



Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Instituto de Biologia

Departamento de Biologia Marinha

Diversidade Genética e Clonalidade do Coral Invasor *Tubastraea* spp. no Litoral do Rio de Janeiro



Ligia Massa Bacellar Mendes

Rio de Janeiro

Outubro

2020

Diversidade Genética e Clonalidade do Coral Invasor *Tubastraea* spp. no Litoral do Rio de Janeiro

Ligia Massa Bacellar Mendes

Monografia apresentada ao Departamento de Biologia Marinha, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Diploma de Biólogo – Bacharelado em Biologia Marinha UFRJ.

Orientadora:

Carla Zilberberg

Coorientadora:

Kátia Cristina Cruz Capel

Banca examinadora:

Professora Dr^a. Andrea Junqueira

Professor Dr. André Padua

Professora Dr^a. Carla Zilberberg

Professor Dr. Vinícius Peruzzi

Dr. Victor Seixas

Rio de Janeiro

2020

Esta monografia foi realizada no Laboratório de Biodiversidade de Cnidaria do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Orientadora:

Professora Carla Zilberberg (NUPEM –UFRJ)

Coorientadora:

Pós-doutoranda Kátia Cristina Cruz Capel (CEBIMar – USP)

Foto de capa: Kátia Cristina Cruz Capel.

Agradecimentos

Acredito que ao concluir etapas importantes de uma longa caminhada engrandecedora, após quatro anos e meio de imersão no universo da Biologia, mais especificamente dois anos e meio seguindo a minha escolha - Biologia Marinha - nada se configura mais justo do que meus sinceros agradecimentos às pessoas que com muito amor e cuidado fizeram com que eu chegasse até aqui.

Às minhas professoras, Carla Zilberberg, Kátia Capel, Amana Garrido e Mariana Teschima que me acolheram no LaBiCni - UFRJ. Um laboratório borbulhante, extremamente produtivo, comandado por mulheres poderosas. Vocês são minha fonte de inspiração. Nos momentos difíceis me motivaram, sempre com muito carinho, a seguir em frente. À Carla em especial por ter me concedido a chance de estudar minha paixão, os cnidários. Isso me fez mais forte e completa porque pude aprender muito sobre os seres que sempre me cativaram. Por todo afeto que construímos, compreensão e auxílio. À Kátia, que se tornou uma grande amiga, meio irmã até que sempre me recebeu com as portas abertas do coração e da própria casa. Foi a pesquisadora que me ensinou tudo o que sei agora. Te admiro profundamente, Kátia Capel, obrigada por tudo. Grata à Amana que esteve comigo desde o comecinho me treinando nas bancadas com a maior paciência, pelas conversas, caronas e ensinamentos. Nossos campos estão no meu coração. Mariana, pelas risadas, bom humor e toda a ajuda nas bancadas. Com todas vocês sempre me senti valorizada, respeitada e feliz. Serei eternamente grata por tudo que aprendi, seja naquele espaço apertadinho do subsolo do CCS, nas bancadas dos laboratórios vizinhos ou nos campos maravilhosos. Vocês são incríveis. Alê, minha companheira de Iniciação Científica, muito obrigada por tudo! Fomos longe juntas e sei que ainda vamos retornar à Bahia! Também agradeço à professora Michelle Klautau e ao professor Paulo Paiva pela paciência e apoio, bati na porta dos dois muitas vezes para que meus trabalhos não fossem interrompidos. Ao professor Marcelo Kitahara, por ter me recebido e ajudado tantas vezes no CEBIMar – USP. Sem sua ajuda meu trabalho final seria apenas sonho, obrigada de verdade, Marcelo.

Sou grata ao BrBio, Projeto Coral-Sol e FUNBIO por todo apoio financeiro e confiança no meu trabalho e à UFRJ. Sempre foi meu sonho estudar na maior Universidade do Brasil. Hoje ela me fez maior e melhor do que quando subi as escadas do CCS pela primeira vez.

Aos meus pais, Isabella e Leonardo. Por serem parte de mim e companheiros de vida incondicionais. Por todo amor e incentivo, por toda a liberdade concedida para as mais diversas escolhas. Tenho pais corajosos, fortes e maravilhosos. Mãe você é Terra. Sustenta, nutre, abraça, cultiva e me mostrou a importância de ser uma eterna viajante. É minha grande companheira, tudo vale a pena ao seu lado. Pai você é filho do Mar. Conversa com Poseidon, surfa ondas difíceis, mergulha fundo, tem alma e coração gigantes, maiores que o Atlântico e o Pacífico unidos. Homem justo e íntegro. Minha gratidão nunca será suficiente e o orgulho de ser filha dos dois é infinito.

Aos demais membros da minha família, obrigada pelo grande apoio. Em especial, à minha avó Hercília pelo amor profundo, dedicação absoluta e nossa conexão inexplicável. Sinto muito a sua falta e acredito que ela estaria muito feliz em me ver concluindo a graduação em Biologia Marinha. Estaremos sempre juntas. Ao meu avô Sylvio pelo abraço forte e conversas recheadas de carinho, profundidade, compreensão e paciência. Minha admiração por ele não cabe em mim.

A todos os meus amigos. Pela paciência, momentos inesquecíveis e por me acolherem e gostarem de mim como sou. Sem vocês a vida se torna pesada e as cores se perdem. Sem amigos não existe frescor para a alma. Um “muito obrigada” especial aos meus fiéis companheiros de vida e Fundão, família que escolhi, Luísa, Luís Felipe e Thales. Vocês são almas raras e tirei a sorte grande de poder conviver com cada um. À minha turma, potente, forte e considerada a mais unida e “cabeçuda” de toda a Biologia UFRJ, 16.1, amo cada um de vocês.

Ao povo brasileiro e em especial aos estudantes de ciências do mar. Muitos que não chegaram até aqui possibilitaram a minha entrada e permanência no curso de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Viva a universidade pública!

Ficha bibliográfica:

Diversidade Genética e Clonalidade do Coral Invasor *Tubastraea* spp. no Litoral do Rio de Janeiro/
Ligia Massa Bacellar Mendes -- Rio de Janeiro: UFRJ / Instituto de Biologia, 2020.

72f.

Orientadoras: Carla Zilberberg e Kátia Capel

Monografia (Projeto final de curso) - Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Marinha, 2020.

Referências Bibliográficas: f. 37-57.

1. *Tubastraea*. 2. Bioinvasão 3. Clonalidade. 4 Diversidade Genética.

I. Zilberberg, Carla. II. Capel, Kátia. III Diversidade Genética e Clonalidade do Coral Invasor
Tubastraea spp. no Litoral do Rio de Janeiro.

Resumo

Tubastraea (Scleractinia, Dendrophylliidae) é um gênero de corais azooxantelados e compreende seis espécies recentes, originárias do Indo-Pacífico. Duas espécies, *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis*, foram registradas em plataformas de petróleo no litoral do Rio de Janeiro no final da década de 80, e, desde então, vêm aumentando sua distribuição e abundância. Atualmente o gênero é encontrado em toda a costa brasileira, competindo com espécies nativas. O presente estudo teve por objetivo ampliar o conhecimento acerca da clonalidade e diversidade genética das espécies *T. coccinea* e *T. tagusensis* no estado do Rio de Janeiro. Foram amostradas três localidades para *T. coccinea* (Âncora: N=27, Baía de Ilha Grande: N=88 e Paraty: N=47) e quatro para *T. tagusensis* (Âncora: N=32, Cagarras: N=32, Baía de Ilha Grande: N=80 e Paraty: N=48) e amplificados 9 e 10 *loci* de microssatélites, respectivamente. As análises de clonalidade demonstraram uma alta proporção de clones para ambas as espécies, com apenas 12 MLL's para *T. coccinea* e 10 para *T. tagusensis*. Cada localidade avaliada para *T. coccinea* apresentou uma MLL dominante diferente, sendo a MLL dominante em Âncora a única compartilhada entre todas as localidades. *T. tagusensis*, ao contrário, teve uma única MLL dominante nas quatro localidades amostradas, apontando uma conexão entre as áreas, seja através da dispersão natural das larvas ou pelo transporte em vetores. A ocorrência de uma MLL dominante exclusiva em Paraty pode indicar uma falha na amplificação de *loci*. Âncora apresentou a maior diversidade genética para ambas as espécies (*T. coccinea*: MLL=7, He= 0,63; *T. tagusensis*: MLL=7, He= 0,46), o que sugere uma possível ocorrência de mais de um evento de introdução na região. BIG foi a população mais clonal para ambas as espécies (*T. coccinea*: R=0,05; *T. tagusensis*: R=0,05), indicando que poucas linhagens genéticas dominam a região. A alta clonalidade na região pode indicar que poucas linhagens conseguiram se estabelecer na região ou que ações de manejo realizadas na área ajudam a remover linhagens diferentes. De maneira geral, não foi observada nenhuma estruturação genética entre as áreas analisadas, o que, somado ao compartilhamento de linhagens, sugere que as regiões estão conectadas possivelmente por uma ação conjunta da dispersão por larvas e através de vetores.

Palavras-chave: *Tubastraea*, bioinvasão, clonalidade, diversidade genética

Abstract

Tubastraea (Scleractinia, Dendrophylliidae) is an azooxanthellate coral genus comprising six extant species originally from the Indo-Pacific. Two species (*Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*) were recorded on oil platforms off the coast of Rio de Janeiro in the late 1980s, and since then, had increased significantly their distribution and abundance. Currently, the genus is found throughout the Brazilian coast, outcompeting native species. The present study aimed to expand the knowledge on the clonality and genetic diversity of the species *T. coccinea* and *T. tagusensis* in the state of Rio de Janeiro. Three locations were sampled for *T. coccinea* (Âncora: N = 27, Ilha Grande Bay: N = 88, and Paraty: N = 47) and four for *T. tagusensis* (Âncora: N = 32, Cagarras: N = 32, Ilha Grande Bay: N = 80, and Paraty: N = 48) and samples were amplified for 9 and 10 microsatellite *loci*, respectively. Results showed a high proportion of clones for both species, with only 12 MLL's for *T. coccinea* and 10 for *T. tagusensis*. Each location evaluated for *T. coccinea* presented a different dominant MLL, but this is likely a bias resulting from missing data. The dominant MLL in Âncora was the only MLL shared among all locations for *T. coccinea*. *T. tagusensis*, on the contrary, had a single dominant MLL in the four sampled locations, indicating a connection between the areas, either through the natural dispersion of the larvae or by transport in vectors. Âncora showed the highest genetic diversity for both species (*T. coccinea*: MLL = 7, He = 0.63; *T. tagusensis*: MLL = 7, He = 0.46), which suggests a possible occurrence of more than one introduction event in the region. BIG was the most clonal population for both species (*T. coccinea*: R = 0.05; *T. tagusensis*: R = 0.05), indicating that few genetic strains dominate the region. The high clonality observed in BIG may indicate that few genetic lineages have managed to establish themselves in the region or that management actions carried out in the area had helped to remove different strains. In general, no genetic structure was observed between the analyzed areas for both species, what combined with the wide distribution of clones, suggests that the regions are likely connected by a combination of natural dispersion of larvae and through the transport of infected vectors.

Keywords: *Tubastraea*; bioinvasion; clonality; genetic diversity

Lista de abreviaturas e siglas

BBA	Solução tampão de ligação
cm	Centímetro
°C	Graus Celsius
CLD	Solução tampão de lise celular
CWA	Solução de lavagem de coluna
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
Kit	ReliaPrep™ gDNA Tissue Miniprep PROMEGA
m	Metro
M	Molar
m/v	Massa por volume
mg	Miligrama
MLG	Genótipo Multilocus
MLL	Linhagem Multilocus
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
Min	Minuto
mL	Mililitro
Mm	Milímetro
mM	Milimolar
Ng	Nanograma

PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEB	<i>Phenol Extraction Buffer</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
RNAse	Ribonuclease
Rpm	Rotação por minuto
S	Segundo
TBE	Tris-borato-EDTA
Tc	<i>Tubastraea coccinea</i>
Tco	Loci de microssatélite
Tris	Tris-(hidroximetil)-aminometano
Tt	<i>Tubastraea tagusensis</i>
UV	Iluminação ultravioleta
v/v	Volume por volume
μL	Microlitro
μM	Micromolar

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1: <i>Fotos das espécies (A) <u>Tubastraea coccinea</u>; (B) <u>Tubastraea tagusensis</u>. Fotos de Herton Escobar/ USP imagens.</i>	11
Figura 2: <i>Locais de coleta das amostras de <u>Tubastraea coccinea</u> no litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil incluídas neste estudo. (1) – Ponta da Joatinga; (2) Ilha dos Meros; (3) Ilha das Cobras; (4) Ilha de Itaquatiba; (5) Ponta do Bananal; (6) Abraãozinho; (7) Ilha da Âncora.</i>	17
Figura 3: <i>Locais de coleta das amostras de <u>Tubastraea tagusensis</u> no litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil incluídas neste estudo. (1) – Ponta da Joatinga; (2) Ilha dos Meros; (3) Ilha das Cobras; (4) Ilha de Itaquatiba; (5) Ponta do Bananal; (6) Abraãozinho; (7) Ilha da Âncora; (8) Cagararras.</i>	17
Figura 4: <i>Diagrama com as etapas de processamento de amostras da coleta à determinação de alelos pelo programa Geneious.</i>	18
Figura 5: <i>Mapa dos pontos de coleta e regiões amostrais para a espécie <u>Tubastraea coccinea</u>. Gráficos de pizza representam genótipos multilocus (MLG) e linhagens multilocus (MLL) únicas e o número de indivíduos que pertencem a cada um. MLG's e MLL's em escala de cinza representam genótipos e linhagens exclusivas daquela região. Demais cores representam genótipos e linhagens compartilhadas entre duas ou mais regiões.</i>	26

Figura 6: Mapa com os pontos de coleta e regiões amostrais para a espécie Tubastraea tagusensis. Gráficos de pizza representam MLG's e MLL's e o número de indivíduos que pertencem a cada um. MLG's e MLL's em escala de cinza representam genótipos e linhagens exclusivas daquela região. Demais cores representam genótipos e linhagens compartilhadas entre duas ou mais regiões. 28

Figura 7: Análise de componentes principais (PCA) para Tubastraea coccinea e Tubastraea tagusensis. 30

Lista de Tabelas

	Pág.
Tabela 1: <i>Lista das espécies marinhas invasoras atuais na costa brasileira e seus locais de origem. Fonte: MMA 2006; Carpinelli et al., 2020.</i>	5
Tabela 2: <i>Lista de espécies marinhas não nativas pertencentes ao filo Cnidaria detectadas na costa brasileira, seu status e locais de origem. Fonte: Rocha et al., 2013</i>	6
Tabela 3: <i>Número de indivíduos inicial ($N_{inicial}$) e final (N_{final}), genótipos multilocus únicos (MLG) e linhagens multilocus únicas (MLL) encontrados nas localidades amostradas para a espécie <u>Tubastraea coccinea</u>.</i>	16
Tabela 4: <i>Número de indivíduos inicial ($N_{inicial}$) e final (N_{final}), genótipos multilocus únicos (MLG) e linhagens multilocus únicas (MLL) encontrados nas localidades amostradas para a espécie <u>Tubastraea tagusensis</u>.</i>	16
Tabela 5: <i>Descrição dos loci de microssatélites de <u>Tubastraea coccinea</u> e <u>Tubastraea tagusensis</u> com seus respectivos números de acesso ao GeneBank.</i>	21
Tabela 6: <i>Diversidade genética de <u>Tubastraea coccinea</u> em três regiões amostradas no litoral do Rio de Janeiro.</i>	29
Tabela 7: <i>Diversidade genética de <u>Tubastraea tagusensis</u> em quatro regiões amostradas no litoral do Rio de Janeiro.</i>	29

Sumário

Resumo	VIII
Abstract	IX
Lista de abreviaturas e siglas	X
Lista de Figuras	XII
Lista de Tabelas	XIV
1. Introdução	1
1.1 Bioinvasão	1
1.2 A invasão do gênero <i>Tubastraea</i> no Atlântico	8
1.3 A genética como ferramenta para estudar bioinvasões	12
2. Objetivos	14
2.1. Geral	14
2.2. Específicos	14
3. Material e Métodos	14
3.1 Coletas	14
3.2 Extração de DNA	18
3.2.1 Metodologia Fenol:Clorofórmio (1:1 v/v)	18
3.2.2 Extração com o kit ReliaPrep™ gDNA Tissue Miniprep PROMEGA:	19
3.3 Amplificação e genotipagem	20
3.4 Análises	22
3.4.1 Clonalidade	22
3.4.2 Diversidade genética	24
3.5 Estruturação populacional	23
4. Resultados	24
4.1 Clonalidade	24
4.2 Diversidade genética	28
4.3 Estrutura populacional	29
5. Discussão	30
6. Conclusão	35
7. Referências Bibliográficas	35

1. Introdução:

1.1 Bioinvasão

A movimentação natural de espécies faz parte da história de vida dos organismos. Nos últimos dois séculos, entretanto, a influência antrópica vem redesenhando as rotas de distribuição de milhares de espécies (Rosenzweig, 2001). O mundo está "hiperconectado" e a biota na terra está mudando e se homogeneizando a taxas sem precedentes (Crooks & Suarez 2006; Rilov & Crooks, 2009).

A vida nos mares está mudando em um ritmo alarmante. Enquanto muitas espécies estão diminuindo devido à pesca excessiva e destruição do habitat (Roberts, 2007), outras invadem novas regiões através de vetores antropogênicos (Carlton, 1996). Essas mudanças estão enraizadas nas atividades humanas há mais de mil anos, mas aceleraram drasticamente nas últimas décadas devido a novas tecnologias e ao aumento de conectividade (Carlton, 1989; Carlton *et al.*, 1999; Crooks & Suarez, 2006). Frotas enormes extraem peixes e crustáceos com eficiência mortal, ao mesmo tempo que o crescimento do comércio facilita a dispersão de organismos incrustados nos cascos de navios e transportados na água de lastro (Hewitt *et al.*, 2009; Williams *et al.*, 2013). Aquicultura marinha, frutos do mar, iscas vivas, e o comércio de animais para aquarismo também se tornaram vetores importantes para a introdução de espécies marinhas exóticas (Ruiz *et al.*, 1997). O veículo ou atividade pela qual uma espécie é transportada para um novo habitat é denominado vetor (Carlton, 2001). Dentre a multiplicidade de vetores responsáveis pela introdução de espécies no ambiente marinho, existem os intencionais e os acidentais. Dentre as introduções consideradas intencionais, é possível destacar a aquicultura e a aquariofilia (Ruiz *et al.*, 1997). Há também uma diversidade de vetores considerados acidentais que podem incluir a água e o sedimento dos tanques de lastro (Redfield & Hutchins, 1952; Souza & Silva, 2004), cascos de navios, detritos gerados pelo homem como redes flutuantes e plástico (Hoeksema *et al.*, 2018; Faria & Kitahara, 2020; Mantelatto *et al.*, 2020), e plataformas de petróleo (Creed *et al.*, 2017).

Os termos bioinvasão e invasão biológica vêm sendo utilizados para designar a introdução de um ou mais organismos em ambientes onde não havia registros anteriores para a espécie. No entanto, nem todas as espécies exóticas se tornam invasoras (Sakai *et al.*, 2001). Para que isso ocorra os organismos, uma vez introduzidos, devem se dispersar e causar impactos negativos na comunidade local, interferindo na estruturação ecológica e na capacidade de sobrevivência das espécies nativas (Hilliard *et al.*, 1997; Elliott, 2003). Por definição, espécie exótica invasora é então aquela introduzida por atividades antrópicas em locais fora da sua área

de distribuição natural, onde elas causam impactos negativos ao ambiente e/ou espécies nele encontradas (IUCN).

A introdução de espécies exóticas interage ainda com outros fatores que comprometem a integridade dos ecossistemas marinhos, incluindo destruição de habitat, poluição e mudanças climáticas. A destruição de habitats causa distúrbios que abrem espaço para recém-chegados, como invasores. Poluição pode tornar as condições ambientais menos toleráveis para espécies nativas, e talvez forneça oportunidades para espécies oportunistas, entre elas espécies exóticas. Mudanças climáticas também desempenham um grande papel no processo de invasão (Mooney & Hobbs, 2000). Modificações na temperatura dos oceanos, biogeoquímica, salinidade, nível do mar e padrão de circulação de correntes atual foram detectadas nas últimas décadas e espera-se que continuem ocorrendo (IPCC, 2007). Mudanças ecológicas documentadas nos oceanos incluem modificações na fenologia de organismos pelágicos, resultando em "incompatibilidades" tróficas entre predadores e presa (Edwards & Richardson, 2004) e eventos graves de branqueamento de coral que influenciam negativamente a estrutura das comunidades recifais (Hughes *et al.*, 2003).

De acordo com Carlton (1996), existem duas categorias genéricas acerca da situação populacional de espécies não nativas: exótica, que abrange todas as espécies registradas fora de sua área de distribuição original, e criptogênica, abrangendo espécies de origem biogeográfica desconhecida ou incerta. Também foram apresentadas quatro categorias específicas para espécies exóticas: (1) Contida: quando a presença da espécie exótica é detectada em ambientes controlados, isolados total ou parcialmente do ambiente natural como aquários comerciais, cultivos para fins científicos etc; (2) Detectada em ambiente natural: quando a presença da espécie exótica foi detectada no ambiente natural sem aumento posterior de sua abundância e/ou dispersão para novas áreas (considerando o horizonte de tempo das pesquisas ou levantamentos a respeito), sendo considerado um registro isolado; (3) Estabelecida: quando uma espécie introduzida é detectada de forma recorrente, com ciclo de vida completo na natureza e indícios de aumento populacional ao longo do tempo em uma região, porém sem apresentar impactos ecológicos e socioeconômicos; (4) Invasora: engloba espécies exóticas estabelecidas e com abundância ou dispersão geográfica que podem interferir nas relações ecológicas entre espécies de uma comunidade, na paisagem local, transmitir doenças e até interferir na capacidade de sobrevivência de outras espécies (Elliot, 2003). Tais categorias não são imutáveis para uma dada espécie, mas retratos instantâneos de sua situação populacional, a qual pode se alterar em qualquer sentido ao longo do processo de invasão.

Tratando-se de bioinvasões, para que uma espécie seja introduzida e sobreviva numa nova área precisa passar por três fases. Em outras palavras, as espécies introduzidas devem chegar, sobreviver e se estabelecer. As três fases são: (1) o transporte do seu local de origem para outro local por alguma via de dispersão, (2) a introdução, que representa a sobrevivência no ambiente novo, e (3) o estabelecimento, caracterizado pela sobrevivência e reprodução no novo local, necessários para constituir uma população viável (Carlton, 1996). Em cada fase existem uma série de barreiras que impedem ou dificultam o estabelecimento das espécies exóticas. A primeira barreira a ser superada é a sobrevivência durante o período de transporte, sendo que poucas espécies conseguem resistir à viagem e chegar às áreas receptoras. Alguns organismos recém-chegados morrem por conta das novas condições ambientais, porém, outros conseguem sobreviver e, possivelmente, se adaptar ao novo ambiente, efetivando a introdução e seu estabelecimento. As barreiras de sobrevivência e de reprodução atuam também dentro da fase de estabelecimento. Isso esclarece que uma espécie introduzida pode falhar em se estabelecer porque os indivíduos não conseguem sobreviver, ou sobrevivem, mas não conseguem se reproduzir. O não estabelecimento pode resultar de fatores associados à espécie (por exemplo, taxa reprodutiva), localização (por exemplo, presença de inimigos ou mutualistas), características aparentemente estocásticas do evento de introdução do indivíduo (especialmente pressão de propágulo) ou, muitas vezes, devido à interação desses fatores (por exemplo, espécies x localização). Tais fatores podem atuar na capacidade de sobrevivência e/ou capacidade de reprodução da espécie. É importante destacar que o fracasso de uma determinada espécie em se estabelecer em um determinado local não exclui a possibilidade de uma introdução subsequente da mesma espécie naquele local ser bem-sucedida (Blackburn *et al.*, 2011).

Introduções de espécies exóticas ocorreram por séculos em uma escala global, muitas vezes resultando em consequências ecológicas, econômicas e sociais deletérias (Elton, 1958; Mooney & Drake, 1989). As invasões, por si só, são classificadas como uma das principais causas da perda de biodiversidade e causadoras de danos econômicos (Walker & Steffen, 1997; Primack, 2004; Mooney *et al.*, 2005). Algumas espécies exóticas vêm causando grande impacto econômico, custando bilhões de dólares a diversos países (Pimentel, 2002). Exemplos são espécies que reduzem substancialmente a produtividade das colheitas, da pesca e contaminam ou interrompem o abastecimento de água, como o caso do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* Dunker, 1857. A espécie originária dos rios da China, foi trazida para a América do Sul na água de lastro dos navios (utilizada como peso para dar maior estabilidade nas manobras). Os impactos causados pelo mexilhão dourado fora de seu habitat natural são

conhecidos desde 1968, quando foi introduzido em Hong Kong através do fornecimento de água a partir de rios do leste da Ásia (Morton, 1977; Darrigran, 2002). Os problemas decorrentes da formação de massas incrustantes são principalmente o entupimento de tubulações e filtros, trocas no fluxo de água e redução do diâmetro das tubulações, acúmulo e enchimento de válvulas nas estações de tratamento de água, indústrias e geradoras de energia. O custo de operação aumenta devido a diminuição da eficiência das bombas, corrosão de tubos devido a proliferação de bactérias e fungos, e interrupção do serviço para limpeza e trocas de filtros. Estes efeitos são comparáveis ao do mexilhão zebra *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771, na América do Norte, cujos custos para a indústria de energia foram de 3.1 bilhões de dólares entre 1993-1999, e junto com outros custos relacionados ao reparo de encanamentos e de controle associados, o prejuízo chega a 5 bilhões de dólares (MacIsaac, 1996; Darrigran, 2000, Pimentel *et al.*, 2000).

Diversas pesquisas visam entender como as espécies introduzidas afetam as espécies nativas e os processos ecossistêmicos no novo ambiente. Essas espécies podem alterar a comunidade, alterando o equilíbrio da dinâmica local (Creed, 2006; Lages *et al.*, 2011). Em alguns casos, uma espécie introduzida reduz a abundância de espécies nativas (por exemplo, através de predação, proliferação de doenças ou competição) (Dick, 1992; Dick & Montgomery, 1995; Carlton *et al.*, 1999; Teles & Fontes, 2002; Colley & Fischer, 2009). Outras espécies introduzidas alteram dramaticamente alguns processos do ecossistema, como a taxa na qual nutrientes são reciclados e a disponibilidade de certos recursos, como nutrientes e espaço, no caso de organismos bentônicos (Davis, 2011; Simberloff, 2011). Apesar de não existirem casos de espécies introduzidas resultando diretamente em extinções em ecossistemas marinhos (Gurevich & Padilla, 2004), existem casos documentados de introdução de predadores e patógenos que levam a uma diminuição drástica na abundância de espécies nativas, como foi o caso da introdução do ctenóforo, *Mnemiopsis leidyi* no Mar Negro, com severo impacto ambiental e econômico (Shiganova, 2001; Knowler, 2005). Essa espécie é originária da costa leste dos Estados Unidos e do Mar do Caribe e foi provavelmente introduzida por água de lastro, gerando enorme impacto sobre o principal recurso pesqueiro da região, a anchova, levando a perdas irreparáveis (Lopes, 2004). A introdução desse ctenóforo nas águas do Mar Negro evidencia um dos cenários mais dramáticos resultantes da bioinvasão associada à sobrepesca, resultando no desajuste total da cadeia alimentar pelágica da região e em perdas socioeconômicas significativas (Faasse & Bayha, 2006).

Considerando as três categorias relacionadas à presença de organismos em ambientes naturais (espécies detectadas, estabelecidas e invasoras) em um levantamento do MMA foram identificadas 28 espécies detectadas (48%), 21 espécies estabelecidas (36%) e 9 espécies invasoras (16%) no ambiente marinho da costa brasileira. As 58 espécies classificadas estão divididas nos seguintes subgrupos: fitoplâncton (3 espécies), zooplâncton (6 espécies), fitobentos (5 espécies), zoobentos (40 espécies) e peixes (4 espécies). Ainda de acordo com o relatório do MMA 2006, dentre as 9 espécies classificadas como exóticas invasoras, foram identificados diferentes locais de origem dos indivíduos (Tabela 1).

Tabela 1 – Lista das espécies marinhas exóticas invasoras atuais na costa brasileira e seus locais de origem. Fonte: MMA, 2006; MMA, 2014; Carpinelli et al., 2020.

	Filo	Ordem	Espécie	Local de origem
FITOPLÂNCTON	Bacillariophyta	Coscinodiscales	<i>Coscinodiscus wailesii</i>	Indeterminado
	Dinoflagelata	Gonyaulacales	<i>Alexandrium tamarense</i>	Indeterminado
FITOBENTOS	Chlorophyta	Bryopsidales	<i>Caulerpa scalpelliformis</i> <i>var. denticulata</i>	Indo-Pacífico
ZOOBENTOS	Cnidaria	Scleractinia	<i>Tubastraea coccinea</i>	Indo-Pacífico
		Scleractinia	<i>Tubastraea tagusensis</i>	Pacífico
		Alcyonacea	<i>Erythropodium caribaeorum</i>	Caribe
		Alcyonacea	<i>Chromonephthea braziliensis</i>	Pacífico
	Mollusca	Pterioida	<i>Isognomon bicolor</i>	Caribe
		Mytiloidea	<i>Myoforceps aristatus</i>	Caribe
	Arthropoda	Decapoda	<i>Charybdis hellerii</i>	Indo-Pacífico
	Chordata	Pleurogona	<i>Styela plicata</i>	Indeterminado

Em uma revisão mais recente, Rocha *et al.* (2013) realizou um novo levantamento de espécies exóticas e espécies introduzidas na costa brasileira. Foram detectadas 60 espécies pertencentes ao filo Cnidaria (Tabela 2), 5 da classe Anthozoa e 55 da classe Hydrozoa.

Tabela 2 - Lista de espécies marinhas exóticas pertencentes ao filo Cnidaria detectadas na costa brasileira, seu status e locais de origem. Fonte: Rocha *et al.* (2013).

Classe	Espécie	Status	Local de origem
Anthozoa	<i>Aiptasia pallida</i>	Criptogênica	Atlântico-Oeste
Anthozoa	<i>Carijoa riisei</i>	Exótica	Indo-Pacífico
Anthozoa	<i>Diadumene lineata</i>	Exótica	Indeterminado
Anthozoa	<i>Tubastraea coccinea</i>	Exótica	Indo-Pacífico
Anthozoa	<i>Tubastraea tagusensis</i>	Exótica	Pacífico
Hydrozoa	<i>Aglaophenia pluma</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Amphinema dinema</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Amphisbetia operculata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Bougainvillia carolinensis</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Bougainvillia muscus</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Bougainvillia rugosa</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Cladonema radiatum</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Clytia hemisphaerica</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Clytia hummelincki</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Clytia linearis</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Clytia noliformis</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Clytia paulensis</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Cordylophora caspia</i>	Exótica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Corydendrium parasiticum</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Coryne eximia</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Coryne pusilla</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Cuspidella humilis</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Diphasia digitalis</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Dynamena crisioides</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Dynamena disticha</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Dynamena quadridentata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Eudendrium capillare</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Eudendrium carneum</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Eudendrium ramosum</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Garveia franciscana</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Halecium bermudense</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Halecium delicatulum</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Halopteris diaphana</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Halopteris polymorpha</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Lafoeina amirantensis</i>	Criptogênica	Indeterminado

Hydrozoa	<i>Laomedea calceolifera</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Leuckartiara octona</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Macrorhynchia philippina</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Monothecca obliqua</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Obelia bidentata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Obelia dichotoma</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Obelia geniculata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Pennaria disticha</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Pinauay crocea</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Pinauay ralphi</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Plumularia floridana</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Plumularia setacea</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Plumularia strictocarpa</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Sarsia japonica</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Sertularella areyi</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Sertularella diaphana</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Tridentata distans</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Tridentata loculosa</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Tridentata marginata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Tridentata rugosissima</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Tridentata turbinata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Turritopsis nutricula</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Ventromma halecioides</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Zanclaea costata</i>	Criptogênica	Indeterminado
Hydrozoa	<i>Zyzyzus warreni</i>	Criptogênica	Indeterminado

A costa brasileira apresenta duas espécies invasoras e duas espécies estabelecidas de cnidários exóticos: *Tubastraea coccinea*, *Tubastraea tagusensis* (de Paula e Creed 2004), *Chromonephthea braziliensis* (Ferreira *et al.*, 2004) e *Erythropodium caribaeorum* (Carpinelli *et al.*, 2020). A espécie *Chromonephthea braziliensis* van Ofwegen, 2005 é originária do Pacífico. Essa espécie foi possivelmente introduzida via incrustação por plataformas de petróleo (Lages, 2003; Ferreira *et al.*, 2004). Os ensaios realizados por Lages (2003) constataram que a espécie *C. braziliensis* produz metabólitos secundários, que funcionam como defesa química contra os peixes generalistas e como agentes alelopáticos, necrosando o tecido do coral endêmico *Phyllogorgia dilatata* quando em contato direto. O octocoral *Erythropodium caribaeorum* (Duchassaing & Michelotti, 1860) foi recentemente introduzido, como resultado do comércio de aquários marinhos e já domina o substrato no local de introdução no sudeste do Brasil (Baía de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro) (Bahia, 2008).

1.2 A invasão do gênero *Tubastraea* no Atlântico

O gênero *Tubastraea* Lesson, 1829 é nativo do Indo-Pacífico e engloba seis espécies azooxanteladas, ou seja, que não possuem relação simbiótica com algas unicelulares e, portanto, não necessitam de luz para seu desenvolvimento (Cairns, 2001). O registro mais antigo do gênero *Tubastraea* no Atlântico ocidental foi em 1943 em Curaçao e Porto Rico, quando foram observadas colônias incrustadas em cascos de navios (Vaughan & Wells, 1943). A espécie *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829 foi descrita pela primeira vez em Bora-Bora, arquipélago de Fiji, Polinésia Francesa. Atualmente, a espécie possui distribuição circuntropical e é reconhecida como uma espécie invasora no Atlântico (Creed *et al.*, 2017). A espécie *T. coccinea* foi relatada em Belize e Cozumel (Fenner, 1999; Fenner, 2001; Precht *et al.*, 2014; Bengtsson *et al.*, 2015) e Fenner relatou a expansão de *T. coccinea* para o Golfo do México, onde foi encontrada em plataformas de petróleo (Sammarco, Porter, & Cairns, 2010). *T. coccinea* também foi registrada na costa da Flórida e nas Bahamas (Fenner, 2001; Fenner & Banks, 2004; Sammarco, 2007; Precht *et al.*, 2014). *T. tagusensis* foi descrita no Arquipélago de Galápagos (Wells, 1982), mas também foi registrada nas Ilhas Nicobar (Cairns, 2000), Palau (Cairns, 2000) e Kuwait (Hodgson & Carpenter, 1995), sendo esses considerados registros criptogênicos (Creed. *et al.*, 2017).

O gênero *Tubastraea* chegou ao Brasil acidentalmente como organismo incrustante, provavelmente transportado por plataformas de petróleo na década de 1980 e tendo sido primeiramente observado na Bacia de Campos (Castro & Pires, 2001). Após sua introdução acidental na costa brasileira, o gênero *Tubastraea* já foi detectado ao longo de mais de 3.500 km de costa, incluindo áreas de proteção marinha como o Arquipélago de Alcatrazes, Laje de Santos e Ilha da Queimada Grande, no litoral de São Paulo, Arquipélago do Arvoredo, em Santa Catarina, na Estação Ecológica de Tamoios, Baía de Ilha Grande e também no Monumento Natural das Ilhas Cagarras no Rio de Janeiro (Silva *et al.*, 2014; Mantellato, 2012; Sampaio *et al.*, 2012; Creed *et al.*, 2017). Seu rápido crescimento e ocorrência de reprodução assexuada predominante contribuem para o alto poder competitivo da espécie e aumenta a possibilidade de expansão para outras regiões da costa brasileira (Ferreira *et al.*, 2004). Desde sua chegada ao Atlântico Sul, o gênero *Tubastraea* teve uma rápida expansão, modificando a estrutura da comunidade bentônica de costões rochosos através da ocupação de até 100% do substrato (Mantelatto *et al.* 2011), alterando a paisagem marinha (Capel *et al.* 2020) e competindo diretamente com espécies nativas como *Mussismilia hispida*, *Madracis decactis*, *Siderastrea*

stelatta e *Palythoa Caribaeorum* (Creed *et al.*, 2006; Lages *et al.*, 2011; Mantelatto *et al.*, 2011; Miranda *et al.*, 2016; Luz & Kitahara, 2017, Capel *et al.*, 2020). De maneira geral, as espécies invasoras *T. coccinea* e *T. tagusensis* podem causar declínios na abundância e biomassa de grupos bentônicos incrustantes (Silva *et al.*, 2019). Algumas espécies de *Tubastraea* produzem substâncias aleloquímicas (metabólitos secundários) que têm o potencial de prevenir tanto o assentamento quanto o crescimento de recrutas de diferentes espécies de coral (Koh & Sweatman 2000; Lages *et al.*, 2010; Lages *et al.*, 2012). Estudos mostram que áreas com alta cobertura de *Tubastraea* spp. no substrato apresentaram diminuição do assentamento de larvas de corais nativos (Miranda *et al.*, 2018).

No litoral do Rio de Janeiro, após ter sido detectado pela primeira vez em 1980 na Baía de Campos, norte do estado, o gênero *Tubastraea* foi reportado ao sul, nos costões rochosos de Ilha Grande (de Paula & Creed, 2004) e ao norte, na região de Arraial do Cabo, na década de 1990 (Ferreira, 2003; Mizrahi, 2008). Posteriormente, *Tubastraea coccinea* também foi detectada em Armação de Búzios em 2005 (Base de dados do Projeto Coral-Sol, 2005; Creed *et al.*, 2017), em Macaé, no Arquipélago de Santana em 2016 (Calderon, Projeto Coral Vivo, comunicação pessoal), e no Monumento Natural das Ilhas Cagarras (MoNa Cagarras) em 2012 (Moraes, Bertoncini & Aguiar, 2013).

De acordo com Creed *et al.* (2005) e Silva *et al.* (2014), há fortes indícios que o ancoradouro do Bananal em Ilha Grande, que abriga o estaleiro BrasFels e o terminal Petrobras, tenha sido o primeiro ponto de chegada de *Tubastraea* spp. no litoral do Rio de Janeiro, uma vez que a área recebe regularmente plataformas de petróleo para ancoragem antes de atracarem em estaleiros. A expansão dos corais *T. coccinea* e *T. tagusensis* na região da Baía de Ilha Grande foi acompanhada durante onze anos e a distribuição das espécies foi mapeada em 144 localidades (De Paula & Creed, 2005). *Tubastraea* spp. expandiu seu alcance e abundância ao longo dos onze anos estudados a uma taxa estimada de 2,1 km por ano, principalmente para o oeste da Baía da Ilha Grande (Silva *et al.*, 2014).

T. coccinea e *T. tagusensis* possuem diversas características típicas de espécies invasoras, como crescimento rápido, ocorrência de reprodução sexuada e assexuada (Harrison & Wallace, 1990; Ayre & Resing, 1986), hermafroditismo e maturidade reprodutiva precoce (Glynn *et al.*, 2008). Tais características somadas à uma elevada pressão de propágulos (uma medida do número de indivíduos liberados e o número de eventos de introdução) aumentam consideravelmente as chances de sobrevivência em um novo ambiente (Lockwood *et al.*, 2005).

As duas espécies são frequentemente encontradas em locais sombreados e com alta declividade, como cavernas, diferindo da fauna nativa de corais zooxantelados que necessitam de luz para seu desenvolvimento (de Paula & Creed, 2005). *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* apresenta taxas de calcificação e crescimento comparáveis às de corais zooxantelados (Glynn *et al.*, 2008; Frankowiak *et al.*, 2016) e ambas as espécies invasoras encontradas no Atlântico Sul apresentam alta capacidade regenerativa (Luz *et al.*, 2018).

Tanto *T. coccinea* quanto *T. tagusensis* possuem estratégias reprodutivas diversas. Entre elas, a formação de larvas por reprodução assexuada é extremamente rara, registrada até o momento para apenas quatro espécies de corais escleractíneos (*Pocillopora damicornis*, *T. coccinea*, *T. diaphana* e *T. tagusensis*) (Ayre & Resing, 1986; Capel, 2018). Ambas as espécies são incubadoras, o que significa que os processos de gametogênese, embriogênese e desenvolvimento da plânula ocorrem na cavidade gastrovascular (de Paula & Creed, 2014), se tornam sexualmente ativas muito cedo (colônias com apenas dois pólipos já apresentam ovas e plânulas) (Glynn *et al.*, 2008), e realizam múltiplos ciclos reprodutivos ao longo de um ano (de Paula & Creed 2014). Eventos de planulação ocorrem durante diferentes períodos do dia, mas preferencialmente à noite, e com a liberação de diferentes estágios de desenvolvimento larval (larvas recém-formadas e maduras) pela mesma colônia (Luz *et al.*, 2020). A plânula de *T. coccinea* mede entre 0,5 e 1,5 mm de comprimento no momento da liberação e tem habilidade de se assentar rapidamente, entre 1 e 3 dias (de Paula *et al.* 2014; Glynn *et al.*, 2008). As plânulas levam de três a sete dias para completarem seu desenvolvimento e são competentes na coluna d'água por até 18 dias (de Paula & Creed, 2014), embora existam registros de larvas competentes por até 100 dias (Richmond, comunicação pessoal em Fenner, 2001). Larvas recém-formadas e larvas maduras foram observadas em tentáculos da colônia-mãe, de onde alguns são liberados por meio de um pequeno poro na ponta do tentáculo, e passando ativamente para dentro e para fora da boca do pólipo-mãe (Luz *et al.*, 2020). Paz-García *et al.*, (2007) relataram ainda que *T. coccinea* pode transportar plânulas para o substrato usando um cordão de muco que sai da boca do pólipo, uma outra característica que pode explicar o assentamento gregário observado em torno da colônia “mãe”. A base calcária surge cerca de dois dias após o assentamento, com pólipo completo de três a cinco dias depois do assentamento (de Paula & Creed, 2014). Alguns recrutas quando perturbados foram capazes de se descolar do substrato, nadar e se fixar novamente (de Paula & Creed, 2014).

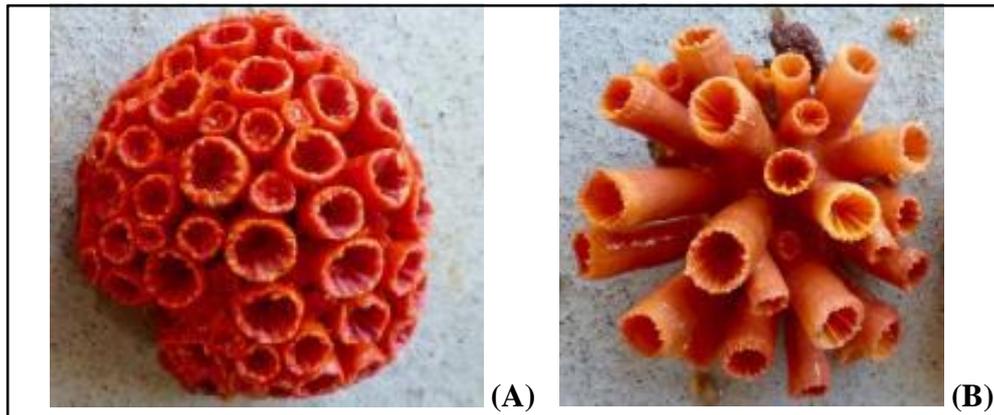


Figura 1 - Fotos das espécies (A) *Tubastraea coccinea*; (B) *Tubastraea tagusensis*. Fotos de Herton Escobar/ USP imagens.

Além de suas estratégias reprodutivas eficientes, o desprendimento de pólipos adulto, conhecido como “polyp bail-out” já foi registrado para a espécie *T. coccinea* (Capel *et al.*, 2014), podendo atuar como outro mecanismo de propagação de indivíduos. Esse conjunto de fatores potencializa a capacidade de invasão e proliferação das espécies no litoral brasileiro.

Nesse cenário, a remoção de colônias do ambiente se torna imprescindível para controlar tanto a densidade quanto a expansão das populações de *Tubastraea*. O Projeto Coral-Sol, criado em 2006 é realizado pelo Instituto Brasileiro de Biodiversidade e tem sido responsável por diversas ações de manejo de *Tubastraea* spp., principalmente no litoral do Rio de Janeiro. O projeto retirou cerca de 230 mil colônias de corais-sol (cerca de 8,5 toneladas) em mais de 160 ações de manejo no litoral brasileiro. O manejo do coral-sol tem sido feito através da coleta manual realizada por mergulhadores capacitados, usando protocolos desenvolvidos pelo Projeto Coral-Sol (Oigman-Pszczol *et al.*, 2017). Em 2018, o Projeto Coral-Sol realizou uma ação de manejo na Ilha Comprida no Arquipélago das Cagarras e coordenou a campanha de Monitoramento do Coral-Sol no MoNa Cagarras e Ilhas Tijucas (BrBio).

Em decorrência do aumento da dispersão do coral-sol na costa Brasileira e da preocupação sobre os impactos ambientais atuais e potenciais associados a este processo de invasão, o Ministério do Meio Ambiente (MMA) elencou o coral-sol (*Tubastraea* spp.) como espécie exótica invasora prioritária para a elaboração e implementação de Planos Nacionais de Prevenção, Controle e Monitoramento, publicado em 2018. O plano visa abordar um panorama geral sobre a distribuição, biologia e ecologia do coral-sol, os impactos relacionados à invasão de *Tubastraea* spp., os principais aspectos sobre o controle e erradicação, as principais experiências nacionais e internacionais, e a legislação e as iniciativas existentes sobre o assunto em questão no Brasil e no mundo. Além disso, o MMA coordenou medidas profiláticas através

do Instituto Chico Mendes na Estação Ecológica de Tamoios. A ESEC Tamoios organizou ações de manejo por meio de mutirões com um dia de duração chamados de operação “Eclipse 1” em 2013 e “Eclipse 2”, em 2015. As operações contaram com o apoio de Unidades de Conservação, Órgãos ambientais, operadoras de mergulho, empresas ligadas ao setor de petróleo e apoio do Ministério Público Federal. A operação “Eclipse 1” teve como objetivo a retirada de colônias incrustadas na ilha de Queimada Grande e a operação “Eclipse 2” removeu colônias da Ilha do Catimbau (ICMBio, 2015; ICMBio, 2017). Estudos experimentais que visam aprimorar técnicas de manejo, mostraram que o coral-sol morre totalmente após submersão em água doce (Moreira & Creed, 2014) e por "sufocamento" (Mantelatto *et al.*, 2015).

1.3 A genética como ferramenta para estudar bioinvasões

Estudos genéticos podem fornecer informações valiosas sobre a história de uma população (Escudero *et al.*, 2003). Conhecer a diversidade genética e o potencial evolutivo de espécies invasoras pode fornecer informações úteis sobre o que faz com que as espécies se tornem invasoras de sucesso (Lee & Gelembiuk, 2008). Tais informações, bem como um entendimento acerca das interações ecológicas entre espécies nativas e invasoras, podem levar a predições da suscetibilidade relativa dos ecossistemas à invasão, identificação de espécies exóticas e predições dos efeitos subsequentes da remoção de indivíduos invasores (Le Roux & Wiczorek, 2009). Compreender a “Epidemiologia de invasões” é crucial para controlar invasões atuais e prevenir invasões futuras (Mack *et al.*, 2000). Entender a origem da população introduzida, a frequência com que uma espécie é introduzida em uma área, a abrangência, a extensão de cada introdução e o padrão subsequente de propagação são dados importantes para desenvolver mecanismos eficazes de controle de invasões (Mack *et al.*, 2000).

Os microssatélites são marcadores amplamente utilizados em genética de populações, ecologia molecular e estudos de conservação (Schlötterer, 1998; Hartl, 2008; Takezaki, 2010). Em estudos com espécies invasoras, marcadores microssatélites são ferramentas utilizadas para compreender o processo de invasão, o que envolve a detecção de populações de origem (Andreakis *et al.*, 2009; Reusch *et al.*, 2010), e averiguação da ocorrência de múltiplas invasões (Darling *et al.*, 2008; Roman, 2006). Também chamados de SSRs (repetições de sequência simples), microssatélites são regiões altamente polimórficas que são resultado de uma alta taxa de mutação devido principalmente ao deslizamento durante a replicação do DNA (Ellegren,

2000). Consistem de repetições em tandem de uma sequência curta de 1 a 6 nucleotídeos, por exemplo cinco repetições de três pares de base ‘CGT CGT CGT CGT CGT’, que podem ser representadas por (CGT) n , em que n representa o número de repetições. O número de repetições em um *locus* polimórfico varia geralmente entre 5 e 25 (Thompson & Thompson, 2016). Os microssatélites são amplificados usando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Para a amplificação, são utilizados iniciadores (primers) projetados para hibridar com as sequências de DNA conservadas que flanqueiam as unidades de repetição, e são específicos para a espécie ou gênero (Lehninger, 2006). Os fragmentos amplificados são então analisados por eletroforese capilar, que permitem a determinação do tamanho de cada fragmento amplificado.

No Brasil alguns estudos já foram realizados no sentido de produzir conhecimento acerca da diversidade genética das espécies *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis*. Capel *et al.* (2016) determinou as sequências completas do genoma mitocondrial de *T. coccinea* e *T. tagusensis*, adicionando dados para espécies ecologicamente importantes e ao corpo bastante limitado de sequências do genoma mitocondrial para corais azooxantelados. Um trabalho posterior de Capel *et al.* (2017) foi a primeira pesquisa sobre a diversidade genética de ambas as espécies no sudoeste do Atlântico. Foram analisados indivíduos de duas localidades, Baía de Todos os Santos e Baía de Ilha Grande. O trabalho apresenta o desenvolvimento de primers para treze microssatélites para as espécies *T. coccinea* e *T. tagusensis*. Uma das hipóteses sugeridas para o sucesso da invasão e rápida disseminação de *Tubastraea* ao longo da costa sudoeste do Atlântico é a ocorrência de múltiplas introduções e introduções secundárias (Capel *et al.*, 2017; Capel *et al.*, 2019). No trabalho de 2019, amostras de *T. coccinea* e *T. tagusensis* foram coletadas de oito e seis locais invadidos ao longo do Atlântico Sudoeste, cobrindo toda a extensão da distribuição de cada espécie na costa brasileira, e de seis e três vetores possíveis, respectivamente. Adicionalmente, amostras de *T. coccinea* de Taiwan (população nativa) foram coletadas para comparação. Resultados deste estudo, acerca da clonalidade, diversidade genética e estruturação populacional apoiam a hipótese da ocorrência de múltiplos eventos de invasão na costa brasileira. No entanto, apenas uma localidade foi avaliada no Rio de Janeiro e um estudo mais amplo é necessário para compreendermos melhor a invasão de *Tubastraea* spp. na região, uma vez que engloba o ponto inicial da invasão na costa brasileira. Diante da atual distribuição das espécies invasoras *T. coccinea* e *T. tagusensis* ao longo de mais de 3.500 km da costa brasileira (de Paula & Creed, 2004; Creed *et al.*, 2017), torna-se imperativa a necessidade de compreendermos melhor qual a composição genética dessas populações, se

apresentam altas taxas de clonalidade e qual seria a conectividade ou fluxo gênico entre elas. As investigações sobre o mapeamento genético irão fornecer informações aos pesquisadores acerca da diversidade genética encontrada em diferentes regiões e se essas regiões estão de alguma forma conectadas. Além disso, visto que *Tubastraea* spp. é um gênero invasor na costa brasileira, o conhecimento genético dos indivíduos poderá auxiliar no desenvolvimento de estratégias de manejo e medidas profiláticas para a diminuição do número de indivíduos dessa espécie.

2. Objetivos:

2.1 Geral

Avaliar os níveis de clonalidade e a diversidade genética dos corais invasores *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* no litoral do Rio de Janeiro.

2.2 Específicos

- Verificar a porcentagem de indivíduos clonais em cada localidade;
- Verificar a diversidade genética das espécies em diferentes pontos ao longo do litoral do Rio de Janeiro;
- Verificar o compartilhamento de genótipos entre diferentes pontos ao longo do litoral do Rio de Janeiro.

3. Material e Métodos:

3.1 Coletas

Fragmentos de colônias de *Tubastraea coccinea* e *T. tagusensis* foram coletados através de mergulho livre e/ou autônomo (SCUBA) com o auxílio de uma marreta e talhadeira. Oito

localidades foram amostradas ao longo do litoral do Rio de Janeiro: Ilha da Âncora, na Armação dos Búzios (22°46'27''S 41°47'29''W), Arquipélago das Cagarras, no Rio de Janeiro (23°2'23''S 43°11'29''W), Ilha das Cobras (22°53'53''S 43°10'14''W), Ponta do Bananal (23°06'48''S 44°15'01''W), Abraãozinho (23°08'27''S 44°08'50''W) e Ilha de Itaquatiba (23°04'18''S 44°15'04''W) na Baía de Ilha Grande, e Ponta da Joatinga, (23°17'55''S 44°29'57''W) e Ilha dos Meros (23°11'23''S 44°34'13''W) em Paraty (Figuras 3 e 4). Foram coletados cerca de 25 fragmentos de cada uma das espécies, *T. coccinea* e *T. tagusensis*, em todas as localidades exceto por Cagarras, onde foi coletada apenas a espécie *T. tagusensis* (Tabelas 3 e 4). Embora a espécie *T. coccinea* ocorra nas Ilhas Cagarras, o número de colônias encontradas no momento da coleta não foi suficiente para a inclusão dessa localidade nas análises. Após a coleta, cada amostra de aproximadamente 1 cm foi armazenada em um criotubo e conservada em 1 ml de solução de lise celular – CHAOS (tiocianato de guanidina 4 M; n-lauril sarcosina 0,5%; tris pH 8,0 25 µM; 2-mercaptoetanol 0,1 M) (segundo Fukami *et al.*, 2004) e em seguida foram mantidos em uma temperatura de 4°C.

Inicialmente foram coletadas 162 amostras de *T. coccinea* e 192 de *T. tagusensis*, totalizando 354 amostras (N inicial). No entanto, 36 e 37 indivíduos de *T. coccinea* e *T. tagusensis*, respectivamente, falharam na amplificação de mais de dois *loci* e não foram incluídos nas análises. O número de indivíduos final, considerado para as análises de clonalidade, diversidade genética e estruturação populacional, foi de 281 indivíduos, sendo 126 de *Tubastraea coccinea* e 155 de *Tubastraea tagusensis*. Devido ao baixo número de genótipos encontrados em algumas localidades, pontos de coleta próximos foram agrupados para as análises. As localidades Ilha dos Meros e Ponta da Joatinga foram designadas como Paraty (N total = 42). Já as localidades Bananal, Abraãozinho, Ilha das Cobras e Itaquatiba compuseram a localidade denominada de Baía de Ilha Grande (BIG) (N total = 153). Nas localidades de Âncora (N total = 55) e Cagarras (N total = 31), por apresentarem somente um ponto de coleta, não houve agrupamento.

Tabela 3 – Número de indivíduos de *Tubastraea coccinea* amostrados por localidade, indicando o número total de indivíduos coletados (*N* inicial) e o número de indivíduos amplificados com sucesso (*N* final).

Localidade	N inicial	N final
Âncora	27	26
Cobras	24	14
Bananal	37	34
Abraãozinho	10	9
Itaquatiba	17	17
Meros	24	12
Joatinga	23	14

Tabela 4 – Número de indivíduos de *Tubastraea tagusensis* amostrados por localidade, indicando o número total de indivíduos coletados (*N* inicial) e o número de indivíduos amplificados com sucesso (*N* final).

Localidade	N inicial	N final
Âncora	32	29
Cagarras	32	31
Cobras	24	24
Bananal	26	26
Abraãozinho	10	10
Itaquatiba	20	20
Meros	25	7
Joatinga	23	8

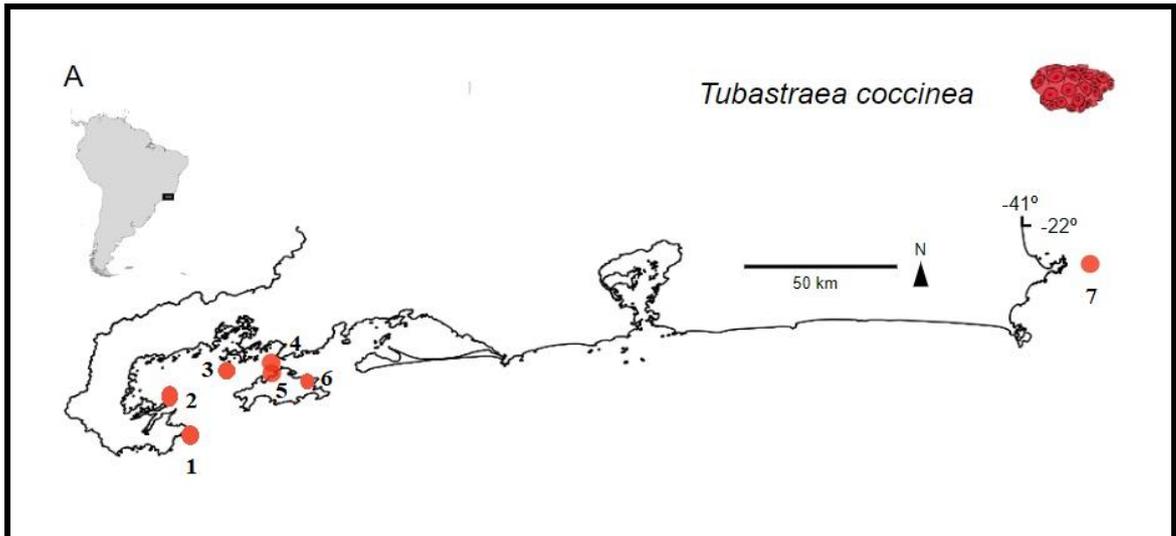


Figura 2 – Locais de coleta das amostras de *Tubastraea coccinea* no litoral do estado do Rio de Janeiro incluídas neste estudo. (1) – Ponta da Joatinga; (2) Ilha dos Meros; (3) Ilha das Cobras; (4) Ilha de Itaquatiba; (5) Ponta do Bananal; (6) Abraãozinho; (7) Ilha da Âncora.

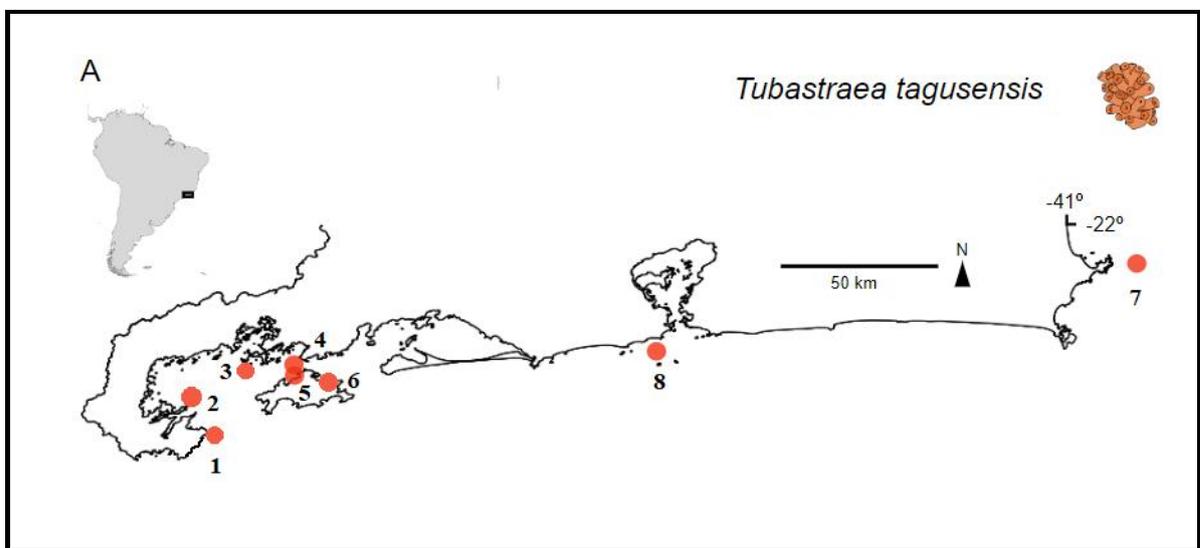


Figura 3 - Locais de coleta das amostras de *Tubastraea tagusensis* no litoral do estado do Rio de Janeiro incluídas neste estudo. (1) – Ponta da Joatinga; (2) Ilha dos Meros; (3) Ilha das Cobras; (4) Ilha de Itaquatiba; (5) Ponta do Bananal; (6) Abraãozinho; (7) Ilha da Âncora; (8) Cagarras.

3.2 Extração de DNA

Para extração do DNA das amostras coletadas foram aplicados dois protocolos diferentes (Figura 4). As amostras coletadas nos pontos 1 e 2 tiveram o DNA extraído usando o kit disponível comercialmente Wizard® SV Genomic DNA Purification System PROMEGA seguindo as instruções do fabricante. Já as amostras coletadas nos pontos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 tiveram o DNA extraído a partir do protocolo Fenol:Clorofórmio, modificado de Fukami e colaboradores (2004) conforme descrito abaixo.

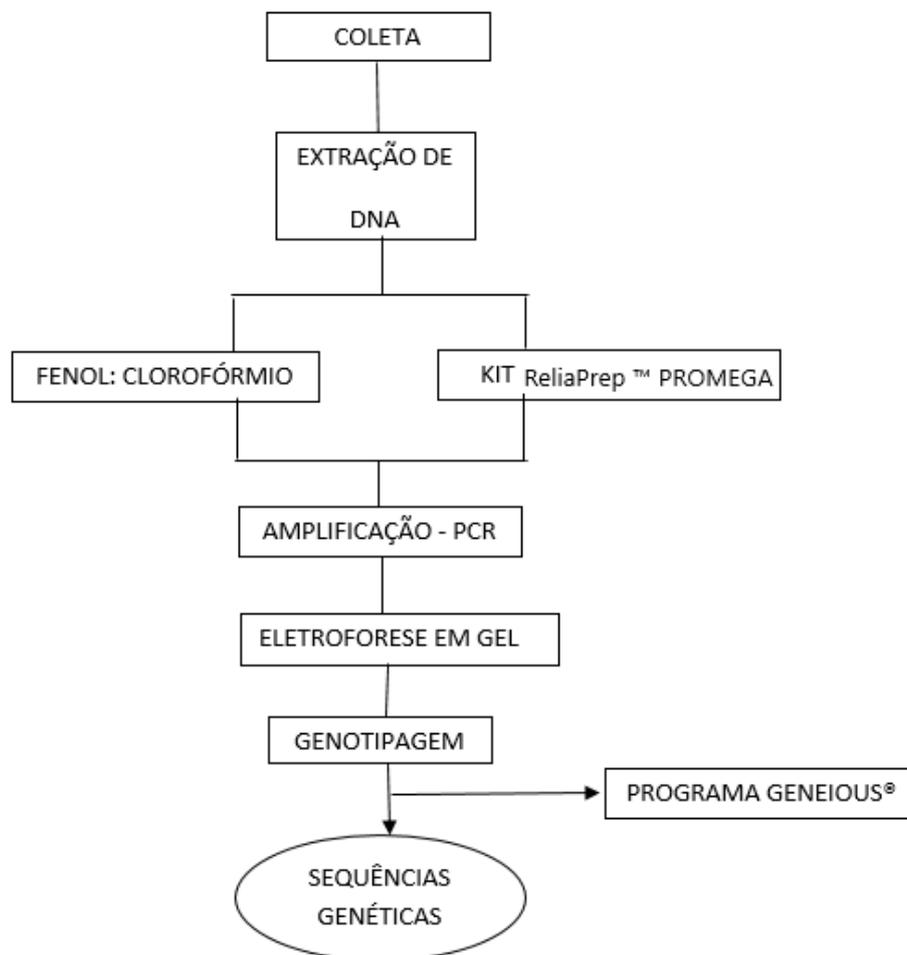


Figura 4 – Diagrama com as etapas de processamento de amostras da coleta à determinação de alelos pelo programa Geneious.

3.2.1 Metodologia Fenol:Clorofórmio (1:1 v/v)

1º Etapa – Extração do DNA: inicialmente, uma alíquota de 250 µL da solução de CHAOS (utilizada para iniciar o rompimento celular) (Fukami *et al.*, 2004) foi transferida a um eppendorf, onde foi adicionado 250 µL de PEB (*Phenol Extraction Buffer*: Tris pH 8,0 100 mM, EDTA 10 mM, dodecil sulfato de sódio 1%). Em seguida, foram adicionados 500 µL de uma solução de fenol:clorofórmio (1:1 v/v) e a mistura obtida foi homogeneizada durante 5 minutos por inversão. Posteriormente, a amostra homogeneizada foi centrifugada a 14.000 rpm durante 5 minutos. Com auxílio de uma pipeta (capacidade de 1 ml) o sobrenadante foi retirado e transferido para um novo eppendorf. Ao eppendorf contendo o sobrenadante foram adicionados 500 µL de isopropanol (pureza 100 %) sob a temperatura de -1°C. O eppendorf contendo a amostra + isopropanol foi homogeneizado delicadamente por inversão durante 2 minutos. A amostra foi mantida sob refrigeração por pelo menos 4 horas a uma temperatura de -20 °C.

2º Etapa – Purificação com etanol: a amostra refrigerada foi retirada do freezer, mantida em descanso até atingir a temperatura ambiente (25 °C) e posteriormente centrifugada durante 10 minutos sob uma rotação de 14.000 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado (fase que contém o DNA) foi lavado com 500 µL de etanol (70% de pureza) por uma ou duas vezes. A quantidade de lavagens realizadas dependeu do tamanho e coloração do precipitado formado. O precipitado com tamanho superior a aproximadamente 2 mm de diâmetro e coloração amarelada foi submetida a duas novas etapas de lavagem com etanol 70%. Após a última lavagem, a amostra foi mantida por 4 horas à temperatura ambiente (25 °C) para evaporação do solvente remanescente presente na amostra.

3º Etapa – Armazenamento do DNA: para ressuspensão do DNA, foi adicionado ao precipitado um volume de 50 µL de uma solução de RNase (10 mg mL⁻¹) a 1% (v/v) em água deionizada. Os produtos da extração foram armazenados a temperatura de -20 °C até a realização das análises moleculares.

3.2.2 Extração com o kit ReliaPrep™ gDNA Tissue Miniprep PROMEGA com modificações

3.B. Protocolo Padrão para Tecido Animal modificado

Uma alíquota de 100 µL da solução em CHAOS de cada amostra foram transferidas a um eppendorf. Em seguida, foram adicionados 160 µl de PBS a cada amostra a ser processada e foi feita uma mistura em vórtex por 30 segundos. Após a homogeneização em vórtex, foram adicionados 20 µl de solução de Proteinase K (PK) à cada tubo. Em seguida, 200 µl de Cell Lysis Buffer (CLD) foram adicionados aos eppendorfs. Foi feita uma nova mistura em vórtex por pelo menos 10 segundos e as amostras foram incubadas a 56 ° C por 30 minutos a 2 horas em um agitador.

Após o período de incubação foram adicionados 20 µl de solução de RNase à cada eppendorf e foi feita uma terceira homogeneização em vórtex por 10 segundos. Em seguida, os tubos com as amostras foram colocados novamente no agitador a 56 ° C durante 10 minutos.

Foram adicionados, para cada amostra, 250 µl de tampão de ligação (BBA), e foi feita uma mistura por agitação em vórtex por 10 segundos. Foi colocada uma coluna de ligação ReliaPrep™ dentro de um tubo de coleta para cada amostra. A porção líquida de cada amostra presente nos eppendorfs foi transferida para a coluna de ligação, que foi tampada e colocada em uma microcentrífuga. As colunas foram centrifugadas por 1 minuto na velocidade máxima. Os tubos coletores que continham o fluxo foram removidos e líquidos com resíduos perigosos foram descartados.

As colunas de ligação foram colocadas em novos tubos de coleta. Em seguida, foram adicionados 500 µl de solução de lavagem de coluna (CWD) à cada coluna e foi feita uma centrifugação por 2 minutos na velocidade máxima. Os fluidos foram descartados.

A Etapa anterior foi repetida duas vezes para um total de três lavagens. As colunas foram colocadas em tubos eppendorf de 1,5ml limpos. Foi feita a adição de 50 µl de água sem nuclease à cada coluna e foi realizada uma centrifugação por 1 minuto na velocidade máxima. Por fim, as colunas de ligação ReliaPrep™ foram descartadas e os eluatos, salvos. O DNA genômico foi guardado a -20 ° C para um armazenamento de longo prazo.

3.3 Amplificação e Genotipagem

Foram amplificados nove *loci* de microssatélites para *Tubastraea coccinea* (Tco 1, Tco 4, Tco 5, Tco 8, Tco 9, Tco 29, Tco 30, Tco 34 e Tco 37 e dez para *Tubastraea taguseunsis* (Tco 1, Tco 4, Tco 5, Tco 8, Tco 9, Tco 29, Tco 30, Tco 32, Tco 34 e Tco 37) utilizando primers e condições descritos por Capel *et al.*, (2016) (Tabela 5).

Tabela 5 - Descrição dos loci de microssatélites de *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea taguseunsis* com seus respectivos números de acesso ao GeneBank.

Locus/nº de acesso	Sequência do primer	Repetição	Espécies	TA (°C)/ [] MgCl ₂ (mM)	Range (p/b)	Fluorocromo
Tco 1/ KY198738	F: TGTAAAACGACGGCCAGTACTTCGGTG ATCGGACGAG R: AGCACGGGTACTTGTCTTTG	(GTT) ₆	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	56/2 56/2	567–600	PET
Tco 4/ KY198739	F: TGTAAAACGACGGCCAGTGTGGAGAGT GAATAAGCTTGGG R: GCCTGATGGTTCTTGAGGTC	(TCA) ₄	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	60/2 58/2	253–259	NED
Tco 5/ KY198740	F: TGTAAAACGACGGCCAGTTCAGGAGCC GATTAATACCTG R: TGTGACGTGAATGTGCTCAAG	(GAAA) ₅	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	54/2 54/2.5	368–432	6-FAM
Tco 8/ KY198741	F: TGTAAAACGACGGCCAGTGTGTCAGTG TAAATTTGGTTCCG R: GACAAAGTGGAAAAGCGGACG	(GGA) ₆	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	54/2 52/2	343–349	PET
Tco 9/ KY198742	F: TGTAAAACGACGGCCAGTTTGACCACG TACTGCCAAG R: TCTGTTTCAGAGACTCCGC	(TA) ₁₀	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	60/2 60/2	347–357	VIC
Tco 29/ KY198743	F: TGTAAAACGACGGCCAGTGTGCCCTAG GTCCATGGTTT R: CCGGCTTCTATATAGGCTTCC	(ATA) ₂₀	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	62/1.5 58/2	211–222	VIC
Tco 30/ KY198744	F: TGTAAAACGACGGCCAGTGGAAATTCG GATGCAATTAT R: CTCTGTGGAATGAGCTGCAA	(ACAT) ₆	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	60/1.5 60/2.25	252–264	6-FAM
Tco 32a/ KY198745	F: TGTAAAACGACGGCCAGTGCCTGGTCT GGTCTTTTCAT	(ATA) ₁₃	<i>T. taguseunsis</i>	58/2	240–246	6-FAM
Tco 32b/ KY198745	a		<i>T. taguseunsis</i>		270–276	6-FAM
Tco 34/ KY198746	F: TGTAAAACGACGGCCAGTGGCCTACT ACCACAGGAAT R: TCCTTCTACAGCCACTT	(TTA) ₁₉	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	58/2 58/2	189–217	PET
Tco 37/ KY198748	F: TGTAAAACGACGGCCAGTAAACATTCG ATTCCCACCTCG R: ACCCGGCCACTAATATTCC	(CTA) ₂₄	<i>T. coccinea</i> <i>T. taguseunsis</i>	62/1.5 62/1.5	242–263	NED

Fonte: Capel *et al.* (2016). *Os primers forward incluem uma sequência M13 (50-TGTAAAACGACGGCCAGT-30).

Nota. T_A , = temperatura de anelamento do primer; [] MgCl₂ mM = Concentração de cloreto de magnésio; a = Loci com evidência de desequilíbrio de ligação.

As reações de amplificação dos microssatélites foram realizadas com um volume de 10 µl contendo 2,4 µl de água Mili Q, 0,2 µl de primer forward (10 pmol/µl) desenvolvido com uma cauda M13 (sequência 50-TGTAAAACGACGGCCAGT-30), 0,4 µL de primer rotulado (M13 com VIC, NED, PET, or 6-FAM - fluorocromos) (Schuelke, 2000), 0,8 µl de primer reverse (10 pmol/µl), 1U GoTaq (Promega), 1X PCR Buffer (Promega), 0.20 mM dNTPs (Invitrogen), entre 1,5 e 2,5 µl de MgCl₂ (25mM) (seguindo Capel *et al.*, 2017) e 1 µl (5-10 ng) de DNA. Na reação de amplificação foi utilizado um Termociclador Applied Biosystems® sob as seguintes condições: desnaturação inicial a uma temperatura de 95°C durante três minutos, 35 ciclos de desnaturação a uma temperatura de 94°C por 30 segundos, anelamento a uma temperatura entre 54°C - 62°C de acordo com o respectivo par de primers (Tabela 5) por 30 segundos, e extensão a uma temperatura de 72°C por 1 minuto, seguido por uma etapa final de extensão a uma temperatura de 72°C durante 10 minutos.

As amplificações foram confirmadas por meio de eletroforese em gel de agarose a 2%. Para visualizar os produtos da PCR, as amostras foram coradas com GelRed, visualizadas e fotografadas em um transiluminador ultravioleta. Até quatro marcadores corados com fluorocromos diferentes foram misturados para otimizar a genotipagem. Os produtos de PCR foram combinados com o padrão de tamanho GS600-LIZ (Applied Biosystems®, Waltham, MA, EUA) em uma placa MicroAmp® e genotipados no sequenciador ABI 3500.7.1.9. (Applied Biosystems®) na empresa Genomic® (São Paulo). A análise do tamanho dos fragmentos foi realizada no programa Geneious® versão 11.0.5 (Kearse *et al.*, 2012).

3.4 Análises

3.4.1 Clonalidade

A estrutura clonal de cada espécie foi avaliada usando o pacote 'GenClone' no R 3.2.3 (R Core Team, 2015). Indivíduos que não amplificaram para três ou mais marcadores foram retirados das análises. Amostras com os mesmos alelos em todos os *loci* foram atribuídas ao

mesmo genótipo multilocus (MLG) e consideradas um produto de reprodução assexuada. Para evitar a superestimação do número de genótipos devido a erros de genotipagem ou mutações somáticas (Duhovnikoff & Dodd, 2003), foi estimado também o número de linhagens multilocus (MLL). O MLL foi calculado com base nas distâncias genéticas entre indivíduos, sendo que MLGs que diferiram em até dois alelos foram atribuídos à mesma linhagem multilocus (MLL) (Arnaud-Haond *et al.*, 2007).

Para avaliar a estrutura clonal de cada população, dois índices foram calculados conforme proposto por Arnaud-Haond *et al.* (2007): (1) riqueza clonal, para avaliar as proporções de clones em cada população ($R = G - 1 / N - 1$), onde G representa linhagens multilocus distintas (MLL) e N é o número total de indivíduos amostrados. O índice varia de zero (quando todos indivíduos são clones) a um (quando todas as amostras analisadas correspondem a um MLL diferente); e (2) a equitabilidade genotípica, para avaliar a equitabilidade na distribuição do MLL, calculado pelo índice de uniformidade do complemento de Simpson ($V = (D - D_{min}) / (D_{max} - D_{min})$). D representa a diversidade observada, D_{max} é o valor assumido se todos os genótipos distintos tiverem o mesmo número de alelos em todos os *loci* e D_{min} o valor da diversidade quando todos, exceto um genet, tiverem um indivíduo (Hurlbert, 1971). Esse índice varia de zero (quando uma MLL concentra um número elevado de indivíduos em comparação às outras, dominando a população) a um (indicando que para cada MLL diferente, havia um número similar de indivíduos, gerando um efeito de homogeneização da distribuição de indivíduos entre os MLL).

3.4.2 Diversidade Genética

Para avaliar a diversidade genética de cada população foi calculado o número total de alelos (A_t) e alelos privados (A_p) utilizando o programa RStudio v 1.2.5019 com o pacote 'diveRsity' no R 3.2.3 (R Core Team, 2015). A riqueza alélica (A_r), o coeficiente de endogamia (Fis), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e) foram calculados usando o programa GenoDive.

3.5 Estruturação populacional

Para definir a estruturação populacional foi feita uma análise de componentes principais (PCA) utilizando o pacote 'PopGeneReport' no RStudio v 1.2.5019. A PCA analisa uma tabela de dados que representa observações descritas por diversas variáveis dependentes, que são, em geral, inter-correlacionadas. Seu objetivo é extrair as informações importantes dos dados tabela e expressar essas informações como um conjunto de novas variáveis ortogonais chamadas componentes principais. PCA também representa o padrão de similaridade das observações e as variáveis, exibindo-as como pontos nos mapas (Abdi & Williams, 2010). Os objetivos da PCA são:

- (1) Extrair as informações mais importantes da tabela de dados;
- (2) Comprimir o tamanho do conjunto de dados mantendo apenas esta informação importante;
- (3) Simplificar a descrição do conjunto de dados;
- (4) Analisar a estrutura das observações e das variáveis.

4. Resultados:

4.1 Clonalidade

Os níveis de clonalidade entre os indivíduos foram caracterizados por meio de duas análises principais, o cálculo do número de genótipos multilocus (MLG) e de linhagens multilocus (MLL) únicas. De acordo com os resultados das análises de genótipos multilocus (MLG) para *Tubastraea coccinea*, Paraty apresentou a maior quantidade de MLG's nas localidades analisadas (N final = 26; MLG = 19) sendo dezoito MLG's exclusivos para essa localidade (Figura 6). A região BIG apresentou um total de 13 MLG's (N final = 74; MLG = 13), sendo 11 exclusivos. Na localidade de Âncora foram identificados 11 MLG's (N final = 26; MLG = 11), sendo nove exclusivos. BIG e Âncora compartilharam dois MLG's, enquanto Paraty compartilhou um MLG com BIG e nenhum com Âncora.

É importante destacar que o maior número de MLGs em comparação ao número de MLL's é devido a amostras que apresentaram valores ausentes (ou seja, alelos que não foram amplificados com sucesso). Esses valores são considerados alelos diferentes pelo programa, e, embora apenas as amostras com informações ausentes em não mais do que dois *loci* tenham sido mantidas, o número final de MLG pode superestimar o número real de genótipos únicos. Para evitar uma superestimativa do número de genótipos, todas as análises dos índices de

clonalidade, diversidade e estruturação foram realizadas com as linhagens multilocus únicas (MLL) de cada região.

Com relação às linhagens multilocus únicas, foram observadas três, duas e quatro MLL para Paraty, BIG e Âncora, respectivamente. Análises revelaram uma linhagem multilocus (MLL) dominante entre as três regiões, encontrada em 42,8% do número total de indivíduos analisados ($N = 54$) e compartilhada entre as três populações de *Tubastraea coccinea* (representada em vermelho na Figura 5). A linhagem dominante em Âncora, encontrada em 14 indivíduos (representados em azul na Figura 5), foi encontrada em apenas um outro indivíduo de BIG. Paraty e BIG compartilham duas linhagens, representadas em vermelho e laranja na Figura 5. A linhagem dominante de Paraty é exclusiva, porém, é provável que tal diferenciação seja produto de falhas na amplificação. Muitos indivíduos de Paraty não amplificaram para um ou dois *loci*, e, portanto, é altamente provável que a linhagem dominante seja na verdade a mesma linhagem que é compartilhada entre as três regiões (representada em vermelho na Figura 5), uma vez que todos os *loci* amplificados com sucesso são idênticos.

Foram calculados dois índices que fornecem dados acerca da clonalidade das regiões: riqueza clonal (R) e equitabilidade (V). Para a espécie *Tubastraea coccinea*, a riqueza clonal foi menor em BIG ($R = 0,05$), seguido por Paraty ($R = 0,16$). BIG foi a localidade com o maior N final, 74 indivíduos. Em Âncora a riqueza clonal foi a mais elevada ($R = 0,24$), representando uma maior diversidade alélica nesta localidade. Avaliando a equitabilidade genotípica (V) para a espécie *T. coccinea*, BIG apresentou o menor valor ($V=0,43$) indicando a predominância de poucas MLL's, enquanto Âncora e Paraty apresentaram valores ligeiramente mais altos ($V= 0,57$ e $0,53$, respectivamente). Valores mais elevados indicam uma melhor distribuição dos indivíduos por MLL.

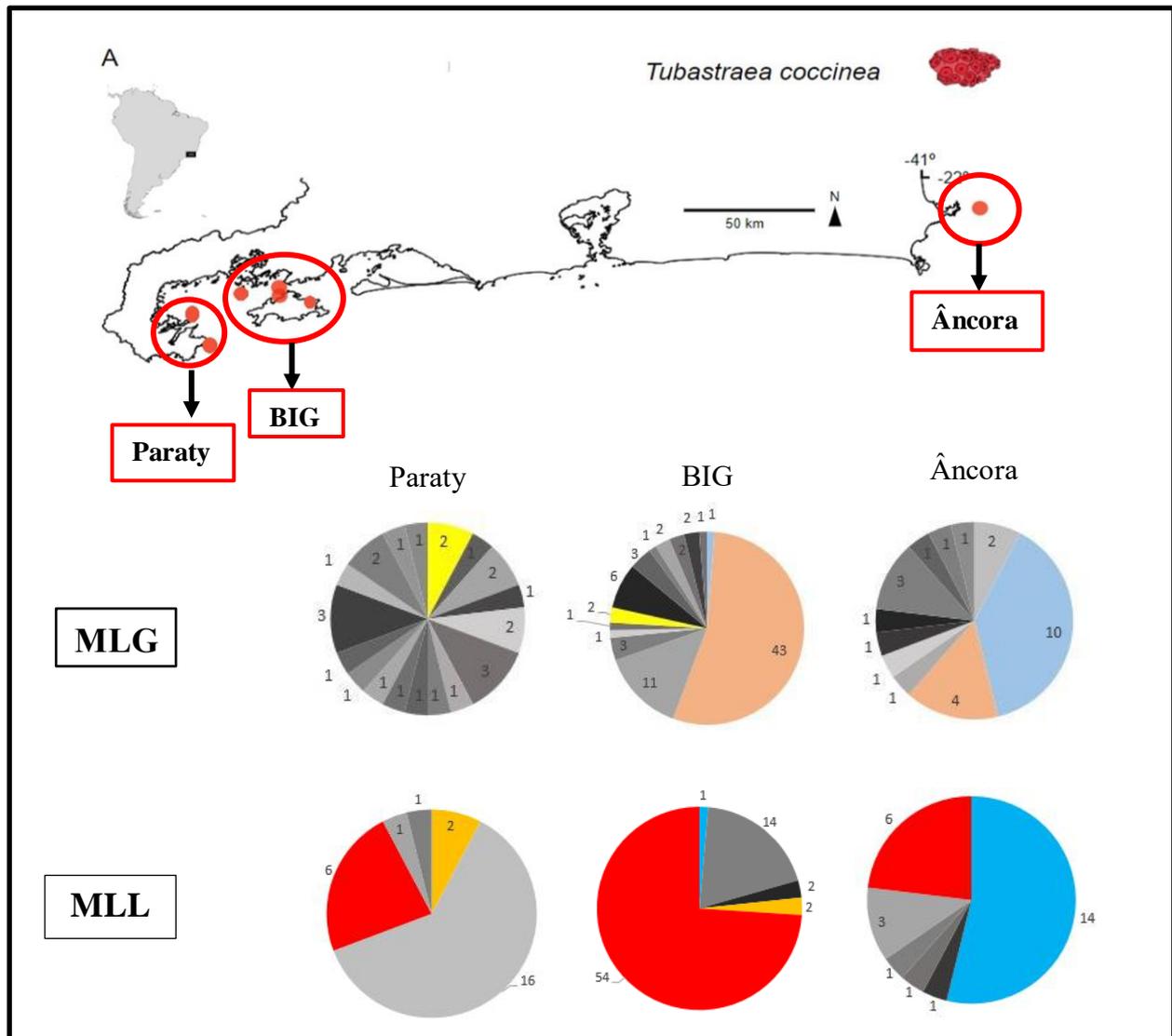


Figura 5 – Mapa dos pontos de coleta e regiões amostrais para a espécie *Tubastraea coccinea*. Gráficos de pizza representam genótipos multilocus (MLG) e linhagens multilocus (MLL) únicas e o número de indivíduos que pertencem a cada um. MLG's e MLL's em escala de cinza representam genótipos e linhagens exclusivas daquela região. Demais cores representam genótipos e linhagens compartilhadas entre duas ou mais regiões.

Dentro das regiões amostradas para *Tubastraea tagusensis*, Âncora apresentou doze MLG'S (N final = 31; MLG = 12), sendo onze MLG's exclusivos (Figura 6). Cagarras apresentou nove MLG's e apenas dois MLG's exclusivos (N final = 32; MLG = 9). BIG apresentou o maior número de genótipos multilocus entre as duas espécies (N final = 80; MLG = 24), e possui dezoito MLG's exclusivos. Para *T. tagusensis*, Paraty foi a localidade com o

menor número de MLG's entre as duas espécies (N final = 35; MLG = 5), sendo quatro MLG's exclusivos e um compartilhado com Cagarras e BIG.

Apenas um MLG foi compartilhado entre três localidades (MLG representado em amarelo na Figura 6, compartilhado entre BIG, Cagarras e Âncora). BIG e Cagarras compartilharam quatro MLG'S e Paraty compartilhou um único MLG somente com Cagarras. Os resultados de *Tubastraea tagusensis* demonstram a ocorrência de uma linhagem dominante presente em todas as regiões (representada em lilás na Figura 6), e outra linhagem compartilhada entre BIG (N = 1), Cagarras (N = 1) e Âncora (N = 9), local onde foi mais abundante (MLL representada em verde na Figura 6). Apenas BIG e Âncora apresentaram MLL's exclusivas (3 e 5, respectivamente).

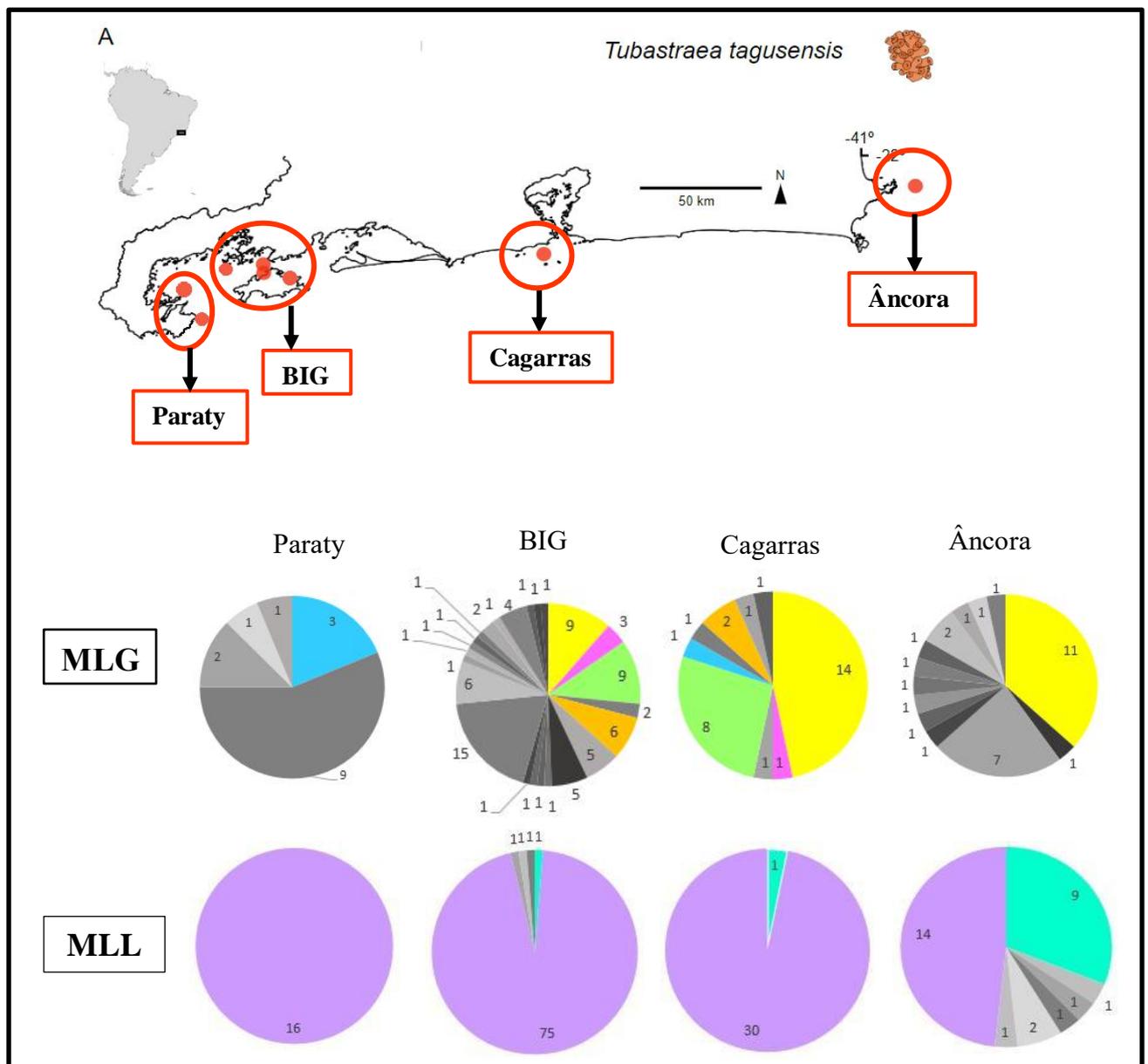


Figura 6 – Mapa com os pontos de coleta e regiões amostrais para a espécie *Tubastraea tagusensis*. Gráficos de pizza representam MLG's e MLL's e o número de indivíduos que pertencem a cada um. MLG's e MLL's em escala de cinza representam genótipos e linhagens exclusivas daquela região. Demais cores representam genótipos e linhagens compartilhadas entre duas ou mais regiões.

Para a espécie *Tubastraea tagusensis*, a riqueza clonal foi igual a zero em Paraty, o que evidencia uma composição exclusivamente clonal. BIG apresentou uma riqueza clonal próxima de zero ($R=0,05$), mesmo com um N final de 80 indivíduos, indicando uma população composta principalmente por clones. Na região de Cagarras a riqueza clonal foi baixa ($R= 0,06$) e em Âncora a riqueza clonal teve seu valor mais elevado ($R=0,21$). Das regiões avaliadas nesse estudo, ambas as espécies tiveram a maior riqueza clonal em Âncora ($R= 0,24$ para *T. coccinea* $R= 0,21$ para *T. tagusensis* – Tabelas 3 e 4).

Para a espécie *T. tagusensis*, a localidade de Âncora apresentou o maior valor equitabilidade (V) entre todas as localidades das duas espécies ($V = 0,60$). Em BIG e Cagarras os valores foram extremamente baixos, próximos a zero e em Paraty a equitabilidade não foi calculada por ter apresentado somente uma MLL. A equitabilidade do conjunto de indivíduos de *T. coccinea* em BIG foi a menor entre todas as localidades ($V = 0,43$), seguido pelo encontrado em Paraty ($V = 0,53$) e Âncora ($V = 0,57$).

4.2 Diversidade Genética

Para *Tubastraea coccinea*, os resultados da localidade Paraty demonstraram um baixo número total de alelos ($A_t = 19$) assim como um baixo número de alelos privados ($A_p = 2$) e menor heterozigosidade esperada ($H_e = 0,47$). BIG apresentou um número mais elevado de alelos ($A_t = 21$), em contrapartida, um número mais baixo de alelos privados ($A_p = 1$) e uma H_e mais elevada ($H_e = 0,52$). A localidade de Âncora apresentou o maior número total de alelos ($A_t = 35$), maior número de alelos privados ($A_p = 15$) e maior heterozigosidade esperada ($H_e = 0,63$), indicando maior diversidade genética para esta localidade (Tabela 3).

Na região de Paraty a espécie *Tubastraea tagusensis* apresentou somente uma linhagem multilocus e, portanto, não foi possível calcular índices de diversidade genética (Tabela 4). O conjunto de indivíduos de BIG possui o maior número de alelos totais ($A_t = 30$), sete alelos privados, e maior diversidade genética ($H_e = 0,51$). A localidade de Cagarras apresentou os menores valores de número total de alelos ($A_t = 20$), heterozigosidade esperada ($H_e = 0,37$), e

apenas um alelo privado. Em Âncora foram detectados valores intermediários de número total de alelos ($At = 26$) e heterozigosidade esperada ($He = 0,46$), além de 3 alelos privados (Tabela 7).

No geral, as heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He) variaram de 0,545 a 0,619 e 0,471 a 0,633 para *T. coccinea* (Tabela 6), e 0,550 a 0,617 e 0,371 a 0,514 para *T. tagusensis* (Tabela 7). Os valores do coeficiente de consanguinidade (FIS) foram todos negativos para as duas espécies.

Tabela 6 – Diversidade genética de *Tubastraea coccinea* em três regiões amostradas no litoral do Rio de Janeiro.

População	N inicial	N final	MLG	MLL	R	V	At	Ar	Ap	Ho	He	FIS
Âncora	27	26	11	7	0,24	0,57	35	2,9	15	0,545	0,633	(-0,019)
BIG	88	74	13	5	0,05	0,43	21	2,2	1	0,589	0,521	(-0,250)
Paraty	47	26	19	5	0,16	0,53	19	1,9	2	0,619	0,471	(-0,410)

Legenda: *N inicial* – número de indivíduos amostrados; *N final* – número de indivíduos cuja genotipagem funcionou; *MLG* – genótipos multilocus; *MLL* – linhagens multilocus; *R* – riqueza clonal; *V* – equitabilidade genotípica; *At* – número total de alelos; *Ar* – riqueza alélica; *Ap* – número de alelos privados; *Ho* – Heterozigosidade observada; *He* – Heterozigosidade esperada; *Fis* – endogamia.

Tabela 7 - Diversidade genética de *Tubastraea tagusensis* em quatro regiões amostradas no litoral do Rio de Janeiro.

População	N inicial	N final	MLG	MLL	R	V	At	Ar	Ap	Ho	He	FIS
Âncora	32	29	12	7	0,21	0,60	26	1,987	3	0,550	0,467	(-0,080)
Cagarras	32	31	9	3	0,06	-9,88e-17	20	1,824	1	0,617	0,371	(-0,625)
BIG	80	80	34	5	0,05	-1,95e-17	30	2,336	7	0,610	0,514	(-0,147)
Paraty	48	15	6	1	0	13

Legenda: *N inicial* – número de indivíduos amostrados; *N final* – número de indivíduos cuja genotipagem funcionou; *MLG* – genótipos multilocus; *MLL* – linhagens multilocus; *R* – riqueza clonal; *V* – equitabilidade genotípica; *At* – número total de alelos; *Ar* – riqueza alélica; *Ap* – número de alelos privados; *Ho* – Heterozigosidade observada; *He* – Heterozigosidade esperada; *Fis* – endogamia.

4.3 Estrutura populacional

Para avaliar a estruturação populacional das espécies de *Tubastraea* spp. foi realizada uma análise de componentes principais (PCA). Os resultados evidenciam uma ausência de

estruturação e alta similaridade entre as regiões (Figura 7), provavelmente em função da grande quantidade de indivíduos clonais presentes nas localidades avaliadas.

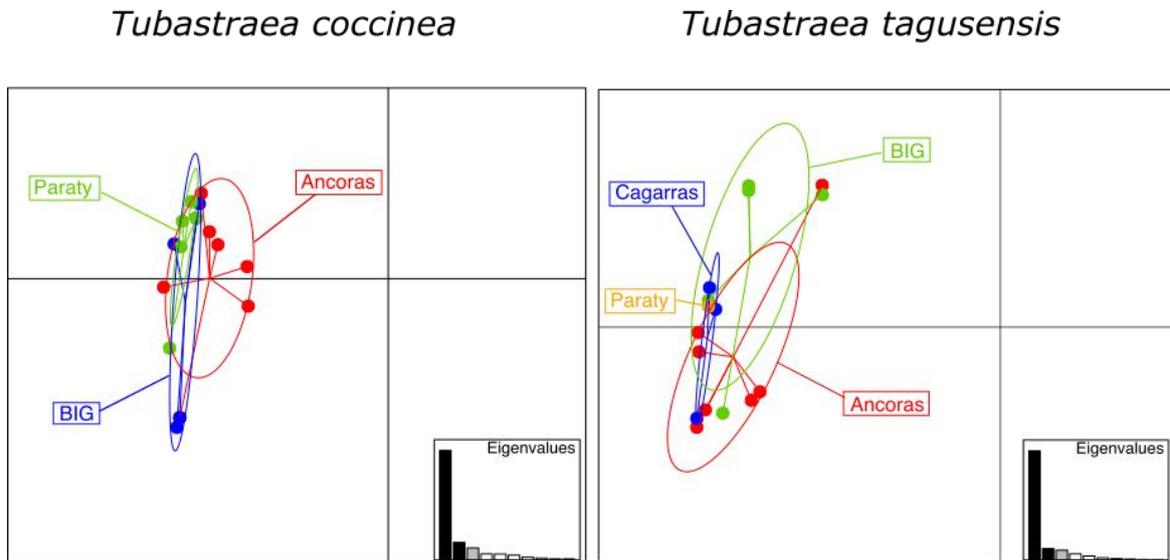


Figura 7 - Análise de componentes principais (PCA) para *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis*.

5. Discussão

O presente estudo teve por objetivo avaliar os níveis de clonalidade e diversidade genética das espécies *T. coccinea* e *T. tagusensis* utilizando microssatélites. Esse estudo representa um amplo esforço amostral no litoral do Rio de Janeiro, região onde as espécies invasoras foram identificadas pela primeira vez. Os resultados mostraram que as localidades analisadas na costa do Rio de Janeiro possuem uma grande proporção de clones para ambas as espécies, principalmente para *Tubastraea tagusensis*. Ao Sul do litoral, na localidade de Paraty, todos os indivíduos eram clones para *T. tagusensis*, enquanto a Ilha da Âncora ao Norte foi o local com maior diversidade genética. Não foi observada nenhuma estruturação populacional para *T. coccinea* e para *T. tagusensis*. Os resultados concordam de modo geral com os obtidos por trabalhos anteriores (Capel *et al.*, 2017; Capel *et al.*, 2019) e contribuem para uma melhor compreensão do histórico da invasão no Rio de Janeiro.

Os resultados mostraram uma predominância da reprodução clonal para ambas as espécies, além de níveis elevados de heterozigiosidade, evidenciado pelos valores negativos do

coeficiente de consanguinidade (FIS) (Balloux *et al.*, 2003; Halkett *et al.*, 2005). Linhagens clonais permitem que alelos acumulem divergências indefinidamente devido a uma evolução independente dos *loci* ("Efeito Meselson"), o que frequentemente resulta em altos valores de diversidade alélica e heterozigosidade (Birky, 1996; Balloux *et al.*, 2003; Halkett *et al.*, 2005). Todas as localidades apresentaram um excesso de heterozigotos com exceção de Âncora (para *T. coccinea*), uma vez que a heterozigosidade observada (H_o) foi maior do que a esperada pelo equilíbrio Hardy-Weinberg. Os valores de heterozigosidade esperada (H_e) (0,37-0,51 para *T. tagusensis* e 0,4-0,63 para *T. coccinea*) foram mais elevados do que o encontrado para *Pocillopora damicornis* (0,17-0,23) (Adjeroud, 1999) e mais similares aos observados para *Mussismilia hispida* (0,50-0,74) (Azevedo, 2015) e *Acropora millepora* (0,2-0,88) (van Oppen *et al.*, 2011). A diversidade genética observada para *Tubastraea* spp. tanto para litoral do Rio de Janeiro quanto para outras regiões da costa (Capel *et al.*, 2017) pode ser explicada por uma combinação de fatores, como estratégias reprodutivas diversas somadas à ocorrência de múltiplas invasões primárias (Capel *et al.*, 2017) e invasões secundárias (Capel *et al.*, 2019).

Para a espécie *T. coccinea*, foi possível notar a dominância de uma MLL distinta para cada uma das localidades. A linhagem dominante de Paraty é provavelmente a mesma linhagem dominante em BIG (representada em vermelho na figura 5), pois a maioria dos marcadores amplificados com sucesso para Paraty são idênticos aos de BIG, sendo as únicas diferenças produto de falhas de amplificação. A segunda linhagem dominante de BIG que aparece como exclusiva deve pertencer à linhagem azul, que é dominante em Âncora, também devido às falhas na amplificação de marcadores. A amplificação desses marcadores é necessária para confirmar essa hipótese. Uma MLL foi compartilhada por todas as localidades, correspondendo a 73,97% dos indivíduos de BIG, 23,07% de Paraty e 23,07% de Âncora. Proporcionalmente o número de indivíduos clonais de *T. coccinea* presentes nas três localidades corresponde a 85,85% do número final amostrado ($N_{\text{final}} = 99$).

T. tagusensis apresentou o mesmo MLL dominante para as quatro localidades analisadas. Esses resultados possuem semelhança com o observado por Capel *et al.*, (2019) que também verificou um genótipo dominante para ambas as espécies no Atlântico Sudoeste (compartilhado por 36% e 46% de todos os indivíduos analisados, para *T. coccinea* e *T. Diaphana*, respectivamente), mostrando uma super-representação de poucos genótipos. É importante chamar atenção para o fato de que houve uma grande diferença do número de MLG's para MLL's nessa espécie. Isso indica que os MLG's dominantes considerados exclusivos em Paraty e BIG foram unidos em algumas poucas MLL's por conta da grande

quantidade de marcadores que não foram amplificados. Em relação ao número final amostrado (N final = 155), 94,20% dos indivíduos de *T. tagusensis* pertenceram a linhagens clonais. Cagarras apresentou indivíduos pertencentes a duas MLL's clonais, uma compartilhada com todas as localidades (representada em lilás na Figura 6) e outra compartilhada com BIG e Âncora (representada em verde na Figura 6).

O compartilhamento de clones entre regiões diferentes pode ser um resultado da dispersão de larvas e/ou introduções secundárias de um local invadido para outro através de vetores. Essa hipótese é apoiada por informações de que vetores, como plataformas de petróleo e monobóias, são os meios mais prováveis de introdução dessas espécies na costa brasileira e são frequentemente transportados mesmo quando contaminados (Creed *et al.*, 2016). Sabe-se que *T. coccinea* e outras 21 espécies não indígenas já foram detectadas em navios-sonda, plataformas e navios cargueiros em Arraial do Cabo (Ferreira, Gonçalves, & Coutinho 2006). Além disso, estudos anteriores demonstraram que substratos artificiais realmente facilitam a invasão (Dafforn, Johnston, & Glasby, 2009; Glasby *et al.*, 2007; Ruiz *et al.*, 2009). *Tubastraea* spp. parecem ser espécies oportunistas e têm sido relatadas em diversos substratos artificiais (Castro & Pires, 2001; Creed *et al.*, 2016; Fenner & Banks, 2004; Ferreira *et al.*, 2006). O estudo de Mangelli & Creed (2012) mostrou que *Tubastraea coccinea* é mais abundante em pilares de piers, decks ou cais em comparação à costões rochosos, o que pode corroborar uma preferência por substratos artificiais que pode facilitar a bioinvasão das comunidades nativas. Em uma abordagem experimental, de Paula & Creed (2007) apontaram ainda elevadas densidades de recrutas de *T. coccinea* e *T. tagusensis* em placas de cimento, granito (natural), azulejo e aço. Além disso, a dispersão através de lixo flutuante presente nos oceanos pode ser outro fator contribuindo para o compartilhamento de clones entre localidades (Mantelatto *et al.*, 2020).

Adicionalmente, por serem regiões próximas, as localidades podem estar conectadas pela dispersão de larvas assexuadas por correntes marinhas. O gênero *Tubastraea* spp. se reproduz principalmente por meio de larvas assexuadas (Ayre & Resing, 1986; Capel, 2018), é capaz de se reproduzir apenas três meses após o assentamento (de Paula *et al.*, 2014) e uma única colônia é capaz de liberar aproximadamente 18.139 larvas durante o período anual de reprodução (Luz *et al.*, 2020), evidenciando sua maturidade “prematura” (Fenner & Banks, 2004) e alta pressão de propágulos (Lockwood *et al.*, 2009), fatores que facilitam uma rápida expansão das espécies. Capel *et al.*, 2017 relatou que a reprodução assexuada foi dominante na faixa invadida e pode ter contribuído para o sucesso invasivo de *Tubastraea* spp. no Atlântico

Sudoeste. Também foi observado que vetores ainda "escondem" grande parte da diversidade genética e genotípica e novas invasões nas áreas costeiras podem aumentar a diversidade genética de localidades invadidas. Um estudo realizado por Black & Johnson (1979) acerca da genética de populações da anêmona *Actinia tenebrosa* obteve resultados semelhantes aos do presente trabalho, com a ocorrência de poucos genótipos nos locais amostrados, além de um ou dois genótipos terem sido fortemente predominantes.

A maior proporção de indivíduos clonais foi encontrada em BIG, enquanto Âncora apresentou a menor proporção de indivíduos clonais. No final da década de 80 (Castro & Pires, 2001) registrou-se pela primeira vez em plataformas offshore de petróleo da Bacia de Campos, a presença de *Tubastraea* spp. no sudoeste do Atlântico. Aproximadamente duas décadas depois, de Paula e Creed (2005), analisaram a distribuição e expansão de *Tubastraea* spp. na baía da Ilha Grande, sugerindo que o terminal de petróleo da Petrobras e o estaleiro Verolme seriam pontos prováveis de introdução dessas espécies invasoras no litoral do Rio de Janeiro. A grande proporção de clones observada tanto para *T. coccinea* como para *T. tagusensis* em BIG pode ser devida à introdução inicial de poucos genótipos na região e apenas um ou alguns genótipos mais bem ajustados ao ambiente local teriam sido capazes de se estabelecerem e dispersar por reprodução assexuada (Caron *et al.*, 2014). Somado a isso, foram realizadas ações constantes de manejo do coral-sol na região pelo Projeto Coral Sol (CONABIO, 2009; Lages *et al.*, 2011; de Paula & Creed, 2015; Gomes, 2015; Creed *et al.*, 2017; Gomes, 2017; Mantelatto *et al.*, 2020). Nesse caso, as ações de manejo podem estar ajudando a remover genótipos diferentes, levando a uma diminuição da diversidade genética em BIG. Os poucos indivíduos sobreviventes ao manejo se reproduziram por meio de larvas assexuadas dominando a localidade. Invasores com baixo número de indivíduos e/ou, baixa diversidade genética podem alcançar altas densidades dominando notavelmente a região invadida quando existe uma alta capacidade de gerar clones, característica comum entre espécies invasoras bem-sucedidas. (Caron *et al.*, 2014; Roman & Darling, 2007).

Espécies marinhas possuem modos de propagação clonal altamente diversos, entre os quais é possível citar a fissão (Burnett *et al.*, 1995), fragmentação de colônias (Hunter, 1993), a liberação de plânulas assexuadas (Ayre & Resing, 1986) e polyp bail-out, uma estratégia de sobrevivência que pode ajudar indiretamente na propagação da espécie (Sammarco, 1982; Kramarsky *et al.*, 1997; Capel *et al.*, 2014). A fragmentação de colônias por meio de distúrbios físicos, como o efeito das ondas, é a principal forma de propagação assexuada para as espécies *Porites furcata*, *Acropora palmata* e *Acropora cervicornis* (Highsmith, 1982), porém é pouco

provável que esta seja a estratégia de dispersão clonal para *Tubastraea* spp. A principal hipótese para a grande quantidade de clones encontrados em todos os pontos de coleta é a predominância de reprodução por meio da liberação de larvas assexuadas. Essa estratégia reprodutiva já foi detectada para *Tubastraea coccinea*, *Tubastraea diaphana* e *Tubastraea tagusensis* (Ayre & Resing 1986; Stoddart 1983; Capel, 2018).

Âncora apresentou o menor índice de clonalidade para as duas espécies. Uma hipótese que explicaria essa diversidade genética mais elevada em Âncora, quando comparado com os outros locais, poderia ser a ocorrência de múltiplas invasões (Capel *et al.*, (2019). Nesse caso, pode ter havido a introdução de indivíduos com genótipos distintos ou até mesmo provenientes de mais de uma população nativa, levando a um aumento da diversidade genética. Múltiplas introduções aumentam a pressão de propágulo e podem ter um efeito de “quebra de isolamento” inserindo genótipos novos em populações isoladas (Bock *et al.*, 2015; Dlugosch & Parker, 2008). O maior valor de equitabilidade (V) encontrado pertenceu à localidade de Âncora em *T. coccinea* (V = 0,57) sugerindo uma distribuição mais equitativa de indivíduos entre os genótipos multilocus identificados nessa localidade, que não teve uma linhagem dominante única.

O presente trabalho não apresentou uma estruturação populacional a partir das análises de componentes principais (PCA), com apenas um agregado (cluster) tanto para *T. coccinea* quanto para *T. tagusensis*. A ausência de uma estruturação populacional significativa entre as localidades amostradas indica que a frequência de alelos para ambas as espécies nesses locais é semelhante. Comparativamente, o trabalho de Capel *et al.*, (2019) analisaram amostras distribuídas ao longo de toda a área de distribuição das espécies na costa brasileira e também não encontraram nenhuma evidencia de estruturação populacional para *T. coccinea* a partir das análises de PCA, o que provavelmente é resultado da dispersão larval e transporte de vetores infestados. Similarmente, o estudo de Takabayashi (2003) sobre o coral *Stylophora pistillata* encontrou baixa diferenciação entre as populações do sul do Japão ao sul da Grande Barreira de Corais da Austrália, uma distância de 7.000 km. Sammarco *et al.*, (2017) encontraram resultados diferentes do presente estudo ao analisar populações invasoras de *T. micranthus* em duas plataformas de petróleo no Golfo do México, com quatro agrupamentos genéticos observados em uma única plataforma, provavelmente resultantes de múltiplas introduções de populações de origem distintas. Um estudo feito por Azevedo, 2015 avaliando a conectividade genética do coral endêmico *Mussismilia hispida* ao longo da costa brasileira obteve resultados

distintos aos do presente trabalho. Os resultados confirmaram uma estruturação em quatro populações para *M. hispida*.

Considerando que ambas as larvas de *T. coccinea* e *T. tagusensis* são competentes por aproximadamente apenas 18 dias (em aquários) que normalmente exibem assentamento gregário (Glynn *et al.*, 2008; de Paula & Creed, 2014), é provável que as localidades amostradas no litoral do Rio de Janeiro tenham sido conectadas por meio da dispersão larval. Sabe-se que navios sonda e diversos tipos de embarcações se deslocam entre essas localidades e são considerados o principal vetor para a introdução de *Tubastraea* spp. no Atlântico Sudoeste (Creed *et al.*, 2016). Dessa forma, a falta de estrutura entre as localidades, e a ocorrência de MLLs compartilhados para cada espécie entre esses locais distantes como Paraty e Âncora (aproximadamente 410 km), indica que vetores antropogênicos, como monobóias, outras embarcações e até mesmo lixo flutuante (Williams *et al.*, 2013; Creed *et al.*, 2016; Ricciardi, 2016; Mantelatto *et al.*, 2020) têm desempenhado um papel importante na dispersão dessas espécies invasoras, possivelmente favorecendo outras espécies a se espalharem ao longo da costa (Creed *et al.*, 2016) por meio da liberação de larvas produzidas assexuadamente durante o deslocamento desses possíveis vetores.

6. Conclusões

- As populações encontradas tanto ao longo da costa do Rio de Janeiro são altamente clonais, principalmente as de *Tubastraea tagusensis*, evidenciando o potencial de um único indivíduo colonizar grandes extensões;
- Âncora foi a localidade que apresentou maior diversidade genética para as duas espécies analisadas;
- Não foi detectada estruturação populacional significativa do coral-sol ao longo de sua distribuição no litoral do Rio de Janeiro;

7. Referências Bibliográficas

- Abdi, H., & Williams, L. J. 2010. Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4): 433 – 459.
- Allendorf, F. W. Luikart, G, Aitken S. N. 2013. *Conservation and the genetics of populations* 2nd ed. **Wiley-Blackwell, 624 pp.**
- Andreakis, N; Kooistra, W. H. C. F. & Procaccini, G. 2009. High genetic diversity and connectivity in the polyploid invasive seaweed *Asparagopsis taxiformis* (Bonnemaisoniales) in the Mediterranean, explored with microsatellite alleles and multilocus genotypes. *Molecular Ecology*, 18: 212 – 226.
- Arnaud-Haond S; Duarte, M. Alberto, F. Serrão, A. 2007. Standardizing methods to address clonality in population studies. *Molecular Ecology*, 16: 5115 – 5139.
- Ayre, D. J; Resing, J. M. 1986. Sexual and asexual production of planulae in reef corals. *Mar. Biol*, 90: 187 – 190.
- Ayre, D. J; & Miller, K. J. 2004. Where do clonal coral larvae go? Adult genotypic diversity conflicts with reproductive effort in the brooding coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Ecology Progress Series*, 277: 95 – 105.
- Adjeroud, M; & Tsuchiya, M. 1999. Genetic variation and clonal structure in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* in the Ryukyu Archipelago, southern Japan. *Marine Biology*, 134(4): 753 – 759.
- Baums, I. B; Miller, M. W., & Hellberg, M. E. 2005. Regionally isolated populations of an imperiled Caribbean coral, *Acropora palmata*. *Molecular Ecology*, 14(5): 1377 – 1390.

- Bahia, J; Silva J. S. V, Junqueira, A. O. R. 2008. *Erythropodium caribaeorum: distribuição e abundância de um octocoral introduzido na Baía de Sepetiba.- XXX Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica (Resumo).*
- Balloux F; Lehmann L, De Meeûs T., 2003. The population genetics of clonal and partially clonal diploids. *Genetics*, 164: 1635 – 1644.
- Bell, G. 1982. *The masterpiece of nature: the evolution and genetics of sexuality.* **Croom Helm, London, 635 pp.**
- Bengtsson, Z. A; Kuhn, K. M. Battaglino, A. T. Li, A. S. Talbot, M. N. Wafapoor, M., Atta, C. J. Kowalski, M. B. Margolis, S. P. Rar, E. A. Burmester, E. M. Lesneski, K. C. Scavo, K. Kaufman, L. Stewart, N. L. Finnerty, J. R. 2015. Corals of the genus *Porites* are a locally abundant component of the epibiont community on mangrove prop roots at Calabash Caye, Turneffe Atoll, Belize. *PeerJ* 3:e1811.
- Birky, C. W. 1996. Heterozygosity, heteromorphy, and phylogenetic trees in asexual eukaryotes. *Genetics*, 144: 427 – 437.
- Blackburn, T. M; Pyšek, P. Bacher, Carlton, J. T, Duncan, R. P. Jarošík, V. Wilson, J. R. U. & Richardson, D. M. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 26: 333 – 339.
- Black, R., & Johnson, M. S. 1979. Asexual viviparity and population genetics of *Actinia tenebrosa*. *Marine Biology*, 53(1): 27 – 31.
- Bock, D. G; *et al.*, 2015. What we still don't know about invasion genetics. *Molecular Ecology*, 24(9), 2277–2297.

- Burnett, W; *et al.*, 1995. Patterns of genetic subdivision in populations of a clonal cnidarian, *Zoanthus coppingeri*, from the Great Barrier Reef. *Marine Biology*, 122: 665 – 673.
- Cairns, S. D. 1994. Scleractinie of the temperate North Pacific. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 557: p. 150.
- Cairns, S. D. 2000. A revision of the shallow-water azooxanthellate Scleractinia of the Western Atlantic. *Stud Nat Hist Caribb Reg*, 75: 1 – 231.
- Cairns, S. D. 2001. A generic revision and phylogenetic analysis of the Dendrophylliidae (Cnidaria: Scleractinia). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 615: 1 – 75.
- Capel, K. C. C; Migotto, A. E., Zilberberg, C., & Kitahara, M. V. 2014. Another tool towards invasion? Polyp “bail-out” in *Tubastraea coccinea*. *Coral Reefs*, 33(4): 1165 – 1165.
- Capel K. C. C; Toonen, R. J.; Rachid, Caio T. C. C.; *et al.*, 2017. Clone wars: asexual reproduction dominates in the invasive range of *Tubastraea* spp. (Anthozoa: Scleractinia) in the South-Atlantic Ocean. *PeerJ*, vol. 5: 1 – 21.
- Capel K. C. C. 2018. *Sistemática do gênero Tubastraea (Scleractinia: Dendrophylliidae) e estrutura genética das espécies invasoras do Atlântico Sul Ocidental*. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, 222 pp.
- Capel, K. C. C; Creed, J., Kitahara, M. V. *et al.*, 2019. Multiple introductions and secondary dispersion of *Tubastraea* spp. in the Southwestern Atlantic. *Sci Rep* 9, 13978.

- Carlton J. T. 1989. Man's role in changing the face of the ocean – biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conserv Biol*, 3: 265 – 273.
- Carlton, J. T. 1996. Pattern, process and prediction in marine invasion ecology. *Biol Conserv*, 78: 97 –106.
- Carlton, J. T; Geller J. B, Reaka-Kudla M. L, Norse E. A. 1999. Historical extinctions in the sea. *Annu Rev Ecol Syst*, 30: 515 – 538.
- Carlton, J. T. 2001. *Introduced species in U.S. coastal waters: environmental impacts and management priorities*. **Arlington, Virginia: Pew Oceans Commission. 28 pp.**
- Caron, V; Ede, F. J., & Sunnucks, P. 2014. Unravelling the paradox of loss of genetic variation during invasion: Superclones may explain the success of a clonal invader. *PLoS ONE*, 9(6): e97744.
- Carpinelli, Á; & Cordeiro, R. & Neves, L. & Moura, R. & Kitahara, M. 2020. *Erythropodium caribaeorum* (Duchassaing and Michelotti, 1860) (*Cnidaria: Alcyonacea*), an additional alien coral in the Southwestern Atlantic. *Zootaxa*, 4822: 175 –190.
- Castro C, Pires D. 2001. Brazilian coral reefs: what we already know and what is still missing. *Bull Mar Sci*, 69(2): 357 – 371.
- Colley, E; & Fischer, M. L. 2009. Avaliação dos problemas enfrentados no manejo do caramujo gigante africano *Achatina fulica* (*Gastropoda: Pulmonata*) no Brasil. *Zoologia (Curitiba)*, 26(4): 674 – 683.

- CONABIO, 2009. Estratégia Nacional sobre Espécies Exóticas Invasoras. Anexo 1 Resolução CONABIO n.o 5 de 21 de outubro de 2009. Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Comissão Nacional de Biodiversidade, Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 27 pp.
- Creed J. C. 2006. Two invasive alien azooxanthellate corals, *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*, dominate the native zooxanthellate *Mussismilia hispida* in Brazil. *Coral Reefs*, 25: 350.
- Creed J. C; *et al.*, 2016. The invasion of the azooxanthellate coral *Tubastraea* (Scleractinia: Dendrophylliidae) throughout the world: history, pathways and vectors. *Biological Invasions*, 19: 283 – 305.
- Creed J. C; *et al.*, 2017. The invasion of the azooxanthellate coral *Tubastraea* (Scleractinia: Dendrophylliidae) throughout the world: history, pathways and vectors. *Biological Invasions*, 19: 283 – 305.
- Creed, J. C; Junqueira, A. O. R. Fleury, B. G. Mantelatto, M. C. Oigman-Pszczol, S. S. 2017. The Sun-Coral Project: the first social-environmental initiative to manage the biological invasion of *Tubastraea* spp. in Brazil. *Management of Biological Invasions* 8: 181 – 195.
- Crooks, J. A. Suarez, A. 2006. *Hyperconnectivity, invasive species, and the breakdown of natural barriers to dispersal*. In: Crooks KR, Sanjayan MA (eds) *Connectivity conservation: maintaining connections for nature*. Cambridge, New York, 451 – 478.
- Dafforn, K. A; Johnston, E. L., & Glasby, T. M. 2009. Shallow moving structures promote marine invader dominance. *Biofouling*, 25(3): 277 – 287.
- Darling, J. A., Bagley, M. J., Roman, J., Tepolt, C. K. & Geller, J. B. 2008. Genetic patterns across multiple introductions of the globally invasive crab genus *Carcinus*. *Molecular Ecology*, 17: 4992 – 5007.

- Darrigran, G. 2000. Invasive freshwater bivalves of the neotropical region. *Dreissena*, 11: 7 – 13.
- Darrigran, G. 2002. *Biological Invasions*, 4(1/2): 145 – 156.
- Davis, M. A. 2011. *Encyclopedia of biological invasions. Invasion Biology. University of California Press Berkeley and Los Angeles, California, 765 pp.*
- de Paula, A. F. 2002. *Abundância e distribuição espacial do coral invasor Tubastraea na baía da Ilha Grande, RJ e o registro de T. tagusensis e T. coccinea para o Brasil.* Rio de Janeiro. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual do Rio de Janeiro.
- de Paula, A. F; Creed, J. C. 2004. Two species of the coral *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) in Brazil: a case of accidental introduction. *Bull Mar Sci*, 74(1): 175 – 183.
- de Paula, A. F; Creed, J. C. 2005. Spatial distribution and abundance of nonindigenous coral genus *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) around Ilha Grande, Brazil. *Braz J Biol*, 65(4): 661 – 673.
- de Paula, A. F; Pires D. O & Creed, J. C. 2014. Reproductive strategies of two invasive Sun corals (*Tubastraea* spp.) in the southwestern Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 94: 481 – 492.
- Dick, J. A. 1992. The nature and implications of differential predation between *Gammarus pulex* and *G. duebeni celticus* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Zoology*, 227(2): 171 – 183.

- Dick, J. T. A; Elwood, R. W., & Montgomery, W. I. 1995. The behavioural basis of a species replacement: differential aggression and predation between the introduced *Gammarus pulex* and the native *G. duebeni celticus* (Amphipoda). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37(6): 393 – 398.
- Dlugosch, K. M; & Parker, I. M. 2008. Founding events in species invasions: Genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology*, 17(1), 431–449.
- Douhovnikoff, V; Dodd, R. S. 2003. Intra-clonal variation and a similarity threshold for identification of clones: application to *Salix exigua* using AFLP molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 1307 – 1315.
- Edwards, M., Richardson, A. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature* 430, 881–884.
- Ellegren, H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics*, 16: 551 – 558.
- Elliott, M. 2003. Biological pollutants and biological pollution - an increasing cause for concern. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 275 – 280.
- Escudero, A. J; Iriondo, M. and Torres. M. E. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation*, 113: 351 – 365.
- Faasse, M; & Bayha, K. 2006. The ctenophore *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz 1865 in coastal waters of the Netherlands: An unrecognized invasion? *Aquatic Invasions Issue*, 1: 270 – 277.

- Faria, L. C. & Kitahara, M. V. 2020. Invasive corals hitchhiking in the Southwestern Atlantic. *Ecology*, 2020, 0(0), e03066.
- Fenner, D. 2001. Biogeography of three Caribbean corals (Scleractinia) and the invasion of *Tubastraea coccinea* into the Gulf of Mexico. *Bull Mar Sci*, 69: 1175 – 1189.
- Fenner, D; & Banks K. 2004. Orange cup coral *Tubastraea coccinea* invades Florida and the Flower Garden Banks, northwestern Gulf of Mexico. *Coral Reefs*, 23: 505 – 507.
- Ferreira; C. E. L. 2003. Non-indigenous corals at marginal sites. *Coral Reefs*, 22: 498.
- Ferreira, C. E. L. Stankwitz Jr., H., Fragoso, P. H. P. Coutinho, R. 2004. Os corais exóticos em Arraial do Cabo: dinâmica populacional e erradicação. In: SEMINÁRIO DE ÁGUA DE LASTRO, 3, Arraial do Cabo, Rio de Janeiro. Resumo em meio digital (CD).
- Ferreira, C. E. L; Gonçalves, J. E. a & Coutinho, R. 2006. Ship Hulls and Oil Platforms as Potential Vectors to Marine Species Introduction. *Journal of Coastal Research*, SI 39: 1341 – 1346.
- Ferreira, C. E. L.; Junqueira, A. O. R.; Villac, M. C.; Lopes, R. M. 2009. *Marine bioinvasions in the Brazilian coast: brief report on history of events, vectors, ecology, impacts and management of non-indigenous species*. In: RILOV, G.; CROOKS, J.A. (Eds.). *Biological invasions in marine ecosystems: Ecological, management, and geographic perspectives*. Berlin, Heidelberg: Springer. v. 204: 459 – 477.
- Frankowiak, K; Kret, S. Mazur, M. Meibom, A. Kitahara, M. V. & Stolarski, J. 2016. Fine-Scale Skeletal Banding Can Distinguish Symbiotic from Asymbiotic Species among Modern and Fossil Scleractinian Corals. *PLOS ONE*, 11(1): e0147066.

- Fukami, H; Budd, A. F, Paulay, G. Sole-Cava, A. Chen, C. L. A. Iwao, K. Knowlton, N. 2004. Conventional taxonomy obscures deep divergence between Pacific and Atlantic corals. *Nature*, 427: 832 – 835.
- Glasby, T. M; Connell, S. D. Holloway, M. G. & Hewitt, C. L. 2007. Nonindigenous biota on artificial structures: Could habitat creation facilitate biological invasions? *Marine Biology*, 151(3): 887 – 895.
- Glynn, P. W; Colley, S. B, Mate, J. L, Cortes, J. Guzman, H. M. Bailey, R. L. Feingold, J. S, Enochs, I. C., 2008. Reproductive ecology of the azooxanthellate coral *Tubastraea coccinea* in the equatorial eastern pacific: Part V. Dendrophylliidae. *Marine Biology*, 153: 529 –544.
- Gomes, A. 2015. *Relatório projeto Eclipse 2: Atividade do Projeto para Manejo do Bioinvasor Tubastraea spp. (Coral-Sol) na Estação Ecológica de Tamoios*. ICMBIO, Rio de Janeiro, 18 pp.
- Gomes, A. 2017. *Relatório final projeto Eclipse: Projeto para manejo do bioinvasor Tubastraea spp. (Coral-Sol) na Estação Ecológica de Tamoios*. ICMBIO, Rio de Janeiro, 27 pp.
- Gurevitch, J.; and Padilla, D. K. 2004. Are invasive species a major cause of extinctions? *Trends Ecol. Evol*, 19: 470 – 474.
- Hamilton, M. 2009. *Population genetics*. **Blackwell-Wiley, New York 424 pp.**
- Highsmith, R.C. 1982. Reproduction by Fragmentation in Corals. *Marine Ecology Progress Series*, 7: 207 - 226.

- Halkett, F; Simon, J. C. Balloux, F. 2005. Tackling the population genetics of clonal and partially clonal organisms. *Trends Ecol Evol*, 20: 194 – 201.
- Harrison, P. & Wallace, C. 1990. *Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals Ecosystems of the world. 25: Coral Reefs. Reproduction, Dispersal and Recruitment of Scleractinian Corals. Elsevier Science Publishing Company, Inc. Amsterdam, The Netherlands, 550 pp.*
- Hartl, D. 2008. A primer of populations genetics 3^a edição, editora FUNPEC.
- Hewitt, C. L; Gollasch, S. & Minchin, D. 2009. The Vessel as a Vector – Biofouling, Ballast Water and Sediments. *Biological Invasions in Marine Ecosystems*, 3: 117–131.
- Hilliard, R. W. Hutchings, P. A. Raaymakers, S. 1997. *Ballast water risk assessment for twelve Queensland ports. Stage 4: Review of candidate risk biota. EcoPorts Monograph Series, 13 a. Brisbane, Australia: Ports Corporation of Queensland. 60. +2 Appendices.*
- Hoeksema, B; W. Padoja, K. & Poprawski, Y. 2018. *Long-distance transport of a West Atlantic stony coral on a plastic raft. Ecology*. 2018, Oct; 99(10): 2402–2404.
- Hodgson, G; Carpenter, K., 1995. Scleractinian corals of Kuwait. *Pac. Sci*, 49: 227 – 246.
- Hughes, T. P. *et al.*, 2003. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*, 301: 929 – 933.

- Hurlbert, S. H. 1971. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. *Ecology*, 52: 577–586.
- IPCC., 2007. Intergovernmental Panel on Climate Change Synthesis Report.
- Judson O. P; Normark B. B. 1996. Ancient asexual scandals. *Trends Ecol Evol*, 11:41– 46.
- Kearse, M; Moir, R. Wilson, A. Stones-Havas, S. Cheung, M. Sturrock, S. Buxton, S. Cooper, A. Markowitz, S. Duran, C. Thierer, T. Ashton, B. Meintjes, P. & Drummond, A. 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28: 1647 – 1649.
- Knowler, D. 2005. Reassessing the costs of biological invasion: *Mnemiopsis leidyi* in the Black sea. *Ecological Economics*, 52(2): 187 – 199.
- Koh, E. G. L; & Sweatman, H. 2000. Chemical warfare among scleractinians: bioactive natural products from *Tubastrea faulkneri* Wells kill larvae of potential competitors. *J Exp Mar Biol Ecol*, 251: 141 – 160.
- Kramarsky-Winter, E; Fine, M. & Loya, Y. 1997. Coral polyp expulsion. *Nature*, 387(6629): 137 – 137.
- Lages, B. G. 2003. *Avaliação do potencial invasor do coral alcionáceo Stereonephthya aff. curvata (Nephtheidae - Alcyonacea) na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo (RJ)*. Rio de Janeiro, 61 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Marinha) – Departamento de Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense.

- Lages, B; Fleury, B. Pinto, A. Creed, J. 2010. Chemical defenses against generalist fish predators and fouling organisms in two invasive ahermatypic corals in the genus *Tubastraea*. *Marine Ecology*, 31: 473 – 482.
- Lages, B. G; Fleury, B. G. Menegola, C. & Creed, J. C. 2011. Change in tropical rocky shore communities due to an alien coral invasion. *Marine Ecology Progress Series*, 438: 85 – 96.
- Lages, B. G; Fleury, B. G, Hovell, A. M. C. Rezende, C. M, Pinto, A. C. Creed J. C. 2012. Proximity to competitors changes secondary metabolites of non-indigenous cup corals, *Tubastraea* spp., in the southwest Atlantic. *Mar Biol*, 159: 1551 – 1559.
- Lee, C. E. & Gelembiuk, G. W. 2008. Evolutionary origins of invasive populations. *Evolutionary Applications*, 1: 427 – 448.
- Le Roux, J; & Wiczorek, A. M. 2009. Molecular systematics and population genetics of biological invasions: towards a better understanding of invasive species management. *Annals of Applied Biology*, 154: 1 – 17.
- Lehninger, A. L. Nelson, D. L. Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica*. **4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 1202 pp.**
- Lockwood, J. L; Cassey, P. & Blackburn, T. 2005. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(5): 223 – 228.
- Lockwood, J. L; Cassey, P. & Blackburn, T. M. 2009. The more you introduce the more you get: The role of colonization pressure and propagule pressure in invasion ecology. *Diversity and Distributions*, 15(5): 904 – 910.

- Lopes, R. M. 2004. Bioinvasões aquáticas por organismos zooplanctônicos: Uma breve revisão. 113 - 131 in: J. S. V. Silva & R. C. C. L. Souza (eds). Água de Lastro e Bioinvasão. Rio de Janeiro, Ed. Interciência.
- Lopes, R. MMA. 2009. Informe Nacional sobre Espécies Exóticas Invasoras: organismos que afetam o ambiente marinho PROBIO. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, D. F.
- Luz, B. L.; P. Kitahara, M. V. 2017. Could the invasive scleractinians *Tubastraea coccinea* and *T. tagusensis* replace the dominant zoantharian *Palythoa caribaeorum* in the Brazilian subtidal? *Coral Reefs*, 36: 875.
- Luz, B. L. P; Capel, K. C. C. Zilberberg, C., Flores, A. A. V., Migotto, A. E., & Kitahara, M. V., 2018. A polyp from nothing: The extreme regeneration capacity of the Atlantic invasive sun corals *Tubastraea coccinea* and *T. tagusensis* (Anthozoa, Scleractinia). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 503: 60 – 65.
- Luz, B. L. P; Di Domenico, M. Migotto, A. E. & Kitahara, M. V. 2020. Life-history traits of *Tubastraea coccinea*: Reproduction, development, and larval competence. *Ecology and Evolution*, 2020;00:1 – 16.
- Mangelli, T. S; & Creed, J. C. 2012. Análise comparativa da abundância do coral invasor *Tubastraea* spp: (Cnidaria, Anthozoa) em substratos naturais e artificiais na Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102(2): 122 – 130.
- Mack, R. N; *et al.*, 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10: 689 – 710.

- Mantelatto, M. C; *et al.*, 2011. Range expansion of the invasive corals *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis* in the Southwest Atlantic. *Coral Reefs*, 30: 397 – 397.
- Mantelatto, M. C.; Pires, L. M.; de Oliveira, G. J. G. Creed, J. C. 2015. *Management of Biological Invasions*, 6: 367 – 374.
- Mantelatto, M; & Póvoa, A. & Skinner, L. & Araujo, F. & Creed, J. 2020. Marine litter and wood debris as habitat and vector for the range expansion of invasive corals (*Tubastraea* spp.). *Marine Pollution Bulletin*, 160.
- MacIsaac, H. J. 1996. Potential abiotic and biotic impacts of Zebra mussels on the inland waters of North America. *American Zoologist*, 36: 287 – 299.
- Meirmans, P. G; & Van Tienderen P. H. 2004. GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology*, Notes 4: 792 – 794.
- Miranda, R. J; Tagliafico, A. Kelaher, B. P Mariano-Neto, E. Barros, F. 2018. Impact of invasive corals *Tubastraea* spp. on native coral recruitment. *Mar Ecol Prog Ser*, 605: 125 – 133.
- Mizrahi, D. 2008. *Influência da temperatura e luminosidade na distribuição da espécie invasora Tubastraea coccinea na região de ressurgência de Arraial do Cabo—RJ*. Dissertação de mestrado, programa de pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- MMA. 2006. Espécies exóticas invasoras: situação brasileira. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas [available online at <http://www.mma.gov.br/invasoras/capa/publicacoes.html> acesso em 23/07/2020].

- MMA. 2014. Informe sobre as espécies exóticas invasoras marinhas no Brasil / Ministério do Meio Ambiente; Brasília: MMA/SBF, 2009 (Série Biodiversidade, 33) 440 pp.
- Mooney, H. A. *et al.*, 2005. Invasive alien species. A new synthesis. **Island Press, Washington, 368 pp.**
- Moraes, F. Bertoncini, Á. Aguiar, A. 2013. *História, pesquisa e biodiversidade do Monumento Natural das Ilhas Cagarras*. **Museu Nacional, Rio de Janeiro: 299 pp.**
- Moreira, P. L; Ribeiro, F. V. Creed, J. C. 2014. Control of invasive marine invertebrates: an experimental evaluation of the use of low salinity for managing pest corals (*Tubastraea* spp.). *Biofouling*. 30(5): 639 – 650.
- Morton, B. 1977. The populations dynamics of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilacea) in Plover Cove reservoir, Hong Kong. *Malacologia* 16: 165 – 182.
- Oigman-Pszczol S.; Creed, J. Fleury, B. Checoli Mantelatto, M. Capel, K. C. Meireles, C. Cabral, D. Masi, B. Junqueira, A. 2017. O controle da invasão do coral-sol no Brasil não é uma causa perdida. *Cienc. Cult.* vol.69 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2017.
- Paz-García, D. A; Reyes-Bonilla, H. Gonzalez-Peralta, A. Sanchez-Alcantara, I. 2007. Larval release from *Tubastraea coccinea* in the Gulf of California, Mexico. *Coral Reefs* 26: 433.
- Pimentel, D; & Lach, L. & Zuniga, R. & Morrison, D. 2000. Environmental and Economic Costs of Nonindigenous Species in the United States. *Bioscience*. 50: 53 – 65.
- Pimentel, D. 2002. *Biological Invasions: Economic and Environmental Costs of Alien Plant, Animal, and Microbe Species*. **Boca Raton, FL: CRC Press, 463 pp.**

- Precht, W. F; Hickerson, E. L. Schmahl, G. P. Aronson, R. B. 2014. The invasive coral *Tubastraea coccinea* (Lesson, 1829): Implication for natural habitats in the Gulf of Mexico and The Florida Keys. *Gulf of Mexico Science* 4: 55 – 59.
- Primack, R. B. 2004. *A primer of conservation biology*. **Sinauer, Sunderland, Massachusetts, fifth edition 365 pp.**
- Redfield, A. C.; Hutchins, L. W. 1952. The effects of fouling. In: _____. Marine fouling and its prevention. Annapolis, Maryland: *U.S. Naval Institute Press*. p. 3 – 19.
- Reusch, T. B. H; Bolte, S. S. Sparwel, M. Moss, A. G. & Javidpour, J. 2010. Microsatellites reveal origin and genetic diversity of Eurasian invasions by one of the world's most notorious marine invader, *Mnemiopsis leidyi* (Ctenophora). *Molecular Ecology* 19: 2690 – 2699.
- Ricciardi, A. 2016. Tracking marine alien species by ship movements. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 7: 201605152.
- Rilov, G. & Crooks J. A. 2009. *Biological Invasions in Marine Ecosystems: Ecological, Management, and Geographic Perspectives*. **Springer, Berlin, Heidelberg, Volume 204, 642 pp.**
- Roberts, C. 2007. *The unnatural history of the sea*. **Island Press, Washington, 456 pp.**
- Rocha, R. M. Vieira, L. M. Migotto, A. E. Amaral, A. C. Z. Ventura, C. R. R. Serejo, C. S. Marques, A. C. 2013. The need of more rigorous assessments of marine species introductions: A counter example from the Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1-2): 241 – 243.

- Roman, J. 2006. Diluting the founder effect: cryptic invasions expand a marine invader's range. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273: 2453 – 2459.
- Roman, J; & Darling, J. A. 2007. Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(9): 454 – 464.
- Rosenzweig, M. L. 2001. The four questions: what does the introduction of exotic species do to diversity? *Evolutionary Ecology Research* 3: 361 – 367.
- Ruiz, G. M.; Carlton, J. T.; Grosholz, E. D. & Hines, A. H. 1997. Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences. *American Zoologist* 37: 621 – 632.
- Ruiz, G. M.; Freestone, A. L., Fofonoff, P. W., & Simkanin, C. 2009. Habitat Distribution and Heterogeneity in Marine Invasion Dynamics: the Importance of Hard Substrate and Artificial Structure. In Wahl M. (Ed.), *Marine Hard Bottom Communities: Patterns, Dynamics, Diversity, and Change* (pp. 321–332). Berlin, Heidelberg: Springer.
- Sakai, A. K. *et al.*, 2001. The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32: 305 – 332.
- Sammarco, P. 1982. Polyp BailOut: An Escape Response to Environmental Stress and a New Means of Reproduction in Corals. *Marine Ecology-progress Series* - 10: 57 – 65.
- Sammarco, P. W. Porter, S. A. Cairns, S. D. 2010. A new coral species introduced into the Atlantic Ocean e *Tubastraea micranthus* (Ehrenberg 1834) (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia): an invasive threat? *Aqu. Invasions* 5: 131 – 140.

- Sammarco, P; W. Brazeau, D. A. McKoin, M. & Strychar, K. B. 2017. *Tubastraea micranthus*, comments on the population genetics of a new invasive coral in the western Atlantic and a possible secondary invasion. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 490: 56 – 63.
- Sampaio, C. L. S, Miranda, R. J, Maia-Nogueira, R. Nunes, J. C. C. 2012. New occurrences of the nonindigenous orange cup corals *Tubastraea coccinea* and *T. tagusensis* (Scleractinia: Dendrophylliidae) in Southwestern Atlantic. *Check List* 8: 528 – 530.
- Santos, L. A. H. do; Ribeiro, F. V., & Creed, J. C. 2013. Antagonism between invasive pest corals *Tubastraea* spp. and the native reef-builder *Mussismilia hispida* in the southwest Atlantic. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 449: 69 – 76.
- Schlötterer, C. 1998. *Microsatellites*. Pp. 237–262 in Hoelzel, A. R., ed. **Molecular Genetic Analysis of Populations**. Oxford University Press, New York, 468 pp.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics Springer Nature* [s.l.], 5: 63 – 69.
- Schmidt-Roach, S; Miller, K. J., Woolsey, E., Gerlach, G., & Baird, A. H. 2012. Broadcast Spawning by *Pocillopora* Species on the Great Barrier Reef. *PLoS ONE*, 7(12): e50847.
- Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 223 – 234.
- Shiganova, T. A. *et al.*, 2001. Population development of the invader ctenophore *Mnemiopsis leidyi*, in the Black Sea and in other seas of the Mediterranean basin. *Marine Biology*, 139(3): 431– 445.

- Silva, A. G; de Paula, A. F. Fleury, B. G., & Creed, J. C. 2014. Eleven years of range expansion of two invasive corals (*Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*) through the southwest Atlantic (Brazil). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 141: 9 – 16.
- Silva, R; Vinagre, C. Kitahara, M. V. *et al.*, 2019. Sun coral invasion of shallow rocky reefs: effects on mobile invertebrate assemblages in Southeastern Brazil. *Biol Invasions* 21: 1339 – 1350.
- Simberloff, D. & Remjmanek. M. 2011. *Encyclopedia of biological invasions*. **University of California Press Berkeley and Los Angeles, California, 792 pp.**
- Stoddart, J. A. 1983. Asexual production of planulae in the coral *Pocillopora damicornis*. *Mar Biol* 76: 279 – 284.
- Souza, R. S. C. L, Silva J. V. 2004. *Água de Lastro e Bioinvasão*. **Interciência, Rio de Janeiro, Brazil, 224 pp.**
- Takabayashi, Misaki & Carter, Dee & Lopez, Jose & Hoegh-Guldberg, O. 2003. Genetic variation of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*, from western Pacific reefs. *Coral Reefs*. 22.
- Takezaki, N. 2010. Evolution of microsatellites. *In* Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Chichester.
- Teles, H. M. S; & Fontes L. R. 2002. Implicações da introdução e dispersão de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 no Brasil. *Boletim do Instituto Adolfo Lutz* 12: 3 – 5.

Thompson & Thompson. 2016. pp 43 - 54. *In: Genética Médica*. 8. ed. **Rio de Janeiro: Elsevier, 546 pp.**

Van Oppen, M. J. H; Peplow, L. M., 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(23): 4899 – 4914.

Vaughan, T. W; Wells, J. W. 1943. Revision of the suborders, families and genera of the Scleractinia. *Geological Society of America Special Papers* 44: 1 – 363.

Walker, B. & Steffen, W. 1997. *An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems*. *Conservation Ecology* [online]1(2): 2. Available at <http://www.consecol.org/vol1/iss2/art2/> (acesso em 02/07/2020).

Walther, G. R; *et al.*, 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416: 389 – 395.

Walther, G. R; Berger, S. Sykes, M. T. 2005. An ecological ‘footprint’ of climate change. *Proc R Soc B Biol Sci* 272: 1427 – 1432.

Williams, G. C. 1975. *Sex and evolution*. **Princeton University Press, Princeton, 210 pp.**

Williams, S. L; Davidson, I. A. N. C. Pasari, J. A. E. R. Ashton, G. V. Carlton, J. T. Crafton, R. E. Zabin, C. J. 2013. Managing Multiple Vectors for Marine Invasions in an Increasingly Connected World. *BioScience*, 63(12): 952 – 966.

Wonham, M. J; Carlton, J. T. 2005. Trends in marine biological invasions at local and regional scales: the Northeast Pacific Ocean as a model system. *Biological invasions*, 7: 369 – 392.