



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

JULIANA DE CARVALHO GAETA

**CONECTIVIDADE GENÉTICA DE *Panulirus echinatus* Smith, 1869 (DECAPODA:
PALINURIDAE) NAS ILHAS OCEÂNICAS DO ATLÂNTICO**

FORTALEZA

2018

JULIANA DE CARVALHO GAETA

**CONECTIVIDADE GENÉTICA DE *Panulirus echinatus* Smith, 1869 (DECAPODA:
PALINURIDAE) NAS ILHAS OCEÂNICAS DO ATLÂNTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do título de Doutora em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Oceanografia Biológica
Subárea: Ecologia de Recursos Pesqueiros

Orientador: Prof. Dr. Raúl Cruz Izquierdo
Coorientadora: Dra. Annie Machordom
Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G123c Gaeta, Juliana de Carvalho.
CONECTIVIDADE GENÉTICA DE *Panulirus echinatus* Smith, 1869 (DECAPODA: PALINURIDAE)
NAS ILHAS OCEÂNICAS DO ATLÂNTICO / Juliana de Carvalho Gaeta. – 2018.
104 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Raúl Cruz Izquierdo.

Coorientação: Profa. Dra. Annie Machordom.

1. fluxo de genes. 2. diferenciação genética. 3. barreira Equatorial. 4. espécie em extinção. 5. conservação.
I. Título.

CDD 551.46

JULIANA DE CARVALHO GAETA

**CONECTIVIDADE GENÉTICA DE *Panulirus echinatus* Smith, 1869 (DECAPODA:
PALINURIDAE) NAS ILHAS OCEÂNICAS DO ATLÂNTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do título de Doutora em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Oceanografia biológica. Subárea: Ecologia de Recursos Pesqueiros.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raúl Cruz Izquierdo (Presidente)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dra. Oscarina Viana de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Israel Hidenburgo Aniceto Cintra
Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

Dr. Manuel Antonio de Andrade Furtado Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dedico esta tese à minha
amada família e esposa

AGRADECIMENTOS

Aos meu orientador e coorientadores pela competência, responsabilidade e comprometimento na orientação desse trabalho;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Raúl Cruz Izquierdo, pela amizade e oportunidade de poder aprender com o cientista de excelência e a pessoa de caráter admirável que é. Ao longo desses 6 anos de convivência aprendi muito e espero poder ter lhe ensinado algo. Obrigada por sempre estar disposto a me receber e ajudar da forma mais simples e autêntica possível. As lagostas agradecem a sua determinação e foco nas pesquisas ecológicas realizadas ao longo de sua carreira;

Ao Prof. Dr. Rodrigo Maggioni por ter aberto as portas do seu laboratório para realização desta tese, pela amizade construída e pelos inumeráveis ensinamentos ao longo deste período que me possibilitou novos caminhos profissionais na área da biologia molecular. Saiba que apesar de todos os tropeços e percalços enfrentados na execução dos experimentos eu me apaixonei pela área.

À Dra. Annie Machordom por todo amparo à realização da pesquisa na Espanha e pelos ensinamentos passados sobre genética de populações e análises estatísticas moleculares. Sou outra pesquisadora após o convívio com vocês do Museo Nacional de Ciencias Naturales.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo período de concessão da bolsa de estudos ao longo do Doutorado e Doutorado Sanduíche.

Ao Governo de Ilhas Canárias, especialmente ao Rogelio Herrera Pérez, pelo comprometimento com a espécie *Panulirus echinatus*, pelo financiamento das análises moleculares e pela confiança depositada no meu trabalho como pesquisadora. Espero que as lagostinhas se recuperem neste arquipélago maravilhoso.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Marinhas Tropicais que através dos professores, funcionários e alunos tornou possível a realização desta tese.

Ao ICMBio, Reserva Biológica do Atol das Rocas e Parque Nacional de Fernando de Noronha, pelo apoio logístico e técnico durante as coletas de dados. Um agradecimento especial a chefe da Rebio Atol das Rocas, Maurizélia de Brito Silva, e sua equipe (Jarian Dantas, Frederico Osório, Eduardo Cavalcante Macedo, Zeca, Ceará e outros mais) por todos os ensinamentos e esforços durante as expedições.

Aos colegas Rui Freitas, Rogelio Herrera e Leopoldo Abad Moro pelas amostras coletadas nas ilhas de Cabo Verde e Ilhas Canárias e pelas discussões construtivas sobre os

padrões de circulação oceânica, mudanças de salinidade ou aumento da turbidez e sedimentação nas águas oceânicas de suas localidades.

Aos pesquisadores Msc. Edson Faria Júnior (Chuck), Msc. Kyllderes Lima (Kyll), Msc. Bianca del Bianco Sahm (Bia) e Msc. Renan Vandr  Saes (Daku) que auxiliaram nas coletas de campo no Brasil. Sem vocês a obten o das amostras necessárias para esta tese não seria possível. É muito acolhedor saber que meus melhores amigos, são também excelentes profissionais com os quais posso contar. O mundo precisa de mais pessoas como vocês. Amo todos!

À equipe do Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM), Graça Coelho, Rubens Feijó, Jammile Forte, Fagner Nogueira, Roberto Carvalho, Mayara Barreto e outros colegas, por me acolher tão bem e me ensinar pacientemente as diferentes “receitas mágicas” da biologia molecular. Aprendi com vocês que quando achamos que não aguentamos mais sempre tem de onde tirar forças pra mais uma PCR/Sequenciamento.

  equipe do Laboratório de Sistemática Molecular y Genética de Poblaciones do Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid em especial a Dra. Annie Machordom, ao Iván Acevedo García e Violeta López-Márquez que me ajudaram muito na obten o e análise dos dados. A experiência em Madrid foi muito enriquecedora tanto pessoal quanto profissionalmente.

Ao professor Dr. Carlos Eduardo Peres Teixeira e sua aluna Suzana Sales Ribeiro por me auxiliarem na compreensão da oceanografia física de um modo geral.

Aos amigos (infância, colégio, universidade e vida) que sempre levo comigo no cora o e que fazem de mim uma pessoa melhor.

  minha família por sempre me apoiar em minhas escolhas pessoais/profissionais, vocês são tudo pra mim e os maiores responsáveis por eu ser quem eu sou. Amo vocês e sem vocês nada disso seria possível. Vocês são e sempre serão meu porto seguro e minha fortaleza.

  minha esposa, Gabriela Carneiro Lopes, pelo carinho, companheirismo, amor, paciência (principalmente nesse momento da escrita da tese) e por me ajudar sempre a evoluir e me tornar uma pessoa melhor. Espero que possamos construir um lindo futuro pela frente. Te amo muito!

RESUMO

Este é o primeiro estudo de genética de populações de *Panulirus echinatus* Smith, 1869. Nossa pesquisa, desenvolveu e caracterizou 18 marcadores de microssatélites polimórficos espécie-específicos, úteis para posterior análise dos genótipos de 152 indivíduos. Os resultados das análises AMOVA, Structure, PCoA indicam uma estrutura genética altamente significativa entre as populações Norte e Sul do Atlântico (global $F_{ST} = 0.06$; global F_{ST} recoded = 0.46; $p = 0.00$). O algoritmo Barrier também indicou uma forte separação entre as populações com bootstrap de 83 de Norte para Sul e bootstrap de 71 de Sul para Norte. Propomos que o sistema de circulação Equatorial represente uma barreira biofísica que efetivamente limita o fluxo gênico entre os sistemas de Giros Subtropicais do Norte e do Sul do Atlântico, bem como foi descrito para outras espécies. Outras barreiras físicas e ecológicas, como a Cordilheira Meso-Atlântica *per se* e a distância entre os lados leste e oeste do Atlântico, as diferenças das massas de água, a saída dos rios e outros aspectos, também influenciam a dispersão larval e modulam a distribuição dessa espécie. As populações de Cabo Verde e Canárias mostraram os menores parâmetros de variabilidade em comparação com as populações do sul analisadas. Nossos resultados têm implicações para o manejo da pesca no Oceano Atlântico porque revelam dois grupos genéticos distintos de *P. echinatus* que precisam ser administrados separadamente. Em Canárias, esta espécie encontra-se sobrepescada e adversidades ambientais como as erupções vulcânicas contribuem para a redução da abundância da população. Além disso, *P. echinatus* parece não estar bem adaptada a este ambiente de upwelling subtropical. Portanto, pesquisas adicionais sobre variações sazonais nas correntes locais, ecologia larval e tolerâncias fisiológicas espécie-específicas esclarecerão aspectos importantes do transporte de larvas e das taxas de recrutamento e assentamento larval. Esses aspectos ajudarão na aquisição de uma visão mais completa sobre a conectividade das populações de *P. echinatus* e, dessa forma, permitirão melhor avaliação do status, gerenciamento e conservação desses estoques.

Palavras-chave: fluxo de genes, diferenciação genética, barreira Equatorial, espécie em extinção, conservação

ABSTRACT

This is the first *Panulirus echinatus* Smith, 1869 population genetic study. Our survey has developed and characterized 18 species-specific polymorphic microsatellites markers, useful for subsequent genotypes analysis of 152 individuals. The results of AMOVA, Structure, PCoA indicate a highly significant genetic structure between the North and South Atlantic populations (global $F_{ST} = 0.06$; global F_{ST} recoded = 0.46; $p = 0.00$). The Barrier algorithm also indicated a strong separation between North to South with a 83 bootstrap and South to North with 71 bootstrap. We propose that the Equatorial Circulation system represents a biophysical barrier that effectively limits gene flow among Atlantic subtropical gyre systems as well as it was described to other species. Other physical and ecological barriers, as Mid-Atlantic Ridge *per se* and the distance between the eastern and western Atlantic sides, water masses differences, rivers outflow and other aspects, also influence the larval dispersal and modulate this species distribution. The populations of Cape Verde and the Canaries showed the lowest variability parameters compared to the southern populations analyzed. Our results have implications for fisheries management in the Atlantic Ocean because they reveal two distinct genetic groups of *P. echinatus*, which require to be managed separately. Canary population is overfished and environmental adversities as the volcanic eruptions contribute to the reduction in this population abundance. In addition, *P. echinatus* does not appear to be well adapted to this subtropical upwelling environment. Therefore, further researches on seasonal variations in local currents, larval ecology and species-specific physiological tolerances will clarify important aspects of larval transport, puerulus settlement and recruitment rates. These aspects will aid in the acquisition of a more complete view on the connectivity of *P. echinatus* populations and, in this way, will allow a better *status* evaluation, management and conservation of stocks.

Key-words: gene flow, genetic partition, Equatorial barrier, Endangered, conservation

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figure 1. Schematic map showing the main surface currents and *Panulirus echinatus* Smith, 1869 distribution in the Atlantic Ocean (29°N to 22°S; 45°S to 5°S) represented in shaded green. Numbers indicate the sampled areas: 1. CAN - Canary Islands; 2. CV - Cape Verde Archipelago; 3. FN - Fernando de Noronha Archipelago; 4. RA - Rocas Atoll; 5. TRI - Trindade and Martim Vaz Archipelago; SPSPA - Saint Peter and Saint Paul Archipelago; ASC - Ascension Island; SH - Saint Helena Island; Northeastern Brazil coast from Maranhão (MA) to Rio de Janeiro (22° 54' S, 43° 12' W) (Manning *et al.* 1990; Holthuis, 1991; Coelho & Ramos-Porto, 1998; Melo, 1999; Coelho *et al.*, 2007; Faria Junior *et al.*, 2013; Gaeta *et al.*, 2015). Dark blue indicates cold currents and red the warm currents); AzoC - Azores Current; AngC - Angola Current; BeC - Benguela Current; BrC - Brazil Current; CanC - Canary Current; CarC - Caribbean Current; CVFZ - Cape Verde Frontal Zone (represented by the dashed line); ECC - Equatorial Countercurrent; ECs - Equatorial Circulation system; GS - Gulf Stream; GuyC - Guyana Current; LC - Labrador Current; MC - Mauritanian Current; NAC - North Atlantic Current; NACW - North Atlantic Central Water; NEC - North Equatorial Current; NECC - North Equatorial Countercurrent; PC - Portuguese Current; SAC - South Atlantic Current; SACW - South Atlantic Central Water; SEC - South Equatorial Current, SECC - South Equatorial Countercurrent. Rivers outflow in shaded pink. Atlantic circulation pattern based on Stramma (2001) and Arístegui *et al.* (2009)..... 80

Figure 2. Geographic location of the major tropical marine biogeographical barriers. AB - Amazon Barrier; EB - Equatorial Barrier; MAB - Mid Atlantic Barrier; CVFZ - Cape Verde Frontal Zone, that separates the North Atlantic Central Water (NACW) and South Atlantic Central Water (SACW). *Panulirus echinatus* Smith, 1869 distribution in the Atlantic Ocean (29°N to 22°S; 45°S to 5°S) represented in shaded green..... 82

Figure 3. Microsatellite allelic patterns across Central Atlantic. He – expected heterozygosity, No – number. CAN - Canary Islands; CV - Cape Verde Archipelago; FN - Fernando de Noronha Archipelago; RA - Rocas Atoll; TRI - Trindade and Martim Vaz Archipelago..... 83

Figure 4. *Panulirus echinatus* Smith, 1869 bayesian cluster analysis of individuals into genetically similar groupings, indicated by colors. STRUCTURE analysis of microsatellite variation, with optimum k = 2. CAN - Canary Islands; CV - Cape Verde Archipelago; FN - Fernando de Noronha Archipelago; RA - Rocas Atoll; TRI - Trindade and Martim Vaz Archipelago..... 84

Figure 5. Principal Coordinates Analysis (PCoA). F_{ST} values among *Panulirus echinatus* Smith, 1869 populations showed a 100% (95.96% first axes and 4.04% second axes) of variation explained by the two first axes..... 85

Figure 6. Correlation between genetic distance and geographic distance for *Panulirus echinatus* Smith, 1869..... 86

Figure 7. Atlantic mean Sea Surface Temperature (SST). Modis Aqua data between 01/2003 and 12/2017, with 4 x 4 km resolution..... 87

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table I. Description of the 17 microsatellite loci isolated from <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869 based on a sample of 30 individuals from the Canary Islands	40
---	----

Capítulo 2

Table 1. Location of <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869 samples	88
---	----

Table 2. Estimators of genetic diversity in 152 samples of <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869 at 18 microsatellite loci. H_o , observed heterozygosity; H_e , expected heterozygosity; F_{IS} , inbreeding coefficient.....	88
---	----

Table 3. Number and frequency of private alleles.....	88
---	----

Table 4. F_{ST} values below diagonal and standardized F_{ST} above diagonal. In bold, significant values ($p < 0.01$) for F_{ST} without standardization.....	89
--	----

Table 5. AMOVA analyses for five populations of <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869 divided in two groups (Northern and Southern sides of Atlantic Ocean). Results showing degrees of freedom (d.f); Sum of Squares (SS); variance components (Var) and percentage of variation (%Var).....	89
--	----

Table 6. Assignment test of <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869 in the five Central Atlantic Island populations based on 18 microsatellite loci. For each site (acronyms as in Table 1), individuals are presented in rows according to their sampling site and classified into individuals that get assigned to their own population (Self) and other sites that they get assigned to. Total column lists the total number and percentage of individuals that were not assigned to the population from which they were sampled. The last column represents the number of individuals that were not assigned to neither sampled populations	90
--	----

Supplementary Files

Table S1. Genetic markers used to species molecular identification of <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869.....	91
Table S2. Genetic indices for 18 microsatellites characterized in <i>Panulirus echinatus</i> at five sample sites.....	92

SUMÁRIO

1. Apresentação da Tese.....	15
2. Introdução geral.....	16
3. Objetivos.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. Hipóteses.....	24
5. Capítulo 1 - Characterization of 17 novel microsatellite loci for the brown spiny lobster <i>Panulirus echinatus</i> Smith, 1869, using MiSeq.....	25
Abstract.....	26
Resumen.....	27
Introduction.....	27
Materials and Methods.....	29
Results.....	32
Discussion.....	33
Data Accessibility.....	34
Acknowledgments.....	34
References.....	35
6. Capítulo 2 - Genetic differentiation among North and South Atlantic islands in the endangered brown spiny lobster <i>Panulirus echinatus</i>	42
Abstract.....	44
Introduction.....	46
Material and Methods.....	53
Study Area and Sample Collection.....	53
DNA extraction, PCR and Genotyping.....	54
Genetic diversity.....	54
Genetic Structure.....	55
Results.....	57
Genetic diversity.....	57
Genetic Structure.....	58
Discussion.....	59
Implications for management.....	64
Conclusions.....	65
Data Accessibility.....	66

Acknowledgements.....	67
References.....	68
7. Conclusões Gerais.....	93

REFERÊNCIAS

APÊNDICE