,040</u></b>	<b><u>0,130</u></b>
R. Lagos				<b><u>0,118</u></b>

Na AFC feita com as populações segundo os resultados do Structure, a dispersão dos indivíduos no gráfico é a mesma da AFC apresentada anteriormente (Fig. 8). No entanto, quando separamos os indivíduos de acordo com essas populações de  $k=4$  e  $k=5$ , ao invés das localidades, como feito anteriormente, pode-se observar melhor os limites entre essas populações e a sobreposição entre elas, uma vez que a cor dos pontos corresponde a essas populações definidas (Fig. 12 B e C). Observando os dois gráficos, a população do Limite Sul é a com menos indivíduos agrupando com outras populações, possuindo uma delimitação mais clara. Nos gráficos com quatro e cinco populações (Fig. 12 B e C), as populações do NE/ES, AC/BZ, Ilhas e Norte encontram-se com limites difusos, possuindo indivíduos coletados em um localidade que se juntam com uma população na qual a maioria dos indivíduos dessa mesma localidade não estão incluídos. No entanto, percebe-se que a população Norte tem mais indivíduos agrupados com a população das Ilhas, e que a população NE/ES possui indivíduos que agrupam com AB/BZ e com as Ilhas-Norte. Tal fato indica uma similaridade na composição genética entre essas localidades, corroborando mais uma vez os resultados do Structure.

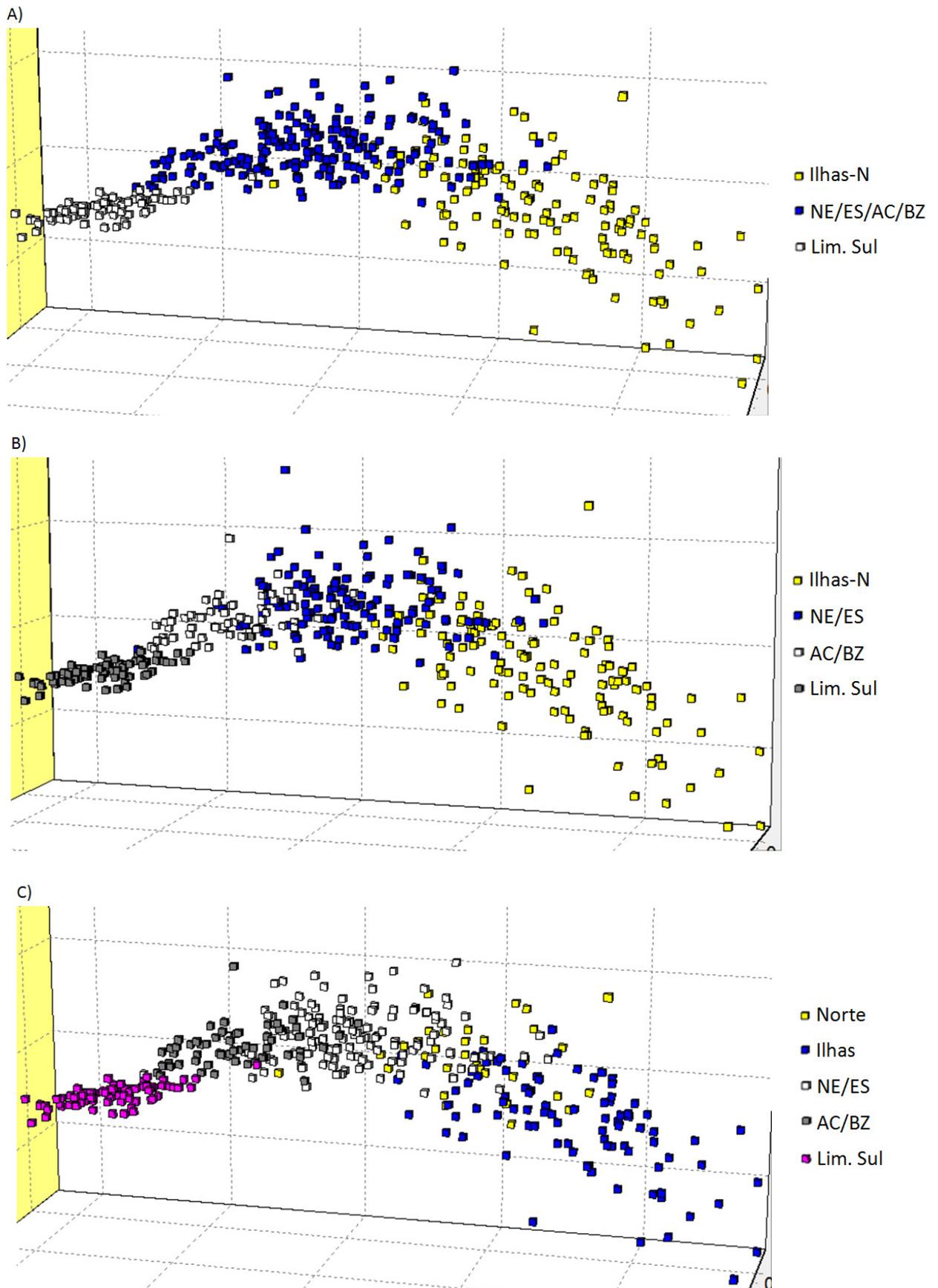


Fig. 12: Gráfico de dispersão da Análise Fatorial de Correspondência utilizando as populações definidas no Structure para  $k=3$  (A),  $k=4$  (B) e  $k=5$  (C). Cada ponto corresponde a um indivíduo e a cor corresponde às populações de acordo com a análise do Structure. Somente a aproximação da imagem para melhor visualização dos pontos foi representada e o gráfico original pode ser visto na Figura 8 A.

Como a análise de inferência do fluxo gênico pelo programa Migrate foi feita com três populações, devido a limitações computacionais, utilizou-se a separação em três populações segundo o Structure e essa separação foi testada através do  $F_{ST}$  (Tabela 6 A) e da AFC (Fig. 12 A). Nesse sentido, as populações usadas foram Limite Sul, enquanto que Ilhas Oceânicas e Norte foram agrupadas em uma única população, assim como NE/ES e Região dos Lagos. Essas populações que foram agrupadas são as populações menos distantes geneticamente entre si, como demonstrado pelas análises anteriores. Pelos cálculos do  $F_{ST}$ , essa conformação de populações é corroborada, tendo valores significativos (Fig. 12 A). Além disso, quando analisamos as populações separadas em  $k=5$ , os valores do  $F_{ST}$  entre essas populações agrupadas são os menores, apesar de significativos (Fig. 12 C). A AFC também demonstra essa similaridade entre as populações agrupadas, onde conseguimos ver que os indivíduos dessas populações estão mais próximos entre si. Apesar de não ser a conformação ideal, como visto anteriormente, essa aproximação poderia ser utilizada por ter embasamento genético, a fim de ter uma estimativa mais robusta da migração. Para essas análises do Migrate, o *locus* Mhi16 foi retirado por estar adicionando muito ruído na análise, já que as estimativas de  $\Theta$  e  $M$  não apresentaram provavelmente porque possui um baixo polimorfismo quando comparado aos demais marcadores.

O primeiro modelo testado no Migrate, onde todas as taxas de imigração ( $M$ ) e os tamanhos populacionais efetivos ( $\Theta$ ) foram estimados (Modelo 1) (Fig. 13 A), mostrou a população do NE/ES/Reg.Lagos com o maior  $\Theta$  e os maiores  $M$  (Tabela 7). Os outros modelos subsequentes foram usados para testar as maiores direções de fluxo gênico, evidenciados por esse primeiro modelo, a fim de averiguar se os fluxos são unidirecionais ou não e se alguns deles podem ser ou não relevantes. Nesse sentido, em todos os modelos foi estimada a emigração de Ilhas-Norte para Limite Sul e de NE/ES/Reg.Lagos para o Limite Sul, já que pelo modelo 1 esses sentidos de fluxo gênico foram os principais (Fig. 13). Sendo assim, o modelo 2 testou uma migração unidirecional entre as populações, onde NE/ES/Reg.Lagos exporta migrantes tanto para Ilhas-Norte e Limite Sul, a população das Ilhas-Norte exporta migrantes para Limite Sul, e Limite Sul não exporta migrantes (Fig. 13 B). O modelo 3 teve como base o modelo 2, só que a população de Ilhas-Norte também exporta migrantes para NE/ES/Reg.Lagos (Fig. 13 C). O modelo 4 foi similar ao modelo 2, porém a população do Limite Sul não é sumidouro e exporta migrantes para Ilhas-Norte (Fig. 13 D). O modelo 5 também foi parecido com o modelo 2, mas a população Ilhas-Norte exporta migrantes para NE/ES/Reg.Lagos e o Limite Sul exporta migrantes para as Ilhas-Norte (Fig. 13 E). O modelo 6 testou a possibilidade das populações serem panmíticas e, portanto, nenhuma taxa de imigração foi estimada (Fig. 13 F).

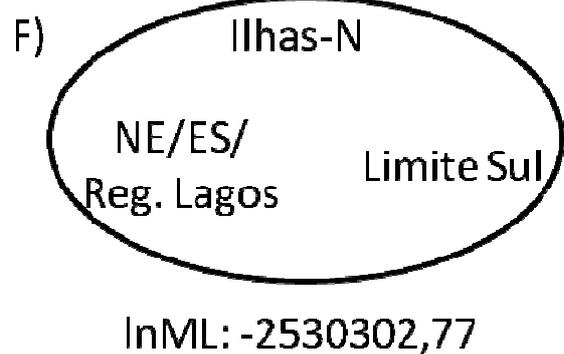
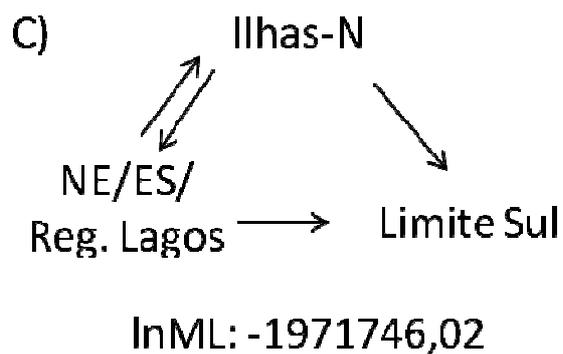
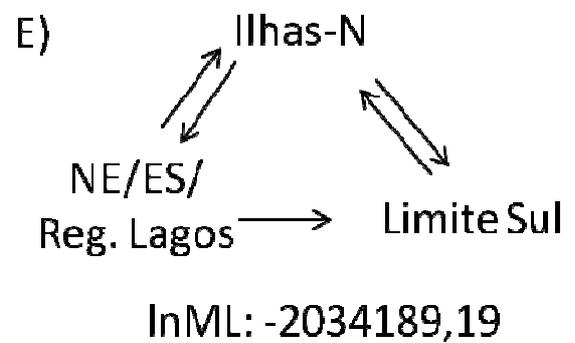
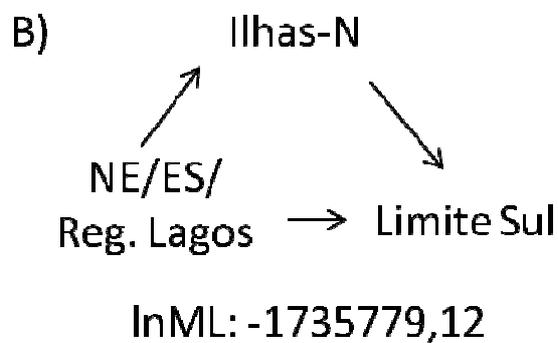
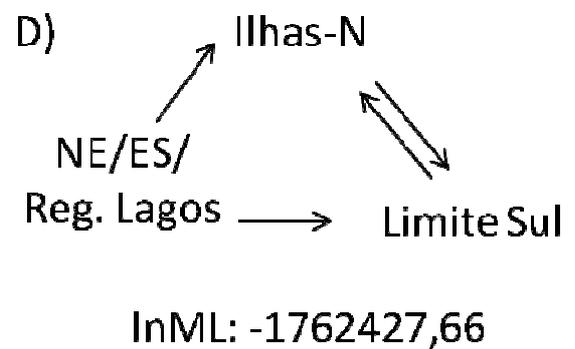
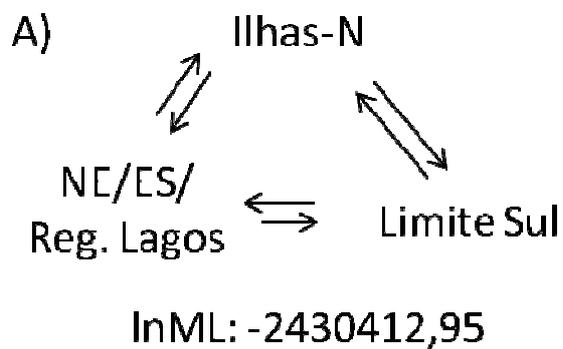


Fig. 13: Esquema dos modelos de migração, onde as setas indicam a direção do fluxo de migração entre as populações que foram estimadas. A ausência de setas indica que tal direção de fluxo gênico não foi estimada pelo modelo, sendo considerada zero. Os modelos testados foram: modelo 1 (A), modelo 2 (B), modelo 3 (C), modelo 4 (D), modelo 5 (E) e modelo 6 (F). Os valores abaixo indicam a distribuição marginal de verossimilhança (InML) pela aproximação de Bezier de cada um dos modelos.

A curva de todos os parâmetros estimados para todos os seis modelos encontra-se no Anexo I. Observando as estimativas obtidas para todos os modelos, os maiores valores de  $\Theta$  foram encontrados para a população NE/ES/Reg. Lagos e os menores valores para a população do Limite Sul (Tabela 7). Avaliando todos os modelos, os maiores valores estimados de  $M$  foram os do NE/ES/Reg. Lagos indo em direção às Ilhas-Norte e do NE/ES/Reg. Lagos para o Limite Sul ( $M_{1-3}$ ,  $M_{2-1}$  e  $M_{2-3}$ , Tabela 7). Dentre os modelos analisados, o que apresentou maior valor da distribuição marginal de verossimilhança foi o modelo 2, sendo este, portanto, o mais provável (Fig. 13 B). Segundo esse modelo, a população do NE/ES/Reg. Lagos exporta migrantes para as populações das Ilhas-Norte e do Limite Sul e não recebe nenhum migrante, funcionando como uma população fonte, enquanto que a população das Ilhas-Norte também exporta migrantes para a população do Limite Sul (Fig. 14). A população do Limite Sul recebe migrantes das outras duas populações (Ilhas-Norte e NE/ES/Reg. Lagos) e não exporta migrantes para nenhuma outra, podendo ser considerada uma população sumidouro (Tabela 7 e Fig. 14). Por esse modelo, o número de migrantes por geração ( $4Nm$ ) seria 65,6 do NE/ES/Reg. Lagos para a população das Ilhas-Norte, 0,1 migrantes partindo das Ilhas-Norte para o Limite Sul e 0,5 saindo do NE/ES/Reg. Lagos para o Limite Sul.

Tabela 7: Moda da distribuição posterior para os parâmetros  $\Theta$  e  $M$  avaliados para cada um dos seis modelos testados. Os valores "x" indicam que o parâmetro não foi estimado. Para as estimativas de  $\Theta$  e  $M$ , 1 corresponde a população das Ilhas-Norte, 2 a população NE/ES/Região dos Lagos e 3 a população do Limite Sul.

	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5	Modelo 6
$\Theta_1$	2,42	3,63	6,97	1,94	2,31	19,38
$\Theta_2$	3,95	6,93	3,53	19,69	5,67	x
$\Theta_3$	0,27	0,02	0,01	0,01	0,09	x
$M_{2-1}$	16,33	18,07	16,07	37,13	167,80	x
$M_{3-1}$	16,33	x	x	8,60	12,87	x
$M_{1-2}$	19,53	x	40,60	x	20,20	x
$M_{3-2}$	13,93	x	x	x	x	x
$M_{1-3}$	47,40	5,40	16,87	10,60	28,87	x
$M_{2-3}$	32,87	22,87	23,40	37,93	88,20	x

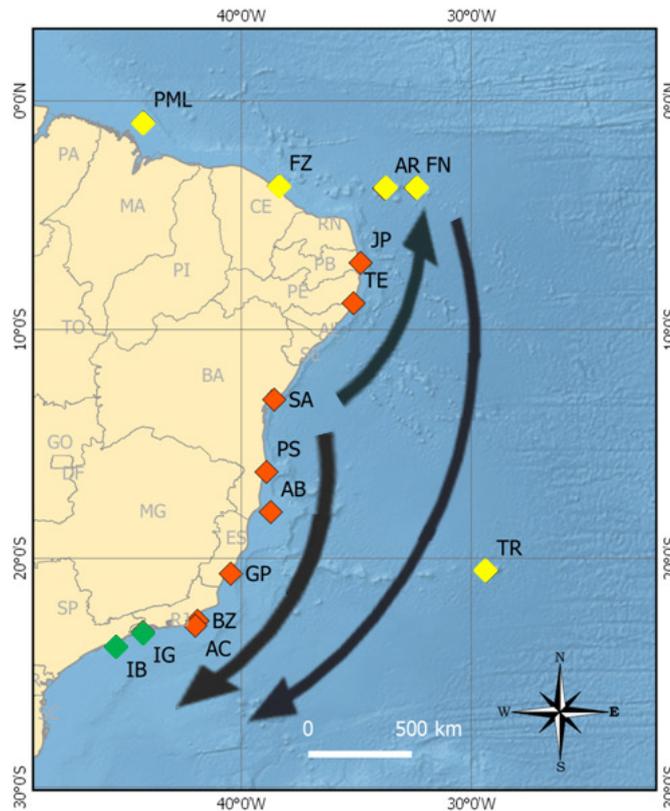


Fig. 14: Mapa esquemático com as populações e o fluxo gênico estimado entre elas. Localidades que apresentam a mesma cor indicam uma mesma população.

O número de alelos compartilhados entre cada *locus* entre essas três populações parece estar de acordo com o modelo 2 estimado pelo Migrate (Fig. 13 B e 14). O maior número de alelos compartilhados entre duas populações ocorre entre NE/ES/Reg. Lagos e Ilhas-Norte, o que é corroborado pela alta taxa de migração entre elas. No entanto, não é observado um grande compartilhamento de alelos entre as populações do NE/ES/Reg. Lagos e Limite Sul, o que era esperado pela alta taxa de migração estimada. O compartilhamento de alelos dessas populações só é observado para o *locus* Mhi16 (Fig. 15), mas este foi excluído das estimativas de fluxo gênico. De modo geral, a população do Limite Sul não possui muitos alelos exclusivos nem muitos alelos compartilhados entre ela e mais alguma outra população. A população que apresenta o maior número de alelos exclusivos é a população das Ilhas-Norte. Por fim, pode-se observar a existência de um número alto de alelos compartilhados entre as três populações (17,9 %, Fig. 15).

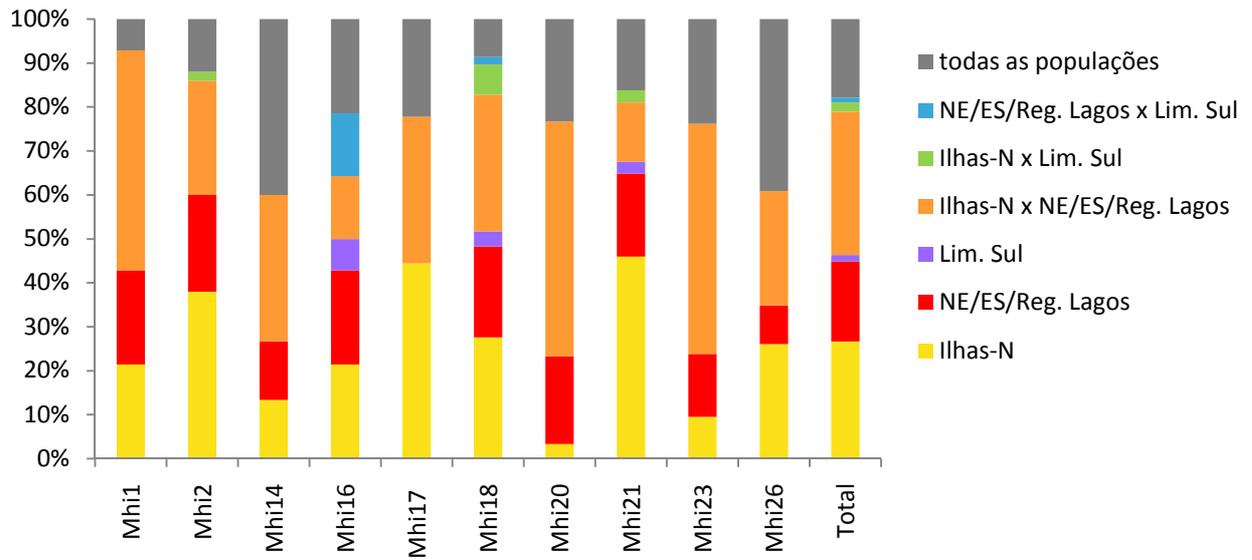


Fig. 15: Gráfico em barras mostrando a proporção dos alelos exclusivos de cada população, dos alelos compartilhados entre duas populações e dos alelos compartilhados entre as três populações para cada um dos *loci* e para todos os *loci* juntos (total).

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Diversidade genética

Neste trabalho, a conectividade genética do coral *Mussismilia hispida* foi avaliada ao longo da sua distribuição na costa brasileira utilizando 11 marcadores microssatélites específicos. A diversidade genética das 15 localidades estudadas pode ser considerada alta, considerando o número de alelos encontrados e as heterozigosidades esperadas, quando comparado a outros estudos com corais escleractíneos (e. g. Severance et al. 2004, Baums et al. 2005, Ridgway et al. 2008, van Oppen et al. 2011). O número médio de alelos encontrados entre todos os *loci* foi 27,6, sendo maior do que o valor encontrado para as espécies *Montastraea annularis* (20,6; Severance et al. 2004), *Acropora palmata* (8,6; Baums et al. 2005) e *Pocillopora verrucosa* (5,0; Ridgway et al. 2008). Essa diferença, no entanto, pode ter ocorrido devido à diferença no número de *loci* avaliados, já que para *M. hispida* foram usados 11 *loci*, enquanto para essas outras espécies foram usados sete, oito e quatro *loci*, respectivamente. Os valores de heterozigosidade esperada por localidade variaram entre 0,50 e 0,74 para *M. hispida*, sendo mais alto do que o encontrado para *Pocillopora verrucosa* (0,04 e 0,59; Ridgway et al. 2008). Os baixos valores em *Pocillopora damicornis* quando comparados com *M. hispida*, no entanto, também podem ser explicados pela baixa amostragem de *loci* desses autores. Os valores de heterozigosidade esperada encontrados foram mais similares aos observados para *M. annularis*, que variaram entre 0,24 e 0,94 (Severance et al. 2004), e para *Acropora millepora*, que teve seus valores entre 0,29 e 0,88 (van Oppen et al. 2011).

Todas as localidades avaliadas, com exceção de Fortaleza (FZ), apresentaram deficiência de heterozigotos, uma vez que a heterozigosidade observada foi significativamente menor do que a esperada pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). A observação de deficiência de heterozigotos parece ser comum em estudos de microssatélites com populações de corais (e. g. Maier et al. 2005, Underwood et al. 2007, Ridgway et al. 2008). Esse desvio pode ser explicado por diversos fatores, já que o EHW depende de diversos pressupostos que muitas vezes não são encontrados em populações naturais. Dois fatores que podem levar a uma deficiência de heterozigotos, por exemplo, são a existência de reprodução não aleatória e endocruzamento (Hamilton 2009), processos que provavelmente são comuns em corais devido à sua natureza sésil e a alta probabilidade de sobreposição de gerações, por serem animais com alta longevidade que se reproduzem continuamente. Apesar disso, a deficiência de heterozigotos também pode ser explicada

pela existência de alelos nulos, que foram observados para alguns *loci* em todas as localidades, além do efeito Wahlund, quando duas populações distintas são consideradas como uma só. Porém, devido aos resultados das análises de estruturação populacional sem informação de localidade *a priori*, fica claro que o efeito Wahlund não ocorre neste estudo.

O conhecimento acerca da diversidade genética de uma espécie tem grande importância para medidas de conservação, já que está associada à sua capacidade de persistência (Laikre et al. 2010). Apesar da grande diversidade geral encontrada para *M. hispida*, nota-se que as populações mais ao sul possuem uma menor diversidade. Da mesma maneira que para o coral *Pocillopora verrucosa* no sul da África (Ridgway et al. 2008), a diversidade genética de *M. hispida* diminuiu com o aumento da latitude. As localidades de Armação dos Búzios (BZ), Arraial do Cabo (AC), Ilha Grande (IG) e Ilhabela (IB) foram as que apresentaram os menores valores de diversidade genética. Essas regiões, principalmente IG e IB, estão localizadas no limite de distribuição de *M. hispida* e, portanto, podem ser consideradas populações periféricas. Uma menor diversidade genética observada nessas localidades era esperada, já que populações periféricas normalmente possuem baixa diversidade genética devido ao menor tamanho populacional efetivo e isolamento em relação as populações centrais (Eckert et al. 2008). Populações nessas condições são consideradas mais suscetíveis à extinções locais e, por isso, podem ser alvos importantes para a conservação (Frankham 2005), mas não devem ser consideradas áreas prioritárias como as áreas de alta diversidade genética, principalmente populações fonte como as do NE/ES. No entanto, é interessante que se considere a importância evolutiva de populações periféricas, uma vez que elas podem apresentar adaptações locais e, com o tempo, pode levar a um processo de especiação alopátrica (Nunes et al. 2009).

## 5.2. Estruturação populacional

Os indivíduos avaliados de *M. hispida* parecem não estão claramente separados quando se observa a análise fatorial de correspondência (AFC), sendo que eles ocorrem em um contínuo. Apesar de alguns indivíduos de uma mesma localidade estarem próximos, muitos se misturam com indivíduos de localidades distintas, indicando que algumas localidades podem corresponder a uma mesma população. Além disso, com exceção dos indivíduos das localidades oceânicas, parece haver uma separação em relação à distribuição norte-sul dos indivíduos da região costeira, o que poderia ser explicado pela existência de isolamento por distância (IBD). A existência de IBD, ou seja, uma maior diferenciação genética com o aumento da distância, é associada a um potencial de

dispersão limitado (Wright 1943). Como há isolamento por distância entre os indivíduos de *M. hispida*, pode-se assumir que a dispersão dessa espécie é restrita localmente. O estudo de Maier e colaboradores (2005) mostrou um padrão de IBD para o coral *Seriatopora hystrix* em uma escala menor, de 5 a 25 km. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de *S. hystrix* ser uma espécie incubadora e suas larvas assentarem em um período bastante curto de até um dia após a sua liberação (Maier et al. 2005), o que é diferente de *M. hispida* que é liberadora de gametas e suas larvas ficam até 10 dias no plâncton antes de assentarem (Débora Pires e Clovis Castro, com. pess.). Juntando as características reprodutivas (incubadores vs. liberadores) com os resultados dos padrões de IBD, podemos assumir que *M. hispida* possui uma maior capacidade de dispersão que *S. hystrix*, já que o IBD em *M. hispida* ocorre em escalas maiores que 25 km. Isso demonstra que mesmo espécies com uma alta capacidade de dispersão podem apresentar uma correlação positiva entre distância geográfica e distância genética (Palumbi 2003).

Apesar de ter sido encontrada uma correlação positiva entre a distância genética e a geográfica, é importante ressaltar que esse padrão pode ser explicado pela existência de outros fatores que não IBD. Segundo Meirmans (2012), o teste de Mantel pode ser enviesado se existe alguma autocorrelação geográfica por conta de fatores históricos, como, por exemplo, a colonização de locais diferentes por diferentes refúgios. Além disso, o fluxo gênico pode depender do gradiente ambiental e ser maior entre ambientes parecidos (IBE, "isolation by environment"), sendo maior do que o previsto pelo IBD (Sexton et al. 2014). Uma revisão feita por Sexton e colaboradores (2014) demonstrou que o IBE é mais comum que IBD, tanto para vertebrados quanto para invertebrados, independente da escala. Ademais, segundo esses mesmo autores, se existe correlação entre a distância e algum fator ambiental, como temperatura, a correlação do IBD observada pode estar sendo causada por um fator ambiental não medido. Uma variável que poderia explicar essa correlação é a diferença de latitude entre os locais amostrados, o que está associado a diferenças climáticas. Como para esse estudo tais fatores que poderiam enviesar o teste de Mantel não foram avaliados, a interpretação desses resultados deve ser cautelosa. No entanto, mesmo com essa limitação, a correlação observada apresenta resultados interessantes. Alguns valores altos de distância genética podem ser observados para *M. hispida* em distâncias geográficas menores (~1500 km), enquanto que valores baixos de distância genética podem ser observados em distâncias geográficas maiores (~3000 km). Isso indica que existem outros fatores além do isolamento por distância que estão interferindo nas diferenças genéticas observadas entre as localidades para esse coral, o que também é evidenciado pelo baixo valor da correlação.

As estimativas genéticas de dispersão podem não ser sensíveis o suficiente para indicar isolamento em escalas demográficas (1-20 anos) (Swearer et al 2002), o que as tornaria de pouco uso para questões ecológicas e de manejo. No entanto, a utilização de análises bayesianas com marcadores hipervariáveis, como os microssatélites, tem permitido demonstrar padrões de conectividade relevantes demograficamente (Cowen e Sponaugle 2009). A estruturação populacional de *M. hispida* variou conforme a metodologia empregada, sendo que o índice  $F_{ST}$  separa as localidades da costa em oito populações distintas (PML+FZ, AR+FN, SA, JP+TE+AB+PS+GP, TR, AC+BZ, IG, IB; Tabela 3), enquanto que o padrão de estruturação inferido pela análise bayesiana do programa Structure separou em quatro (PML+FZ+AR+FN+TR, JP+TE+SA+AB+PS+GP, AC+BZ, IG+IB; Fig. 11 C) ou cinco populações (PML+FZ, AR+FN+TR, JP+TE+SA+AB+PS+GP, AC+BZ, IG+IB; Fig. 11 D). Como o  $F_{ST}$  depende da definição *a priori* do que é uma população, ele pode ser relativo a esses limites. Quando as populações são separadas segundo o encontrado no Structure para  $k=3, 4$  e  $5$ , essas comparações também tem valores de  $F_{ST}$  significativos (Tabela 4). Portanto, o  $F_{ST}$  suporta a divisão de *M. hispida* tanto em três, como em quatro ou cinco populações. De modo geral, as populações ao sul são mais diferenciadas das populações mais ao norte, o que fica claro pelas análises de estruturação e do IBD feitas neste estudo. Observando os padrões gerais das análises, pode-se considerar cinco populações ao longo da costa: a população Norte (PML e FZ), a população Ilhas Oceânicas (AR, FN e TR), a população NE/ES (JP, TE, SA, AB, PS e GP), a população da Região dos Lagos (AC e BZ) e a população do Limite Sul (IG e IB). A separação do Brasil em quatro áreas recifais distintas (Norte, Nordeste, Leste e Sul), como proposto por Leão e colaboradores (2003), não correspondeu a delimitação genética de populações de *M. hispida*, com exceção da área Norte (PML e FZ). Pela separação genética das populações observada, os recifes considerados do Nordeste, Leste e Sul por Leão e colaboradores (2003) formariam uma única população, a população NE/ES, enquanto que a Região dos Lagos (IG e IB) se separaria das demais áreas recifais e formaria outra população, assim como as Ilhas Oceânicas.

### 5.3. Caracterização das populações

A população Norte é mais próxima da população Ilhas Oceânicas. A similaridade entre os indivíduos do Norte e das Ilhas (excluindo TR) pode ser explicada pelo padrão de circulação da Corrente Norte do Brasil, que corre em direção noroeste (Fig. 2; Silveira et al. 2000). Além disso, o fato da corrente não ser forte nessa região, quando comparada a

Corrente do Brasil, e não apresentar grandes mudanças sazonais (Johns et al. 1998) poderia explicar porque não existe um maior fluxo gênico entre as Ilhas (exceto TR) e Norte. Podem existir, também, populações intermediárias não amostradas entre as Ilhas, PML e FZ, que encurtariam a distância de dispersão necessária. No entanto, o grande fluxo gênico que existe entre TR e as demais Ilhas Oceânicas, incluindo a população Norte, não era esperado. Apesar das Ilhas Oceânicas poderem estar conectadas pelo sentido sul da Corrente do Brasil (Silveira et al. 2000), um alto fluxo gênico poderia ser impedido devido a distância de oceano aberto que separa esses locais (~1800 km). Ainda de acordo com os padrões de corrente, a população do Norte só estaria conectada com TR por meio das outras Ilhas Oceânicas (FN e AR).

A existência de conectividade ao longo de uma ampla distribuição geográfica já foi observada para outros corais, como para *Acropora palmata* no Caribe, por distâncias de até 1800 km (Baums et al. 2005) e para *Acropora millepora* separados por mais de 1000 km na Grande Barreira de Corais (van Oppen et al. 2011). O PLD da larva é uma das explicações possíveis para essa alta dispersão encontrada em *M. hispida* e nos estudos com *A. palmata* e *A. millepora*. Para *A. millepora*, apesar das suas larvas assentarem entre 4-6 dias, sendo similar ao de *M. hispida*, elas podem durar até 200 dias na coluna d'água, o que foi usado por van Oppen e colaboradores (2011) para explicar a possibilidade dessa dispersão por longas distâncias. Como para *M. hispida* não existem trabalhos que determinem o PLD ou a longevidade máxima das larvas, não é possível fazer esse tipo de inferência. No entanto, a conectividade entre TR e as outras ilhas oceânicas poderia ser explicada pela existência de populações não amostradas de *M. hispida*, que poderiam ocorrerem montes submarinos ou bancos de arenito mais ao norte, como os Bancos Royal Charlotte (Coutinho 1996), constituindo assim um cenário de "stepping stones". Já foram registradas ocorrências de *M. hispida* em locais mais profundos de 40-65 m em regiões de quebra da plataforma e em montes submarinos, inclusive na Cadeia Vitória-Trindade e em locais mais ao norte, como o Banco Rodger (17°08'S, 036°48'W) (Castro et al. 2006). Nesse sentido, os vórtices formados pela Corrente do Brasil (Fig. 3; Soutelino et al. 2008, Arruda et al. 2013) poderiam explicar como gametas ou larvas produzidas em TR poderiam chegar nas populações mais ao norte, o que seria difícil de ocorrer se não existirem populações intermediárias.

A população Ilhas Oceânicas foi bem diferenciada das populações do nordeste e do sudeste e apresentou uma alta diversidade genética. Essa diferenciação genética fica evidente quando comparamos TR com as demais localidades das populações nordeste e sudeste, como GP, que está mais próxima geograficamente (~1200km) do que as outras ilhas oceânicas. Um estudo feito por Ayre e Hughes (2004) mostrou para cinco espécies de

coral que as populações da Ilha Lord Howe eram geneticamente diferentes e isoladas das demais populações da Grande Barreira de Corais. Segundo os autores, a existência de uma extensão de poucas centenas de quilômetros de oceano aberto era uma barreira bem mais efetiva para dispersão do que essa mesma distância em sistemas recifais contínuos. Desse modo, o mesmo pode acontecer com *M. hispida*, onde a diferença observada separando as populações da costa da população Ilhas-Norte pode ser explicada pela barreira causada pelo oceano. Apesar da existência de oceano aberto entre populações poder atuar como barreira, o porquê disso não é claro, podendo ser explicado, por exemplo, pela falta de habitats favoráveis intermediários (Ayre e Hughes 2004). No entanto, outro fator também pode estar associado a essa barreira, como a circulação complexa que existe em ambientes próximos a costa, que pode reter as larvas localmente e dificultar o transporte para áreas oceânicas (Pineda et al. 2007).

Um estudo feito no Brasil, que avaliou uma escala muito similar à do presente estudo, encontrou diferenças na composição e biomassa dos peixes recifais entre as assembleias da costa e das ilhas oceânicas (Araujo 2014). Nesse estudo, a distância da costa foi um fator bastante informativo para explicar a variação na composição e biomassa, sendo associado pelo autor a um menor impacto de pesca nessas regiões mais afastadas. No entanto, a diferença na composição dessas assembleias de peixes também poderia ser explicada pela dificuldade de dispersão por conta das correntes, o que poderia estar associada à distância da costa avaliada pelo autor. Além disso, a assembleia de esponjas das ilhas oceânicas, incluindo o Arquipélago de São Pedro São Paulo, é similar entre si e diferente da costa, já que são observadas espécies endêmicas nessas localidades (Moraes 2006). Apesar desses dois estudos não avaliarem a diferenciação genética entre esses locais, comparando a composição de espécies eles evidenciam uma separação clara entre as ilhas oceânicas e costa, também observada para *M. hispida*. Um estudo feito com o hidrozoário *Millepora alcicornis*, que avaliou a diferença genética entre localidades da costa do Brasil, também apresenta indícios da separação da população das ilhas oceânicas das demais, já que os maiores valores de diferenciação foram observados comparando Fernando de Noronha com as outras populações avaliadas (Souza 2013). Portanto, a diferenciação observada entre a região costeira e a oceânica parece não ser exclusiva da espécie foco do presente estudo, podendo ser explicada por diferenças ambientais, pela sobrevivência diferenciada das larvas nesses locais ou pela existência de barreiras para a dispersão entre essas localidades.

A população do Limite Sul foi a população mais distante geneticamente entre todas as avaliadas. Mesmo a população da Região dos Lagos apresentou maior similaridade genética com a população NE/ES do que com a população do Limite Sul, não sendo o esperado por

conta da maior proximidade geográfica e do fluxo sul da Corrente do Brasil (Silveira et al. 2000). A exportação de larvas da população NE/ES para a população da Região dos Lagos pode ser explicada por essa corrente, mas o sentido contrário não. A existência do Vórtice de Vitória (Arruda et al. 2013), no entanto, permitiria a dispersão de larvas ou gametas para o norte, contra o sentido da Corrente do Brasil, e poderia explicar a exportação de larvas da população da Região dos Lagos para o NE/ES. A população do Limite Sul também foi a que apresentou a menor diversidade genética.

Tanto a população das Ilhas, como a Norte e NE/ES apresentaram alta diversidade genética, sendo que esta diminuiu nas populações mais ao sul. Segundo o estudo de Souza (2013) com os hidrozoários *Millepora alcicornis* e *Millepora nitida*, as populações mais ao sul do Brasil apresentaram os menores valores de diversidade genética. Para *M. alcicornis*, as amostras do sul da Bahia e do Rio de Janeiro apresentaram os menores índices de diversidade, enquanto que Fernando de Noronha e Rio Grande do Norte apresentaram os maiores valores no Brasil. Para *M. nitida*, o Espírito Santo, local mais ao sul avaliado, apresentou a menor diversidade genética. Esse padrão, de diminuição da diversidade genética com o aumento da latitude, também foi observado para *A. millepora* na Grande Barreira de Corais, sugerindo que as populações mais centrais possuem maior diversidade genética do que nos limites de sua distribuição (van Oppen et al. 2011).

A população do Limite Sul pode ser considerada estruturada por todas as análises feitas, indicando uma baixa conectividade com as demais populações. Uma estruturação em escala pequena, como observada entre as populações da Região dos Lagos e do Limite Sul, já foi observada para o coral *A. millepora*, em recifes separados por dezenas de quilômetros (van Oppen et al. 2011). Assim como no caso desse coral, tal estruturação em *M. hispida* pode ser explicada pela existência de alguma barreira para a dispersão ou pela sobrevivência diferenciada de recrutas. Um fenômeno que poderia estar atuando como barreira para dispersão é a ressurgência de Cabo Frio (Palma e Matano 2009), que poderia impedir a passagem das larvas provenientes da Região dos Lagos para a população do Limite Sul e vice-versa. A época reprodutiva tanto de *M. hispida* (Francini et al. 2002) quanto do coral *Siderastrea stellata* (Lins-de-Barros e Pires 2007) mostraram diferenças nessa região em relação a outras localidades, o que pode ser explicado por essa barreira (Francini et al. 2002, Lins-de-Barros e Pires 2007).

Um estudo feito na Califórnia, durante picos de ressurgência, demonstrou que a maioria do assentamento de larvas de invertebrados bentônicos ocorre na região protegida do vento em relação à região exposta, onde ocorre o afloramento de águas frias (Mace e

Morgan 2006). A região onde ocorre a ressurgência de Cabo Frio com maior intensidade fica próxima a Arraial do Cabo, na face sudoeste da Ilha de Cabo Frio, e essa ressurgência ocorre em parte por conta da direção e intensidade do vento nesse local (Valentin 1984). Essa região mais exposta à ressurgência, onde são encontradas as águas mais frias, poderia apresentar um baixo recrutamento, diferente da região interna. Se existe um baixo recrutamento nessa região exposta, isso pode ser um indício da existência de uma barreira para a dispersão. De fato, na região interna de Arraial do Cabo existem colônias de *M. hispida* e outros corais escleractíneos, enquanto que a região exposta à ressurgência possui uma fauna diferenciada com características subtropicais, o que ocorre principalmente por conta das temperaturas baixas que esse local apresenta (Ferreira 2003). Isso sugere que nessa região, onde as águas mais profundas afloram, há uma menor sobrevivência de corais, o que está de acordo com o encontrado no estudo em áreas de ressurgência feito por Mace e Morgan (2006).

A ressurgência de Cabo Frio ocorre normalmente nas épocas de primavera e verão (Valentin 1984, Valentin et al. 1987), o que coincide em parte com a época reprodutiva de *M. hispida* para a região da Armação dos Búzios (Fevereiro-Abril; Neves e Pires 2002). Já foi visto para a espécie de coral *Oculina varicosa* na Flórida que a formação de larvas é inibida por temperaturas de 17 e 10° C (Brooke e Young 2005). Apesar de não existirem estudos similares para *M. hispida*, a baixa temperatura da água na região externa de Arraial do Cabo, que pode chegar a 13° C (Valentin 1984), poderia impedir o desenvolvimento das suas larvas e, portanto, ser uma barreira para a dispersão. Além da possibilidade das larvas não sobreviverem às baixas temperaturas, áreas de ressurgência podem criar zonas de retenção por conta da estratificação da água (Largier 2003), o que também poderia contribuir para a eficácia da ressurgência como uma barreira de dispersão para *M. hispida*.

Se o Limite Sul realmente se encontra isolada das demais populações, esta pode estar sofrendo as consequências de um gargalo populacional ou mesmo de efeito fundador. Nesse caso, a deriva gênica pode ser responsável por essa diferenciação observada em relação às outras populações. Além disso, sobrevivência diferenciada de recrutas imigrantes nessa população também poderia causar a estruturação observada, o que não necessariamente estaria relacionado à algum isolamento. Nesse caso, de todas as larvas imigrantes que chegam na região, somente aquelas adaptadas para as condições locais sobreviveriam (Lenormand 2002). Um estudo realizado com o coral *Stylophora pistillata* no golfo de Aqaba demonstrou estruturação genética entre duas regiões para colônias adultas, enquanto que para recrutas essa estruturação não foi observada e estes apresentavam grande similaridade genética (Zvuloni et al. 2008). Segundo os autores, as condições locais

ambientais ou biológicas atuariam como determinantes na sobrevivência de alguns genótipos. No entanto, tal hipótese não pode ser testada no presente momento para *M. hispida*, já que não se tem o genótipo de recrutas e a presença de alelos exclusivos relacionados à adaptação não são evidentes em marcadores neutros como microssatélites. Também não se pode descartar a possibilidade de ocorrer um efeito sinérgico, onde tanto a ressurgência como a seleção local de larvas atuam em conjunto, levando, assim, à estruturação observada.

Como apresentado anteriormente, já foi observada uma assincronia reprodutiva para *M. hispida* entre diferentes localidades, mas essa não parece ter grande influência na conectividade das suas populações ao longo da costa. Por exemplo, os indivíduos de *M. hispida* da região de Abrolhos e Porto Seguro apresentam alta conectividade e similaridade genética, podendo ser considerados pertencentes à uma única população, apesar de possuírem períodos reprodutivos distintos (Pires et al. 2009; Projeto Coral Vivo, dados não publicados). Já indivíduos da região de Armação de Búzios, que possuem o período de desova similar ao de Santos (Francini et al. 2002, Neves e Pires 2002), são bem diferenciados da população do Limite Sul. Apesar da região de Santos não ter sido amostrada, ela é mais ao sul que Ilhabela, uma localidade amostrada que pertence à população do Limite Sul e, assim, como essa população, deve apresentar pouca conectividade com a população da Região dos Lagos. Portanto, as diferentes épocas de liberação de gametas desse coral não parecem ser um fator limitante para sua conectividade e, devido ao alto fluxo gênico observado, suas larvas provavelmente conseguem sobreviver um período suficiente na coluna d'água para chegar a diferentes populações.

Regiões diferentes podem ter épocas de desova distintas por conta de adaptações a parâmetros locais e pela existência de diferentes sinalizações para desova (Richmond e Hunter 1990). Para o coral *Pocillopora damicornis*, foi visto que a sua época reprodutiva variava entre colônias de um mesmo local (Richmond e Jokiel 1984). Tal fato foi explicado pelos autores pela existência de imigrantes provenientes de outras populações, adaptados às suas condições de origem, ou à existência de espécies crípticas. Assim, a assincronia observada entre colônias de diferentes recifes dentro do Complexo Recifal de Abrolhos poderia ser explicada pela existência de imigrantes de outras populações, que estariam adaptados a diferentes condições ambientais ou a outras sinalizações de desova, e estes apresentariam épocas reprodutivas distintas. A existência de espécies distintas parece não se aplicar ao caso, já que foi observada uma grande similaridade genética entre todos os indivíduos analisados. A assincronia observada poderia ser explicada pela existência de indivíduos migrantes, já que alguns indivíduos da região de Abrolhos (população NE/ES)

apresentaram genótipos com uma proporção de alelos de outras populações, ou pela variação ambiental entre microhabitats.

O padrão de migração observado para *M. hispida* indicou a população do NE/ES junto com a população da Região dos Lagos como sendo populações fonte (consideradas como uma única população na análise do Migrate). Estas duas regiões juntas exportam migrantes tanto para a população Ilhas-Norte como para a população do Limite Sul. Além disso, os resultados mostram que a população das Ilhas-Norte também exporta para o Limite Sul. Como a população do Limite Sul não exporta migrantes para nenhuma outra e só recebe imigrantes, ela pode ser considerada como uma população sumidouro, de acordo com o modelo mais provável pelo Migrate (modelo 2, Fig. 15 B). Seguindo este mesmo modelo, a população com maior tamanho efetivo é a do NE/ES/Reg. Lagos, seguida pela Ilhas-Norte. Já a população com menor tamanho efetivo é a do Limite Sul, sendo condizente com sua menor diversidade genética. Segundo o número de migrantes por geração estimado, fica claro que a população NE/ES/Reg.Lagos é a maior exportadora de larvas, mesmo considerando que esse estimativa normalmente é bem maior que o valor real (Waples e Gaggiotti 2006). Essa assimetria de fluxo gênico pode ser explicada pela existência de habitats mais vantajosos ou por diferenças nas taxas de dispersão (Kawecki e Holt 2002) como, por exemplo, se em algum local os corais se reproduzem mais ou tem a dispersão facilitada por correntes. A população NE/ES/Reg. Lagos parece ter uma alta taxa de autorecrutamento, o que está de acordo com diversos modelos hidrodinâmicos que indicam retenção local de larvas na ausência de correntes fortes (Swearer et al. 2002).

Os padrões aqui observados de fluxo gênico e diversidade poderiam ser explicados pela existência de refúgios nas regiões da quebra da plataforma durante o Pleistoceno. Entre 17500 e 6500 anos BP, durante o Último Glacial, o nível do mar estava 130 m mais baixo que o atual (Corrêa 1996), o que provavelmente deixou toda a plataforma continental brasileira exposta. Entre 17500 e 16500 anos BP a velocidade de recuo do mar foi de 6 m por ano para o norte e 8 m por ano para o sul (Corrêa 1996). Recifes existentes em áreas costeiras mais rasas provavelmente foram extintos localmente, pois não conseguiriam acompanhar esse recuo do mar devido à sua alta velocidade. Nesse sentido, as Ilhas Oceânicas, bancos de arenito e montes submarinos, que ocorrem após a borda da plataforma continental, podem ter funcionado como refúgio para *M. hispida*, tanto pela colonização de novos habitats ou pela manutenção de populações já existentes nesses locais. A existência desses refúgios explicaria, por exemplo, o porquê das Ilhas Oceânicas, que são distantes e relativamente isoladas geneticamente da costa, apresentarem uma grande diversidade genética e TR ser tão similar às demais ilhas (AR e FN). Após a

glaciação, as regiões do Nordeste e ES podem ter sido colonizadas por diversas fontes, como Ilhas, Norte e populações dos montes submarinos, o que explicaria também a alta diversidade genética desses locais. A população Limite Sul poderia ter sido colonizada por uma única população e sua baixa diversidade genética poderia ser causada por efeito fundador.

Populações não amostradas podem causar um viés nas estimativas de fluxo gênico (Slatkin 2005). Apesar de toda a extensão da distribuição geográfica de *M. hispida* ter sido amostrada, diversas regiões intermediárias não foram representadas. Dois resultados encontrados no presente estudo provavelmente poderiam ser mais bem explicados com uma amostragem mais detalhada. O primeiro deles é a alta conectividade entre TR e as outras Ilhas Oceânicas, que poderia ser causada por eventos históricos como discutido acima, ou pela presença de *M. hispida* em locais não amostrados. Para avaliar qual seria o melhor cenário, seriam necessárias amostras de populações em regiões intermediárias, como as presentes em montes submarinos mais ao norte de TR (Castro et al. 2006). Também seria interessante obter amostras dos montes submarinos da Cadeia Vitória-Trindade, para entender aonde ocorre a barreira entre a costa e TR e onde há maior troca de migrantes. O segundo resultado foi a grande diferenciação entre a população do Limite Sul e as demais populações, principalmente em relação à população vizinha da Região dos Lagos. Para tal, seriam necessárias coletas em localidades menos espaçadas e intermediárias as já analisadas. Apesar de não existirem muitos costões rochosos na região ao sul de Arraial do Cabo, amostras de Saquarema ou do Rio de Janeiro poderiam explicar melhor a efetividade da barreira da ressurgência. Além disso, seria interessante avaliar colônias da região de Santos, onde já existem registros de desova (Francini et al. 2002).

Um maior detalhamento dos padrões de correntes ao longo da costa brasileira e entre as regiões costeiras e as ilhas oceânicas também seria útil para entender melhor os padrões de conectividade observados neste estudo. O uso de modelos biofísicos, que incorporassem características larvais de corais, poderia fornecer informações importantes. Para o coral *Acropora palmata*, no Caribe, foi inferida a existência de duas populações geneticamente distintas, porém o modelo biofísico em larga escala não demonstrou nenhuma possível barreira (Baums et al. 2006). No entanto, um modelo biofísico em menor escala nesse mesmo local conseguiu demonstrar padrões de correntes que poderiam servir como filtro, localizado no canal de Mona (Baums et al. 2006). Isso exemplifica, também, a necessidade de modelos em pequena escala, que poderiam ser interessantes para compreender melhor como a ressurgência de Cabo Frio poderia atuar como barreira para a dispersão.

Por fim, entender a conectividade entre populações de uma espécie é importante para delimitar o tamanho e o espaçamento ótimo entre áreas marinhas protegidas (Jones et al. 2007). Locais considerados como fonte são importantes alvos para a conservação porque conseguem se auto sustentar e exportam migrantes para áreas adjacentes (Jones et al. 2007), o que demonstra a importância de proteger a população mais central de *M. hispida* (NE/ES/Reg.Lagos). Como essa população se estende por uma grande distância geográfica, seria necessária a existência de áreas protegidas ao longo de toda sua distribuição. Se o objetivo do manejo é preservar processos evolutivos, o que é importante em escalas de tempo maiores, é necessário que os padrões de fluxo gênico naturais de todas as populações sejam mantidos (Crandall et al. 2000). A população do Limite Sul, por exemplo, que ocorre no limite de distribuição de *M. hispida*, pode ser mais suscetível à extinção local por ser mais isolada, apresentar um tamanho efetivo e uma diversidade genética menores (Frankham 2005, Jones et al. 2007). Nesse sentido, é importante que regiões que representem todas as quatro populações aqui delimitadas estejam sob um manejo adequado.

## 6. CONCLUSÕES

- A espécie *M. hispida* pode ser dividida em cinco populações ao longo da costa brasileira, sendo estas: 1) população Norte (Maranhão e Ceará); 2) população Ilhas Oceânicas (Atol das Rocas, Fernando de Noronha e Ilha de Trindade); 3) população NE/ES (da Paraíba até Espírito Santo); 4) população da Região dos Lagos (Armação de Búzios e Arraial do Cabo, RJ); e 5) população do Limite Sul (sul do Rio de Janeiro e São Paulo).
- A assincronia reprodutiva reportada para essa espécie parece não interferir no fluxo gênico observado, já que regiões com épocas reprodutivas distintas estão conectadas e regiões com épocas reprodutivas concomitantes encontram-se estruturadas.
- A população das Ilhas Oceânicas apresentou uma alta diversidade e é mais similar geneticamente à população do Norte, recebendo migrantes da população NE/ES e também exportando migrantes para a população do Limite Sul.
- A população mais central, do NE/ES, apresentou uma alta diversidade genética e pode ser considerada como uma população fonte, já que exporta migrantes para todas as outras populações sem receber imigrantes, demonstrando sua importância como alvo de conservação.
- A população da Região dos Lagos apresentou uma diversidade genética intermediária e parece ser mais conectada com a população NE/ES.
- A população do Limite Sul apresentou uma baixa diversidade genética e se mostrou muito divergente em relação às demais, o que pode ser causado pela ressurgência de Cabo Frio atuando como barreira para a dispersão. Essa população pode ser considerada uma população sumidouro pela direção do fluxo gênico observado.

## 7. REFERÊNCIAS

- Alvarenga MF (2009) *Biologia reprodutiva e recrutamento do coral recifal Mussismilia hispida (Verrill, 1902) (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia)*. Tese de Doutorado, Museu Nacional/UFRJ, 124 pp.
- Antônio-de-Souza C, Amaral FD (2002) Variação morfométrica de alguma espécies de corais Mussidae (Cnidaria, Anthozoa) do Brasil. *Tropical Oceanography*, 30(2), 23-36.
- Araujo RM (2014) Fatores preditores da variação espacial na biomassa de peixes recifais ao longo da Província Brasileira. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 62 pp.
- Arruda WZ, Campos EJD, Zharkov V, Soutelino RG, Silveira ICA (2013) Events of equatorward translation of the Vitoria Eddy. *Continental Shelf Research*, 70, 61-73.
- Ayre DJ, Hughes TP (2004) Climate change, genotypic diversity and gene flow in reef building corals. *Ecology Letters*, 7(4), 273-278.
- Baums IB, Miller M, Hellberg ME (2005) Regionally isolates populations of an imperiled Caribbean coral, *Acropora palmata*. *Molecular Ecology*, 14, 1377-1390.
- Baums IB, Paris CB, Chérubin LM (2006) A bio-oceanographic filter to larval dispersal in a reef-building coral. *Limnology and Oceanography*, 51(5), 1969-1981.
- Beerli P, Felsenstein J (2001) Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 98(8), 4563-4568.
- Beerli P (2004) Effect of unsampled populations on the estimation of population sizes and migration rates between sampled populations. *Molecular Ecology*, 13, 827-836.
- Beerli P, Palczewski M (2010) Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. *Genetics*, 185, 313-326.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (2004) *Genetix 4.04, logiciel sous Windows<sup>TM</sup> por la génétique des populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 500, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bohonak AJ (2002) IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity*, 93, 153-154.
- Botsford LW, White JW, Coffroth MA, Paris CB, Planes S, Shearer TL, Thorrold SR, Jones GP (2009) Connectivity and resilience of coral reef metapopulations in marine protected areas: matching empirical efforts to predictive needs. *Coral Reefs*, 28(2), 327-337.

- Brooke S, Young CM (2003) Reproductive ecology of a deep-water scleractinian coral, *Oculina varicosa*, from the southeast Florida shelf. *Continental Shelf Research*, 23, 847-858.
- Budd AF, Fukami H, Smith ND, Knowlton N (2012) Taxonomic classification of the reef coral family Mussidae (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166(3), 465-529.
- Budd AF, Stemann TA, Johnson KG (1994) Stratigraphic Distributions of Genera and Species of Neogene to Recent Caribbean Reef Corals. *Journal of Paleontology*, 68(5), 951-977.
- Caley MJ, Carr MH, Hixon MA, Hughes TP, Jones GP, Menge BA (1996) Recruitment and the local dynamics of open marine populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27,477-500.
- Castelao RM, Barth JA (2006). Upwelling around Cabo Frio, Brazil: The importance of wind stress curl. *Geophysical Research Letters*, 33(3).
- Castro CB, Pires DO (2001) Brazilian coral reefs, what we already know and what is still missing. *Bulletin of Marine Science*, 69(2), 357-371.
- Castro CB, Pires DO, Medeiros MS, Loiola LL, Arantes RCM, Thiago CM, Berman E (2006) Capítulo 4 - Filo Cnidaria - Corais. In: Lavrado HP, Ignacio BL (Eds.). *Biodiversidade bentônica da região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira*. Rio de Janeiro, Museu Nacional. p. 147-192 (Série Livros n. 18)
- Chia FS, Buckland-Nicks J, Young CM (1984) Locomotion of marine invertebrate larvae: a review. *Canadian Journal of Zoology*, 62(7),1205-1222.
- Coombs JA, Letcher BH, Nislow KH (2008) CREATE: a software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. *Molecular Ecology Resources*, 8(3), 578-580.
- Corrêa ICS (1996) Les variations du niveau de la mer durant les derniers 17.500 ans BP: l'exemple de la plateforme continentale e du Rio Grande do Sul - Brésil. *Marine Geology*, 130, 163-178.
- Coutinho PN (1996) Levantamento do estado da arte da pesquisa dos recursos vivo marinhos do Brasil - Oceanografia Geológica. Programa Revizee, 97 pp.
- Cowen RK, Lwiza KM, Sponaugle S, Paris CB, Olson DB (2000) Connectivity of Marine Populations: Open or Closed? *Science*, 287,857-859.
- Cowen RK, Paris CB, Olson DB, Fortuna JL (2002) The role of long distance dispersal versus local retention in replenishing marine populations. *Gulf and Caribbean Research*, 14(2), 129-138.

- Cowen RK, Gawarkiewicz G, Pineda J, Thorrold SR, Werner FE (2007) Population Connectivity in Marine Systems: An Overview. *Oceanography*, 20(3), 14-21.
- Cowen RK, Sponaugle S (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Science*, 1, 443-466.
- Crandall KA, Bininda-Emonds OR, Mace GM, Wayne RK (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in ecology & evolution*, 15(7), 290-295.
- Earl DA, van Holdt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a web site and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.
- Eckert CG, Samis KE, Loughheed SC (2008) Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17, 1170-1188.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet, J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620.
- Fadlallah YH (1983) Sexual reproduction, development and larval biology in Scleractinian corals: a review. *Coral Reefs*, 2, 129-150.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data, linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164, 1567-1587.
- Ferreira CEL (2003) Non-indigenous corals at marginal sites. *Coral Reefs*, 22, 498.
- Francini CLB, Castro CB, Pires DO (2002) First Record of a reef coral spawning event in the western South Atlantic. *Invertebrate Reproduction and Development*, 41(1), 17-19.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126, 131-140.
- Fukami H, Budd AF, Levitan DR, Jara J, Kersanach R, Knowlton N (2004) Geographic differences in species boundaries among members of the *Montastraea annularis* complex based on molecular and morphological markers. *Evolution*, 58(2), 324-337
- Futuyma, DJ (2013) *Evolution*. 3<sup>a</sup> ed., Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Gaines SD, Gaylord B, Gerber LR, Hastings A, Kinlan BP (2007) Connecting places: the ecological consequences of dispersal in the sea. *Oceanography*, 20, 90-99.
- Goudet J (2002) FSTAT v.2.9.3.2, a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86, 485-486.

- Green BS, McCormick MI (2005) Maternal and paternal effects determine size, growth and performance in larvae of a tropical reef fish. *Marine Ecology Progress Series*, 289, 263-272.
- Hamilton SL, Regetz J, Warner RR (2008) Post-settlement survival linked to larval life in a marine fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(5), 1561-1566.
- Hamilton M (2009) *Population genetics*. Blackwell-Wiley, New York.
- Hartl DL (2008) *Princípios de genética de população*. 3ª ed., FUNPEC, São Paulo.
- Hellberg ME (2007) Footprints on water: the genetic wake of dispersal among reefs. *Coral Reefs*, 26, 463-473.
- Hellberg ME (2009) Gene flow and isolation among populations of marine animals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40(1), 291-310.
- Hetzel B, Castro CB, Leão ZM (1994) *Corais do Sul da Bahia*. Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro, RJ, 189 pp.
- Hughes TP (1994) Catastrophes, phase shifts, and large-scale degradation of a Caribbean coral reef. *Science*, 265(5178), 1547-1551.
- 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(8), 2241-2249.
- Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23(14), 1801-1806.
- Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST (2005) Isolation by distance: web service. *BMC genetics*, 6, 13-18.
- Johns WE, Lee TN, Beardsley RC, Candela J, Limeburner R, Castro B. (1998) Annual cycle and variability of the north brazil current. *Journal of Physical Oceanography*, 28, 103-128.
- Jones GP, Srinivasan M, Almany GR (2007) Population connectivity and conservation of marine biodiversity. *Oceanography*, 20, 100-111.
- Karlson RH, Cornell HV (1998) Scale-dependent variation in local vs. regional effects on coral species richness. *Ecological Monographs*, 68(2), 259-274.
- Kawecki TJ, Holt RD (2002) Evolutionary consequences of asymmetric dispersal rates. *The American Naturalist*, 160(3), 333-347.

- Kinlan BP, Gaines SD, Lester SE (2005) Propagule dispersal and the scales of marine community process. *Diversity and Distributions*, 11, 139-148.
- Knowlton N, Maté JL, Guzmán HM, Rowan R (1997) Direct evidence for reproductive isolation among the three species of the *Montastraea annularis* complex in Central America (Panamá and Honduras). *Marine Biology*, 127,705-711.
- Kool JT, Moilanen A, Treml EA (2013) Population connectivity: recent advances and new perspectives. *Landscape Ecology*, 28, 165-185.
- Laikre L, Allendorf FW, Aroner LC, Baker CS, Gregovich DP, Hansen MM, Jackson JA, Kendall KC, McKelvey K, Neel MC, Olivieri I, Ryman N, Schwartz MK, Bull RS, Stetz JB, Tallmon DA, Taylor BL, Vojta CD, Waller DM, Waples RS (2010) Neglect of genetic diversity in implementation of the Convention on Biological Diversity. *Conservation Biology*, 24 (1), 86-88.
- Largier JL (2003) Considerations in estimating larval dispersal distances from oceanographic data. *Ecological Applications*, 13(1), S71-S89.
- Leão ZMAN (1982) *Morphology, geology, and developmental history of the southernmost coral reefs of Western Atlantic, Abrolhos Bank, Brazil*. Tese de Doutorado, University of Miami, Miami. 218 pp.
- Leão ZMAN (1999) Abrolhos - O complexo recifal mais extenso do Oceano Atlântico Sul. In, Schobbenhaus C, Campos DA, Queiroz ET, Winge M, Berbert-Born M. (eds) *Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil*. Publicado na Internet no endereço <http://www.unb.br/ig/sigep/sitio090/sitio090.htm>
- Leão ZMAN, Kikuchi RKP, Testa V (2003) Corals and coral reefs of Brazil. In Cortés J (ed.) *Latin American Coral Reefs*, p 9-52.
- Leão ZMAN, Kikuchi RKP (2005) A relic coral fauna threatened by global changes and human activities, Eastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 51, 599-611.
- Lenormand T (2002) Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(4),183-189.
- Levin L (2006) Recent progress in understanding larval dispersal, new directions and digressions. *Integrative and Comparative Biology*, 46(3),282-297.
- Lins-de-Barros M, Pires DO (2007) Comparison of the reproductive status of the scleractinian coral *Siderastrea stellata* throughout a gradient of 20° of latitude. *Brazilian Journal of Oceanography*, 55(1), 67-69.
- Lowe WH, Allendorf FW (2010) What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*, 19,3038-3051.
- Mace AJ, Morgan SG (2006) Larval accumulation in the lee of a small headland: implications for the design of marine reserves. *Marine Ecology Progress Series*, 318, 19-29.

- Maier E, Tollrian R, Rinkevich B, Nürnberger B (2005) Isolation by distance in the scleractinian coral *Seriatopora hystrix* from the Red Sea. *Marine Biology*, 147, 1109-1120.
- McCook LJ (1999) Macroalgae, nutrients and phase shifts on coral reefs: scientific issues and management consequences for the Great Barrier Reef. *Coral Reefs*, 18(4), 357-367.
- McCook LJ, Almany GR, Berumen ML, Day JC, Green AL, Jones GP, Leis JM, Planes S, Russ GR, Sale PF, Thorrold SR (2009) Management under uncertainty: guide-lines for incorporating connectivity into the protection of coral reefs. *Coral Reefs*, 28(2), 353-366.
- Meirmans P (2012). The trouble with isolation by distance. *Molecular Ecology*, 12, 2839-2846.
- Mendes JM, Woodley JD (2002) Timing of reproduction in *Montastraea annularis*: relationship to environmental variables. *Marine Ecology Progress Series*, 227, 241-251.
- Millican PF, Helm MM (1994) Effects of nutrition on larvae production in the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Aquaculture*, 123, 83-94.
- Moraes FC (2006) Taxonomia e biogeografia de esponjas das ilhas oceânicas brasileiras. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Neves EG, Pires DO (2002) Sexual reproduction of Brazilian coral *Mussismilia hispida* (Verrill, 1902). *Coral Reefs*, 21, 161-168.
- Nunes F, Fukami H, Vollmer SV, Norris RD, Knowlton N (2008) Re-evaluation of the systematics of the endemic corals of Brazil by molecular data. *Coral Reefs*, 27(2), 423-432.
- Nunes, F, Norris RD, Knowlton N (2009) Implications of isolation and low genetic diversity in peripheral populations of an amphi-Atlantic coral. *Molecular Ecology*, 18(20), 4283-4297.
- Oliver J, Babcock RC (1992) Aspects of the fertilization ecology of broadcast spawning corals: sperm dilution effects and in situ measurements of fertilization. *Biology Bulletin*, 183, 409-417.
- Palma ED, Matano RP (2009) Disentangling the upwelling mechanisms of the South Brazil Bight. *Continental Shelf Research*, 29(11), 1525-1534.
- Palumbi SR (2003) Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecological Applications*, 13(1), S146-S158.

- Paris CB, Chérubin LM, Srinivasan A, Cowen RK (2007) Surfing, spinning, or diving from reef to reef: effects on population connectivity. *Marine Ecology Progress Series*, 347,285-300.
- Park SDE (2001) *Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection*. Ph.D. thesis, University of Dublin.
- Pineda J, Hare JA, Sponaugle S (2007) Larval transport and dispersal in the coastal ocean and consequences for population connectivity. *Oceanography*, 20(3), 22-39.
- Pires DO, Castro CB, Ratto CC (1999) Reef coral reproduction in the Abrolhos Reef Complex, Brazil: the endemic genus *Mussismilia*. *Marine Biology*, 135(3), 463-471.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959
- Pulliam HR (1988) Sources, sinks, and population regulation. *The American Naturalist*, 132(5),652-661.
- Raimondi PT, Morse ANC (2000) The consequences of complex larval behavior in a coral. *Ecology*, 81, 3193–3211.
- Richmond RH, Jokiel PL (1984) Lunar periodicity in larva release in the reef coral *Pocillopora damicornis* at Enewetak and Hawaii. *Bulletin of Marine Science*, 34(2), 280-287.
- Richmond R, Hunter C (1990) Reproduction and recruitment of corals: comparisons among the Caribbean, the Tropical Pacific, and the Red Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 60, 185-203.
- Ridgway T, Riginos C, Davis J, Hoegh-Guldberg O (2008) Genetic connectivity patterns of *Pocillopora verrucosa* in southern African Marine Protected Areas. *Marine Ecology Progress Series*, 354,161-168.
- Riginos C, Nachman MW (2001) Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology*, 10(6), 1439-1453.
- Roberts JM, Wheeler AJ, Freiwald A (2006) Reefs of the deep: the biology and geology of cold-water coral ecosystems. *Science*, 312(5773), 543-547.
- Rosenberg NA (2004) DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4(1), 137-138.
- Roughgarden J, Iwasa Y, Baxter C (1985) Demographic theory for an open marine population with space-limited recruitment. *Ecology*, 66(1), 54-67.

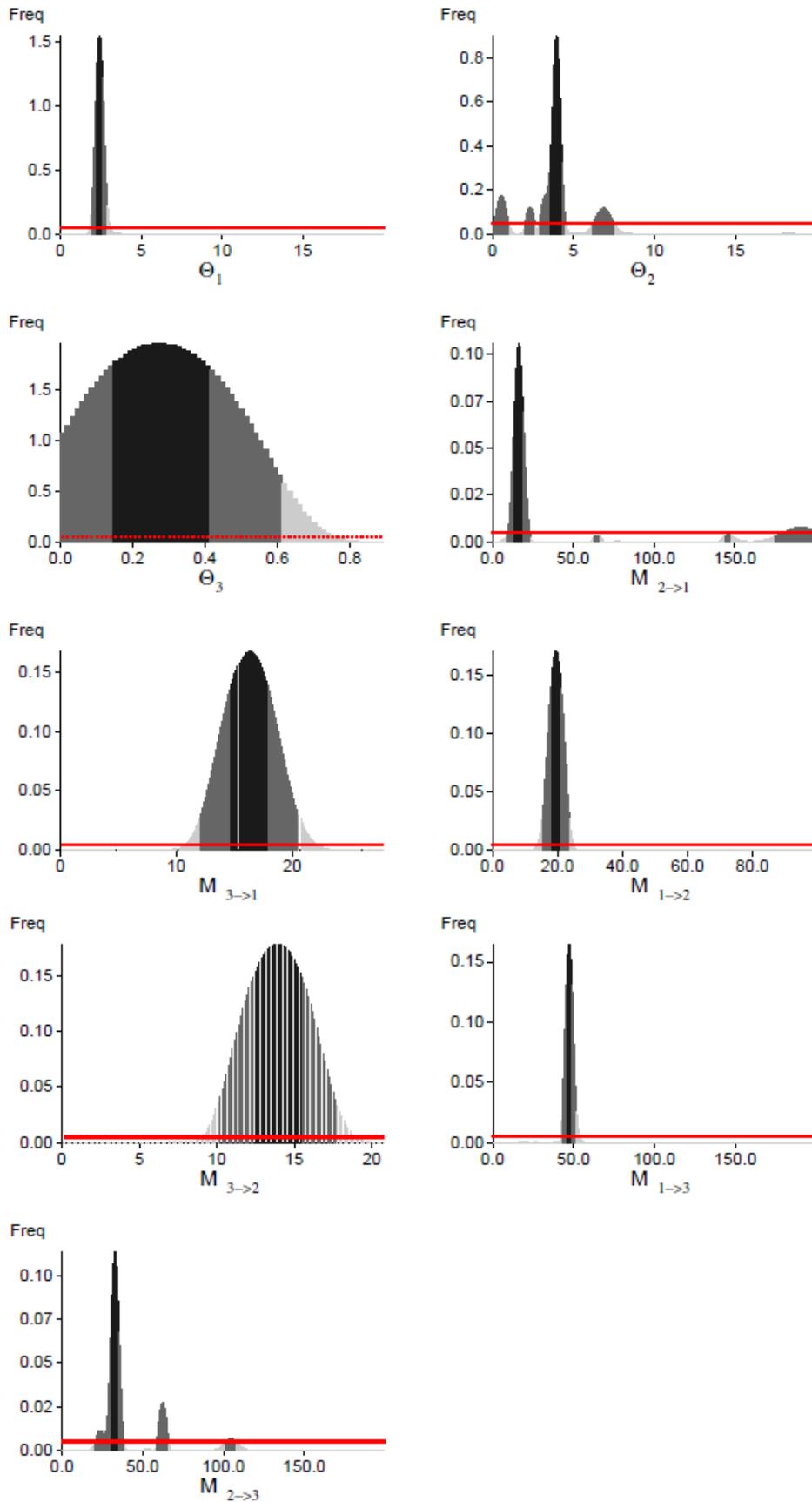
- Scheltema RS (1988) Initial evidence for the transport of teleplanic larvae of benthic invertebrates across the East Pacific Barrier. *Biological Bulletin*, 174, 145–152.
- Severance EG, Szmant AM, Karl SA (2004) Microsatellite loci isolated from the Caribbean coral, *Montastraea annularis*. *Molecular Ecology Notes*, 4, 74-76.
- Sexton JP, Hangartner SB, Hoffmann AA (2014) Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? *Evolution*, 68(1), 1-15.
- Siegel DA, Kinlan BP, Gaylord B, Gaines SD (2003) Lagrangian descriptions of marine larval dispersion. *Marine Ecology Progress Series*, 260, 83-96.
- Silveira ICA, Schmidt ACK, Campos EJD, Godoi SS, Ikeda Y (2000) A Corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. *Revista Brasileira de Oceanografia*, 48(2), 171-183.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236, 787-792.
- Slatkin M (2005) Seeing ghosts: the effect of unsampled populations on migration rates estimated for sampled populations. *Molecular Ecology*, 14, 67-73.
- Soutelino RG (2008) *A origem da Corrente do Brasil*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 101 pp.
- Soutelino RG, Silveira ICA, Gangopadhyay A, Miranda JA (2011) Is the Brazil Current eddy-dominated to the north of 20°S? *Geophysical Research Letters*, 38, L03607.
- Souza JN (2013) *Endemismo e conectividade de corais-de-fogo (*Millepora* spp.) no oceano Atlântico*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 122 pp.
- Sponaugle S, Cowen RK, Shanks A, Morgan SG, Leis JM, Pineda J, Boehlert G W, Kingsford MJ, Lindeman KC, Grimes C, Munro JL (2002) Predicting self-recruitment in marine populations: biophysical correlates and mechanisms. *Bulletin of Marine Science*, 70(1), 341-375.
- Stat M, Baker AC, Bourne DG, Correa AMS, Forsman Z, Huggett MJ, Pochon X, Skillings D, Toonen RJ, van Oppen MJ, Gates RD (2012) Molecular delineation of species in the coral holobiont. *Advances in Marine Biology*, 63:1-65.
- Stramma L, Ikeda Y, Peterson RG (1990) Geostrophic transport in the Brazil current region north of 20°S. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 37(12), 1875-1886.
- Swearer SE, Shima JS, Hellberg ME, Thorrold SR, Jones GP, Robertson DR, Morgan SG, Selkoe KA, Ruiz GM, Warner RR (2002) Evidence of self-recruitment in demersal marine populations. *Bulletin of Marine Science*, 70(1), 251-271.
- Szmant AM (1986) Reproductive ecology of Caribbean reef corals. *Coral Reefs*, 5, 43-53.

- Thorson G (1950) Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biology Reviews*, 25, 1–45.
- Underwood JN, Smith LD, van Oppen MJ, Gilmour P (2007) Multiple scales of genetic connectivity in a brooding coral on isolated reefs following catastrophic bleaching. *Molecular Ecology*, 16, 771-784.
- Valentin JL (1984) Analyse des paramètres hydrobiologiques dans la remontée de Cabo Frio (Brésil). *Marine Biology*, 82, 259-276.
- Valentin JL, André DL, Jacob SA (1987) Hydrobiology in the Cabo Frio (Brazil) upwelling: two-dimensional structure and variability during a wind cycle. *Continental Shelf Research*, 7(1), 77-88.
- van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535-538.
- van Oppen MJH, McDonald BJ, Willis B, Miller DJ (2001) The evolutionary history of the coral genus *Acropora* (Scleractinia, Cnidaria) based on a mitochondrial and a nuclear marker: reticulation, incomplete lineage sorting, or morphological convergence? *Molecular Biology and Evolution*, 18(7), 1315-1329.
- van Oppen MJH, Peplow LM, Kininmonth S, Berkelmans R (2011) Historical and contemporary factors shape the population genetic structure of the broadcast spawning coral *Acropora millepora* on the Great Barrier Reef. *Molecular Ecology*, 20, 4899-4914.
- Verrill AE (1868) Notes on the radiata in the Museum of Yale College, with descriptions of new genera and species. *Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences*, 45(2), 247-613.
- Verrill AE (1902) Variation and nomenclature of Bermudian, West Indian and Brazilian reef corals, with notes on various Indo-pacific corals. *Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences*, 11(1), 63-168.
- Villinski JT (2003) Depth-independent reproductive characteristics for the Caribbean reef-building coral *Montastraea faveolata*. *Marine Biology*, 142, 1043-1053.
- Waples RS, Gaggiotti O (2006) What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology*, 15, 1419-1439.
- Weersing K, Toonen R (2009) Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Marine Ecology Progress Series*, 393, 1-12.
- Weir B, Cockerham C (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6), 1358-1370.

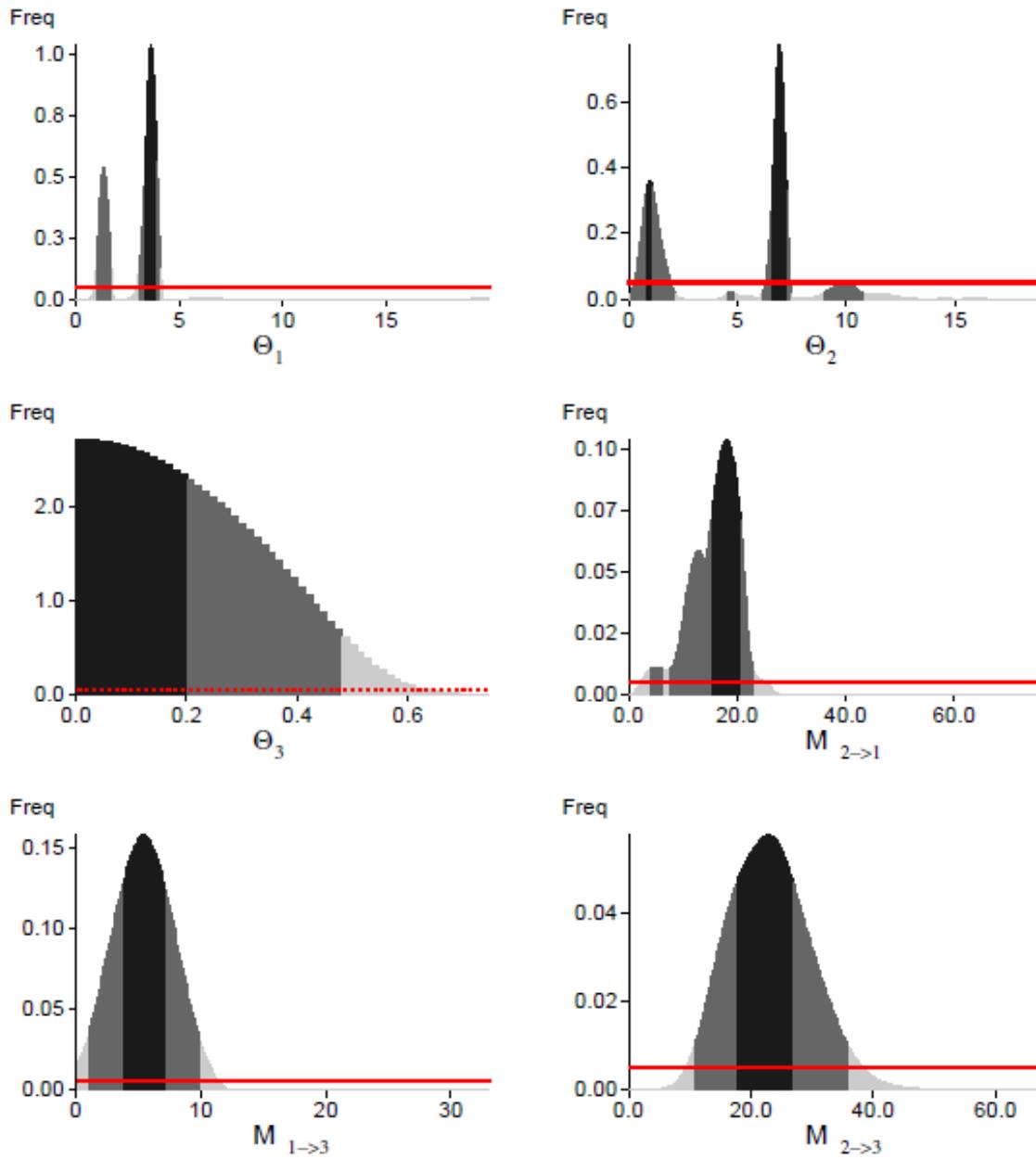
- Whitlock MC, McCauley DE (1999) Indirect measures of gene flow and migration:  $F_{ST} \approx 1/(4Nm + 1)$ . *Heredity*, 82(2), 117-125.
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics*, 28 (2), 114-138.
- Zilberberg C, Peluso L, Marques JA, Cunha H (2014) Polymorphic microsatellite loci for endemic *Mussismilia* corals (Anthozoa, Scleractinia) of the Southwest Atlantic Ocean. *Journal of Heredity*, 105 (4), 572-575.
- Zvuloni A, Mokady O, Al-Zibdah M, Bernardi G, Gaines SD, Abelson A (2008) Local scale genetic structure in coral populations: a signature of selection. *Marine Pollution Bulletin*, 56, 430-438.

## 7. ANEXO I - Parâmetros estimados pelo Migrate para os modelos testados

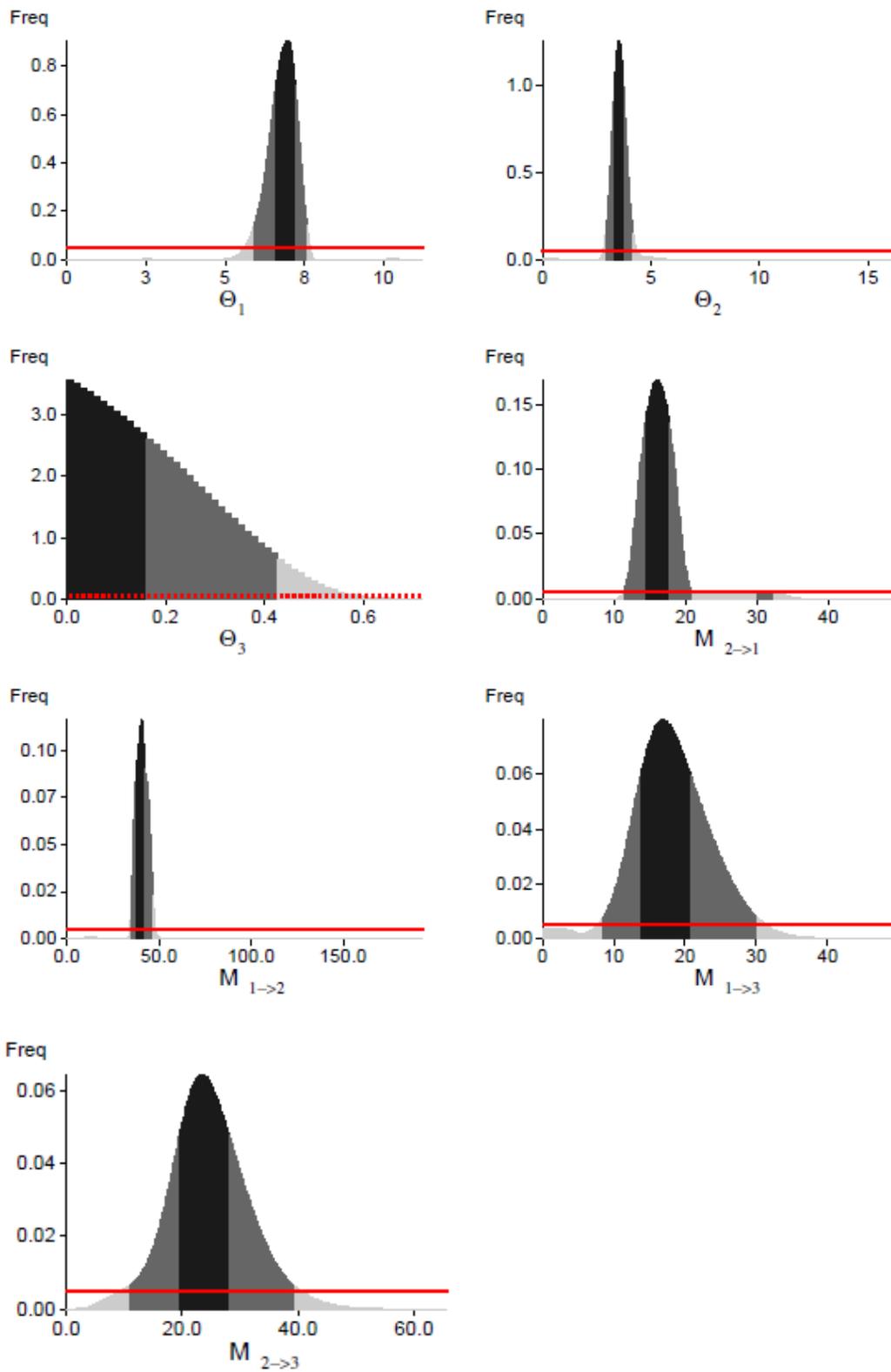
A) Modelo 1 – Curvas da distribuição posterior total dos *loci* para cada parâmetro estimado.



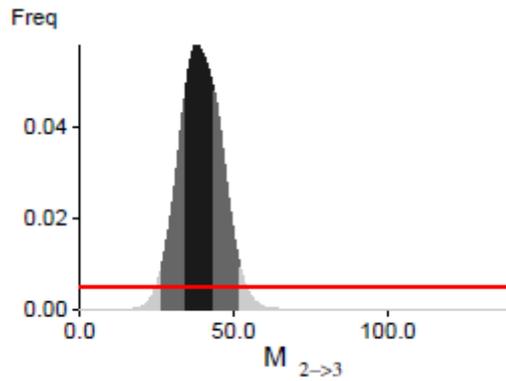
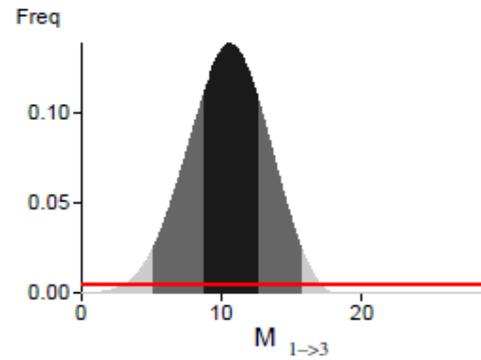
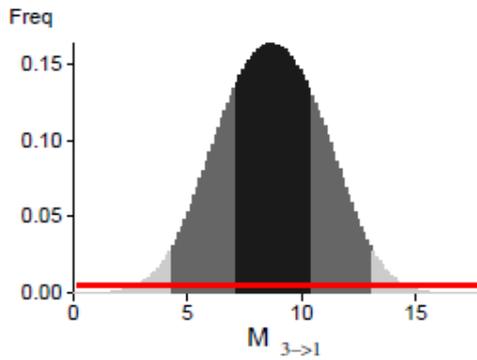
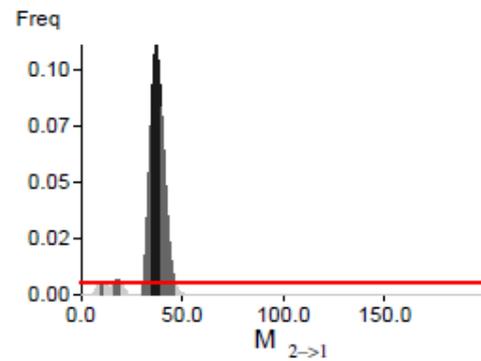
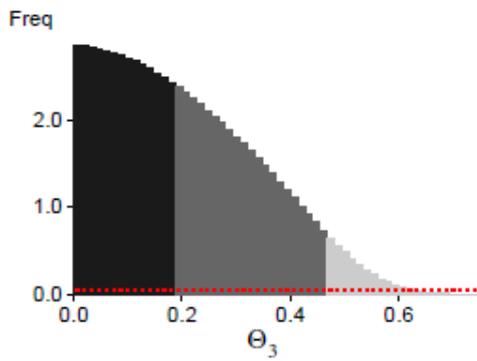
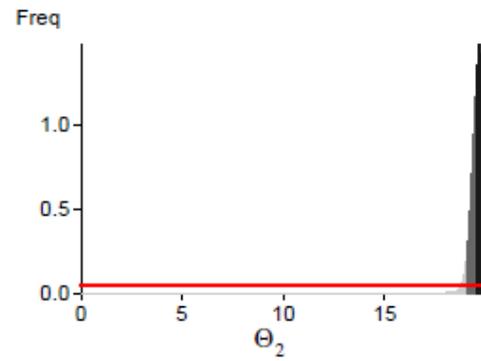
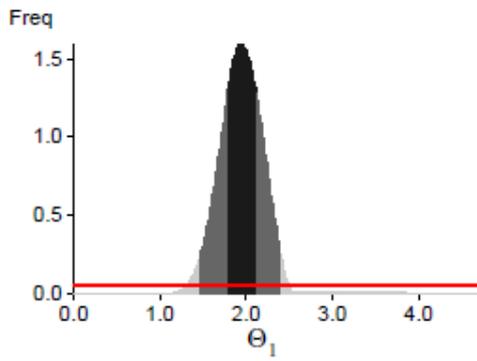
B) Modelo 2 – Curvas da distribuição posterior total dos *locipara* para cada parâmetro estimado.



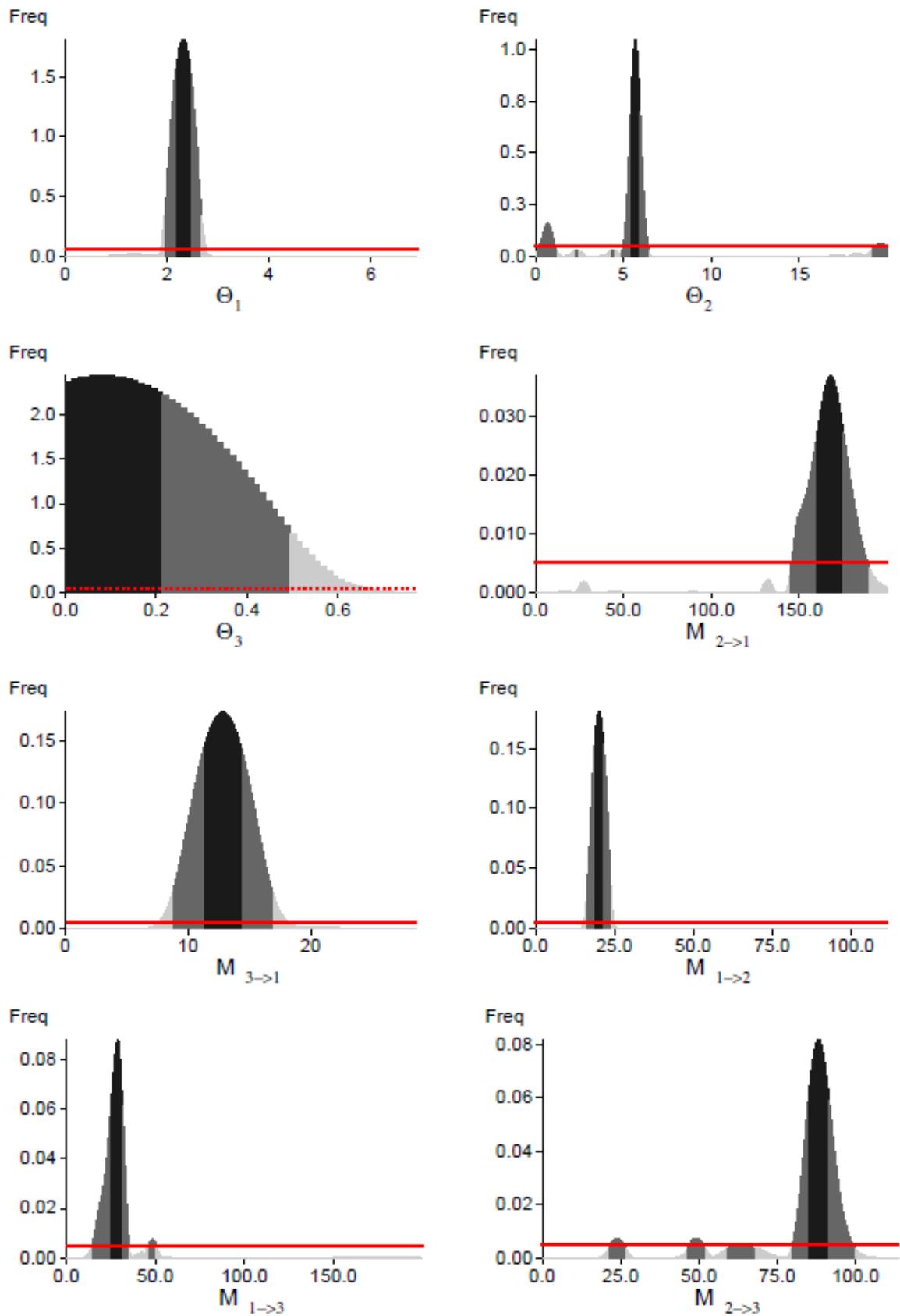
C) Modelo 3 – Curvas da distribuição posterior total dos *locipara* cada parâmetro estimado.



D) Modelo 4 – Curvas da distribuição posterior total dos *locipara* cada parâmetro estimado.



E) Modelo 5 – Curvas da distribuição posterior total dos *locipara* cada parâmetro estimado.



F) Modelo 6 – Curvas da distribuição posterior total dos *loci* para cada parâmetro estimado.

