



Estruturação genética de *Eunicella singularis* ao longo do gradiente batimétrico

Sara Inês Bogas Chapeira

Orientadores

Federica Constantini

José Carlos Dias Duarte Gonçalves

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior de Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciado em Biologia Aplicada, realizado sob a orientação científica dos Professores Coordenadores Doutor José Carlos Dias Gonçalves, docente do Instituto Politécnico de Castelo Branco e Doutora Federica Constantini, docente na Universidade de Bolonha.

Dezembro de 2015

Dedicatória

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida.

Pelo que me ensinaram e transmitiram, pelo apoio incondicional e incessante.

Pelo que sou.

Aos meus pais e as minhas irmãs.

Às minhas avós

À minha família.

Aos meus amigos.



Agradecimentos

O espaço limitado desta parte de agradecimentos, certamente, não me possibilita agradecer, como devia, a todas as pessoas que, ao longo da minha licenciatura em Biologia Aplicada me ajudaram, direta ou indiretamente, a cumprir os meus objetivos e a realizar esta etapa da minha vida. Deixo assim, apenas algumas palavras, mas um grande e profundo sentimento de reconhecido agradecimento. Ao Professor José Carlos Dias Duarte Gonçalves e à Professora Federica Constantini pela sua orientação, total apoio, disponibilidade, pelo saber que transmitiu, pelas opiniões e críticas, total colaboração no solucionar de dúvidas e problemas que foram surgindo, pela enorme paciência e incentivo que foi importante para mim.

Ao meu namorado, Tiago Campos por estar presente na minha vida, pela sua ajuda, amizade e enorme paciência.

As minhas amigas de longa data, Marta Santos e Ana Batista por todo o apoio e ajuda durante todos estes anos em especial na realização deste trabalho.

A todos os meus amigos do Sabugal pelo incentivo e companheirismo, Barbara Alves, Bruno Barata, Teresa Margarida, Liliana Chapeira, Raquel Gonçalves, Igor Martins, Rui Batista, Nelson Aguiar, Ana Marques, Celso Fernandes.

À minha afilhada Joana Lages por querer estar presente na vida académica, pela sua importante ajuda na finalização desta etapa e pela sua amizade.

As pessoas que chegaram à minha vida já nesta fase final, Inês Semedo, Soraia Gonçalves, Sara Marques, Catarina Gonçalves, Pedro Silva, João Campos, Manuel Correia. Por fim, a todos aqueles que estiveram presentes e o nome não está presente. Obrigada de coração.



Resumo

A plasticidade fenotípica refere-se à capacidade de um organismo expressar diferentes morfologias dependendo do ambiente abiótico e biótico. A profundidade integra muitas variáveis (por exemplo, temperatura, luz e hidrodinâmica), podendo afetar a estrutura da população, bem como os padrões de conectividade e de diversidade genética. *Eunicella singularis* tem uma ampla distribuição batimétrica variando de fundos rochosos superficiais a recifes profundos. A espécie apresenta dois morfotipos relacionados com a profundidade em que a taxonomia ainda não está definida. O objetivo do estudo é analisar a variabilidade genética ao longo de uma estrutura de gradiente vertical para testar a presença dos dois tipos morfológicos. Foi efetuada a priori uma análise da relação filogenética entre as espécies do género *Eunicella*. Foram utilizadas seis populações de *singularis Eunicella* de 10 a 60 m de profundidade em Cap de Creus e foram recolhidos indivíduos pertencentes a *Eunicella cavolinii*, *E. verrucosa*, *E. racemosa* e *E. stricta aphyta*. As análises genéticas foram realizadas com quatro loci microssatélites. Os resultados mostraram uma redução da variabilidade genética ao longo do gradiente vertical, sendo observado um limite de conectividade entre as profundidades de 30 - 40 m, confirmando a presença de dois morfotipos *Eunicella singularis* diferentes. As duas formas morfológicas podem ser devido à plasticidade fenotípica, o que permitiu que as populações se ambientassem a diferentes condições ambientais, ou a uma pausa no fluxo de genes que determinou o isolamento das duas populações. Os marcadores moleculares utilizados não foram capazes de esclarecer a relação filogenética entre as espécies *Eunicella* e a posição sistemática dos dois morfotipos.

Palavras chave: *Eunicella singularis*, gradiente batimétrico, microssatélites, morfotipos.



Abstract

The phenotypic plasticity refers to the ability of an organism expressing different morphologies depending on abiotic and biotic environment. The depth integrates many variables (eg, temperature, light and hydrodynamic), which may affect the population structure, as well as standards of connectivity and genetic diversity. *Eunicella singularis* has a wide bathymetric distribution ranging from superficial to deep rocky reefs. The species have two morphotypes related to the depth at which the taxonomy is not yet defined. The objective of the study is to analyze the genetic variability along a vertical gradient structure to test the presence of both morphological types. It was made a priori analysis of the phylogenetic relationship between species of the genus *Eunicella*. Six populations of *Eunicella singularis* were selected 10-60 m deep in Cap de Creus and were collected individuals from *Eunicella cavolinii*, *E. verrucosa*, *E. racemosa* and *E. stricta aphyta*. Genetic analyzes were performed using four microsatellite *loci*. The results showed a reduction of genetic variation along the vertical gradient, and noted a limited connectivity between the depths of 30 - 40 m, confirming the presence of two different morphotypes of *Eunicella singularis*. The two morphological forms may be due to the phenotypic plasticity enabling populations to get used to different environmental conditions, or a break in the flow of genes that determined the isolation of the two populations. The molecular markers used were not able to clarify the phylogenetic relationship between species and *Eunicella* the systematic position of the two morphotypes.

Keywords: *Eunicella singularis*; depth gradient, microsatellites, morphotypes.

Índice geral

1. Introdução	1
1.1. Plasticidade fenotípica, locais de adaptação e especiação	1
1.2. Ferramentas moleculares	2
1.3 . As espécies alvo	2
1.3.1. <i>Eunicella cavolinii</i>	2
1.3.2. <i>Eunicella verrucosa</i>	4
1.3.4. <i>Eunicella racemosa</i>	5
1.3.5. <i>Eunicella singularis</i>	5
1.3.6. <i>Eunicella stricta aphyta</i>	7
1.4. Morfotipos superficiais e profundos	7
1.5. Estudos genéticos anteriores	9
1.6. Objetivos	9
2. Materiais e métodos	10
2.1. Descrição do sítio	10
2.2. Extração de DNA.....	11
2.3. Microssatélite <i>loci</i>	11
2.3.1. Genotipagem	11
2.3.2. Variabilidade genética de microssatélites e estruturação	13
3. Resultados	14
3.1. Gradiente de profundidade de acordo com microssatélites <i>loci</i>	14
3.2. Conjunto de dados	14
4. Discussão	17
5. Conclusão	19
6. Referências bibliográficas	20



Índice de figuras

Figura 1 -	3
Figura 2 -	3
Figura 3 -	4
Figura 4 -	4
Figura 5 -	6
Figura 6 -	6
Figura 7 -	8
Figura 8 -	8
Figura 9 -	10
Figura 10 -	12
Figura 11 -	16



Índice de tabelas

Tabela 1	12
Tabela 2.....	12
Tabela 3.....	14
Tabela 4.....	15

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

MLG: Genótipo multilocus

HW: Hardy-Weinberg

Hs: Heterozigocidade esperada

Ho: Heterozigocidade observada

FIS: Índice de fixação estimativa

FST: Medida de diferenciação populacional devido à estrutura genética

PCR: Polimerase Chain Reaction