



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
REFÚGIO DA VIDA SILVESTRE DO ARQUIPÉLAGO DE ALCATRAZES

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto Chico Mendes de
Conservação da Biodiversidade- PIBIC/ICMBio

Relatório Final
(2018-2019)

**DESEMARANHANDO O GÊNERO *Astrangia* (SCLERACTINIA,
RHIZANGIIDAE) NO ARQUIPÉLAGO DE ALCATRAZES**

Cassiano Riyu Kohori

Orientadora: Dra. Silvia Neri Godoy

**Santos
2019**

Lista de Figuras

- FIGURA 1.** Diferentes morfótipos de *Astrangia* do Arquipélago de Alcatrazes..... 9
- FIGURA 2.** Esqueletos das amostras identificadas como *Astrangia solitaria* em três ângulos diferentes: calicular, oblíquo e lateral, respectivamente. 19
- FIGURA 3.** Visão calicular, oblíqua e lateral, respectivamente, dos esqueletos de amostras identificadas como *Astrangia rathbuni*. 22
- FIGURA 4.** *Astrangia rathbuni* (continuação)..... 23
- FIGURA 5.** Esqueletos das amostras identificadas como *Astrangia* sp..... 25
- FIGURA 6.** Cladograma resultante da análise sobre o marcador molecular 16S rDNA feito através do alinhamento das amostras de *Astrangia* com as sequências disponíveis no GenBank. Os números acima dos nós são referentes aos valores de confiabilidade dos mesmos provenientes das análises com os algoritmos SH-Like e aBayes, variando de 0 a 1, e abaixo dos nós o valor referente ao bootstrap (1000x), variando de 0 a 1000. As cores são referentes a identificação das espécies de acordo com a descrição macro-morfológica, sendo vermelho=*A. rathbuni*, azul=*A. solitaria* e verde=*A. sp.* 28
- FIGURA 7.** Cladograma resultante da análise sobre o marcador molecular 28S rDNA feito através do alinhamento das amostras de *Astrangia* com as sequências disponíveis no GenBank. Os números acima dos nós são referentes aos valores de confiabilidade dos mesmos provenientes das análises com os algoritmos SH-Like e aBayes, variando de 0 a 1, e abaixo dos nós o valor referente ao bootstrap (1000x), variando de 0 a 1000. As cores são referentes a identificação das espécies de acordo com a descrição macro-morfológica, sendo vermelho=*A. rathbuni*, azul=*A. solitaria* e verde=*A. sp.* 29
- FIGURA 8.** Cladograma resultante da análise sobre a união dos marcadores moleculares 16S rDNA e 28S rDNA (barcode estendido) feito através do alinhamento das amostras de *Astrangia* com as sequências disponíveis no GenBank. Os números acima dos nós são referentes aos valores de confiabilidade dos mesmos provenientes das análises com os algoritmos SH-Like e aBayes, variando de 0 a 1, e abaixo dos nós o valor referente ao bootstrap (1000x), variando de 0 a 1000. As cores são referentes a identificação das espécies de acordo com a descrição macro-morfológica, sendo vermelho=*A. rathbuni*, azul=*A. solitaria* e verde=*A. sp.*..... 30
- FIGURA 9.** Fotos in situ e dos esqueletos sem tecido dos morfótipos diferenciados no presente estudo. O número no canto superior direito indica o número da amostra, sendo: 3=*Astrangia rathbuni*. 20= *Astrangia solitaria* e 15=*Astrangia sp.* 33

Lista de Tabelas

TABELA 1. Número das amostras junto aos seus respectivos locais e datas de coleta. Algumas amostras não possuíam datas de coletas e foram marcadas com “?”.	12
TABELA 2. Reagentes e volumes utilizados na PCR através do kit TopTaq MasterMix.....	14
TABELA 3. Reagentes e volumes utilizados na amplificação com o kit Platinum™ Taq DNA Polymerase.	14
TABELA 4. Primers utilizados para reação de polimerase em cadeia (PCR).	14
TABELA 5. Sequências de corais escleractíneos obtidas do GenBank utilizadas no alinhamento para a construção das filogenias	16
TABELA 6. Resultados das comparações das sequências do 28S rDNA das amostras com o banco de dados do GenBank. O * indica amostras que tiveram problemas nas etapas de extração ou amplificação de DNA.....	27

Sumário

Resumo	4
Abstract	5
Introdução	6
Objetivos	10
Objetivo geral	10
Objetivos específicos.....	10
Materiais e métodos	11
Amostragem	11
Análise molecular	13
Análise morfológica	17
Resultados	17
Sistemática.....	17
Análise molecular	26
Discussão	31
Conclusão	34
Recomendações para o manejo	34
Agradecimentos	34
Referências	35

Resumo

Pertencentes à família Rhizangiidae (Cnidaria, Anthozoa), o gênero *Astrangia* é composto por 15 espécies recentes, das quais duas são registradas no Brasil. De forma geral a taxonomia dos representantes do gênero tem apresentado diversos desafios acerca da caracterização morfológica e, conseqüentemente, da nomenclatura dessas espécies. Assim, apesar de *Astrangia rathbuni* e *A. solitaria* serem relativamente conspícuas ao largo do litoral brasileiro, especialmente em substratos rochosos com orientação negativa ou vertical, observações *in situ* destes corais no litoral norte do Estado de São Paulo sugerem, por significativas mudanças de forma e coloração das colônias, que ao menos 3 morfótipos ocorrem simpatricamente ao largo do sudeste do Brasil. Assim, visando aprofundar o conhecimento acerca dos corais escleractíneos mais abundantes do litoral de São Paulo, 32 colônias de corais potencialmente pertencentes ao gênero *Astrangia* coletadas majoritariamente nos arredores do Arquipélago de Alcatrazes foram analisadas à luz de sistemática integrativa, incluindo morfologia e análises genéticas. Entretanto, apesar dos caracteres morfológicos sugerirem a ocorrência de três espécies, reconstruções evolutivas utilizando os marcadores moleculares 28S rDNA e 16S rDNA, quando analisados tanto separadamente quanto em conjunto, demonstraram que os mesmos não possuem informação suficiente para a distinção de três clados dentro do gênero.

Palavras-chave: Arquipélago de Alcatrazes; *Astrangia*; espécie-críptica.

Abstract

Belonging to the family Rhizangiidae (Cnidaria, Anthozoa), the genus *Astrangia* is composed of 15 extant species of which two are reported from Brazil. In general, the morphological characterization of its representatives is challenging and, consequently, the nomenclature still tentative. Although *Astrangia rathbuni* and *A. solitaria* are considered conspicuous throughout the Brazilian coast, especially on rocky substrates with vertical or negative orientation, sightings of these organisms *in situ* suggest that at least three species of the genus occur sympatrically in the northern shores of São Paulo state as they present several changes in their gross morphology and color. Therefore, in order to improve our understanding on some of the most abundant scleractinian corals of São Paulo coast, 32 colonies of astrangiids corals were collected mostly around the Arquipélago dos Alcatrazes and then analyzed through integrative systematics, including morphology and genetic analysis. However, despite that the morphological characters suggest the occurrence of three species, evolutionary reconstructions using partial nucleotide sequences from 16S rDNA and 28S rDNA molecular markers have not shown the support for the morphological analysis. Therefore, additional markers are required to distinguish three different Brazilian morphological clades within the genus.

Keywords: Arquipélago de Alcatrazes; *Astrangia*; cryptic species.

Introdução

O Refúgio de Vida Silvestre do Arquipélago de Alcatrazes e a Estação Ecológica Tupinambás são unidades de conservação federais de proteção integral, criadas com o objetivo de preservar a biodiversidade marinha do litoral norte do estado de São Paulo. As duas unidades totalizam uma área de mais de 70.000 hectares, sendo o Refúgio de Alcatrazes, a maior UC marinha de proteção integral das regiões Sul e Sudeste.

Essas áreas possuem extrema importância ecológica, especialmente por sua função em relação à conservação de espécies ameaçadas, endêmicas, marinhas migratórias e estoques pesqueiros, que utilizam sua área para reprodução, alimentação e descanso. Atualmente, abrigam cerca de 1300 espécies, estando 93 delas sob algum grau de ameaça. É considerada a região de fauna recifal mais conservada do Sudeste e Sul do Brasil, abrigando diversas espécies ameaçadas, como tartaruga de pente (*Eretmochelys imbricata*), tartaruga-verde (*Chelonia mydas*), garoupa (*Epinephelus marginatus*), tubarão-martelo (*Sphyrna lewini*), cação-anjo (*Squatina guggenheim*), raia-viola (*Pseudobatos horkelii*), raia-manta (*Mobula birostris*) e diversos invertebrados como o coral-cérebro (*Mussismilia hispida*) e o coral-estrela (*Madracis decactis*).

Entre os representantes do filo Cnidaria, poucas ordens possuem a capacidade de secretar carbonato de cálcio na forma de aragonita, formando um esqueleto contínuo. Dentre estes, a ordem Scleractinia, popularmente conhecida como corais verdadeiros ou corais pétreos, é composta por mais de 1500 espécies recentes (Cairns, 1999), as quais possuem elevada importância ecológica uma vez que são os principais arquitetos dos recifes de corais. Estes, por sua vez, abrigam uma imensa diversidade biológica, comparável à encontrada em florestas tropicais (Knowlton *et al.*, 2010). Do ponto de vista ecológico (ou seja, sem cunho taxonômico), os corais escleractíneos podem ser divididos em dois grandes grupos: os zooxantelados e os azooxantelados. Os corais zooxantelados vivem em simbiose com dinoflagelados atecados da família Symbiodiniaceae (LaJeunesse *et al.*, 2018), os quais ficam alojados na gastroderme dos corais e realizam fotossíntese (Wakefield & Kempf, 2001), enquanto que os corais azooxantelados não estabelecem essa relação simbiótica. De forma geral, esta relação determina o tipo de ambiente em que estes animais podem ser encontrados, visto que, devido a necessidade de luz, os corais zooxantelados habitam obrigatoriamente regiões tropicais e subtropicais rasas (Veron *et al.*, 2015) com condições ambientais específicas e incidência de luz suficiente para a realização da fotossíntese pelas zooxantelas. Entretanto, os corais azooxantelados não possuem

esta limitação e podem ser encontrados do Ártico à Antártida e do infralitoral a profundidades superiores à 6000 metros (Cairns & Stanley, 1982).

Sendo considerada como zona de transição de corais caribenhos e corais antárticos/subantárticos (Kitahara, 2007) e devido à escassez de estudos taxonômicos integrativos, a costa brasileira abriga uma biodiversidade ainda a ser descoberta (Lewinsohn & Prado 2005). Apesar dos corais zooxantelados terem sido mais estudados nas últimas décadas (p.ex. Francini-Filho *et al.*, 2008; Laborel, 1970, 1971; Soares & Rabelo, 2014; etc.) - principalmente pela notória importância destes na estruturação dos recifes de águas rasas e pela atual ameaça das mudanças climáticas sobre estes organismos (i.e. branqueamento devido à quebra da simbiose com as zooxantelas ou à presença de patógenos [Rosenberg *et al.*, 2007]) - esforços para o conhecimento dos corais azooxantelados ainda são incipientes e tendo um maior foco em corais de profundidade (Kitahara, 2006, 2009; Kitahara *et al.*, 2008, 2009).

Dentre os representantes da ordem Scleractinia, mais precisamente aqueles atualmente classificados na família Rhizangiidae, têm-se os corais do gênero *Astrangia*. Este gênero é composto atualmente por 15 espécies recentes (Cairns *et al.*, 1999) e cerca de 20 espécies conhecidas apenas no registro fóssil (Peters *et al.*, 1988), sendo que, apesar de conhecidos desde o século XVIII, tiveram as primeiras revisões morfológicas publicadas apenas ao final da década de 1980 (Peters *et al.*, 1988). De forma geral, o gênero compreende espécies relativamente pequenas e consideradas ahermatípticas uma vez que não contribuem de forma significativa na formação de recifes (Peters *et al.*, 1988). Apesar de haver exceções, a maioria dos representantes deste gênero é azooxantelada e, conseqüentemente, são encontrados nos mais variados ambientes, podendo habitar desde o infralitoral até 263 metros de profundidade (Hoeksema & Cairns, 2018). Entretanto, devido à escassez de estudos morfológicos dedicados ao gênero, especialmente à falta de conhecimento acerca da plasticidade morfológica de seus representantes e somado ao fato de que habitam locais crípticos, ou seja, poucos acessados por pesquisadores (como fendas, substratos negativos, etc.), a classificação das espécies de *Astrangia* dispõe de um histórico de inconsistências relacionadas à taxonomia e, conseqüentemente, nomenclatura.

Sinteticamente, estas inconsistências podem ser exemplificadas nos estudos sobre *Astrangia poculata* (Ellis & Solander, 1786), a qual foi descrita como *Madrepora poculata* (Ellis & Solander, 1786) e é a espécie mais estudada do gênero. Por ser uma espécie bem estudada, esperava-se que a mesma contasse com uma taxonomia bem resolvida. No entanto *A. poculata* foi, em diversos trabalhos, classificada como *A. astreiformis* e principalmente como *A. danae* (p.ex. Cairns, 1977; Cooley, 1978; Jacques *et al.*, 1983; etc.), ambas descritas por

Milne Edwards & Haime (1849). Em análise da variação morfológica destas espécies, Peters *et al.* (1988) concluíram que as três representavam apenas uma única espécie, sendo *A. astreiformis* e *A. danae* sinônimas júniores de *A. poculata*. Contudo, o fato de que grande parte dos trabalhos publicados sobre a espécie antecede à essas revisões, faz com que suas sinônimas, por mais que sejam reconhecidas como tal, predominem nos trabalhos mais referenciados (p.ex. Jacques *et al.*, 1983; Rowan & Powers, 1991; Szmant-Froelich *et al.*, 1980; etc.). Esse problema também pode ser observado em outras espécies do gênero como, por exemplo, *A. solitaria* que ainda é amplamente citada como *A. brasiliensis* (= *A. brasiliensis*) em trabalhos como Correia (2011), Miranda *et al.* (2012) e Leão *et al.* (2016).

Dentre as 15 espécies recentes do gênero, apenas duas são registradas no Brasil, sendo ambas descritas por Vaughan (1906) como *A. rathbuni* e *A. brasiliensis*, sendo esta última considerada endêmica do Brasil e registrada somente em algumas localidades da região Nordeste (Leão *et al.*, 2016). O posicionamento sistemático de *A. brasiliensis* foi questionado por Horta-Puga & Carricart-Ganivet (1993) e, no mesmo ano, Cairns *et al.* (1993) sinonimizaram *A. brasiliensis* com *A. solitaria*, espécie descrita por Le Sueur (1827) e que possui ocorrência reportada em diversas regiões costeiras do Atlântico Oeste (Cairns, 2000).

Ao longo da costa brasileira, os representantes de *Astrangia* são conspícuos e apresentam grande variação morfológica (Figura 1), o que dificulta a identificação dos mesmos. Em adição, observações *in situ* denotam que representantes deste gênero possuem diversas características semelhantes a corais do gênero *Polycyathus* (Zibrowius *et al.*, 2011), podendo resultar em identificações equivocadas e, conseqüentemente, levantando incertezas sobre a diversidade deste gênero em águas brasileiras. Ainda, através de mergulho autônomo, observou-se a existência de pelo menos três morfótipos de *Astrangia* ao largo da costa do Estado de São Paulo, mais especificamente nas ilhas localizadas no litoral norte, como aquelas pertencentes aos arquipélagos dos Alcatrazes e de Ilhabela.

Assim, visando aprofundar o conhecimento acerca dos corais escleractíneos nativos mais abundantes do litoral da região sudeste do Brasil, 32 espécimes de *Astrangia* foram analisados à luz de sistemática integrativa, incluindo morfologia e análises genéticas sobre os marcadores moleculares 28S rDNA e 16S rDNA, amplamente utilizados no barcode estendido de corais escleractíneos.

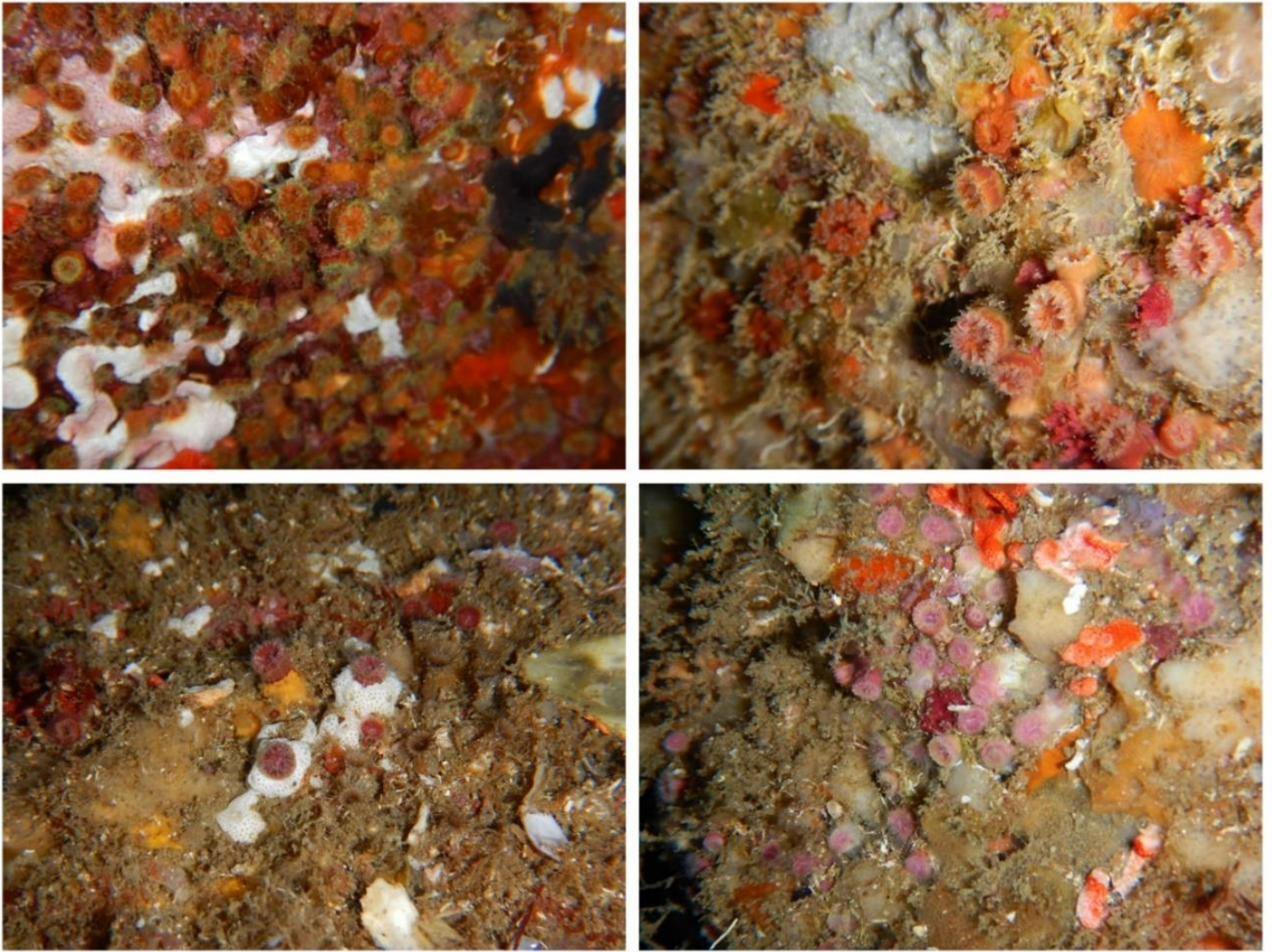


FIGURA 1. Diferentes morfótipos de *Astrangia* do Arquipélago de Alcatrazes.

Objetivos

Objetivo geral

Avaliar diversidade biológica de corais do gênero *Astrangia*, revisando as espécies que ocorrem em águas rasas do litoral de São Paulo, sobretudo nos arredores do Arquipélago de Alcatrazes, com base em análises de caracteres macro-morfológicos e reconstruções evolutivas através dos marcadores moleculares 28S rDNA e 16S rDNA.

Objetivos específicos

- ❖ Ampliar o conhecimento sobre os corais azooxantelados de águas rasas;
- ❖ Avaliar a ocorrência de espécies crípticas através do sequenciamento de genes barcode no Arquipélago de Alcatrazes;
- ❖ Avaliar a ocorrência de possível nova espécie de astrangídeo na UC, fornecendo um diagnóstico atualizado da fauna desses corais na região.

Materiais e Métodos

Amostragem

No total foram coletados 32 espécimes (Tabela 1) entre os anos de 2012 e 2018, dos quais dois na costa sul do Estado do Rio de Janeiro (22°57'58"S/42°01'40"O) e os demais nas imediações do Arquipélago de Alcatrazes (24°6'S/45°42'O) e de Ilhabela (23°46'41"S/45°21'29"O). Coletas foram realizadas através de mergulho autônomo, sendo parte dos espécimes fotografados *in situ* antes da coleta. Após a coleta, os organismos foram preservados em etanol absoluto e mantidos em 4°C no Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo (CEBIMar-USP) onde foram posteriormente analisados.

TABELA 1. Número das amostras junto aos seus respectivos locais e datas de coleta. Algumas amostras não possuíam datas de coletas e foram marcadas com “?”.

Amostras	Local	Data de coleta
1	Alcatrazes - "Wolverine"	12.03.2016
2	Alcatrazes - "Wolverine"	12.03.2016
3	Alcatrazes - "Geladeira"	?
4	Alcatrazes	11.12.2017
5	Alcatrazes	11.12.2017
6	Alcatrazes - "Funil"	08.12.2017
7	Alcatrazes	? .12.2017
8	Alcatrazes	? .12.2017
9	Alcatrazes - "Geladeira"	10.12.2017
10	Arraial do Cabo - RJ	15.12.2014
11	Alcatrazes	? .?.2015
12	Litoral de São Paulo	?
13	Alcatrazes - "Matacões"	11.12.2017
14	Alcatrazes - "Oratório"	12.03.2016
15	Alcatrazes	? .12.2018
16	Alcatrazes	?
17	Alcatrazes - "Funil"	08.12.2017
18	Litoral de São Paulo	?
19	Alcatrazes - "Funil"	08.12.2017
20	Alcatrazes - "Gruta"	? .12.2017
21	Itaçuce	? .10.2012
22	Alcatrazes	? .12.2017
23	Alcatrazes	?
24	Alcatrazes - "Wolverine"	12.03.2016
25	Alcatrazes - "Funil"	08.12.2017
26	Rio de Janeiro	02.12.2016
27	Alcatrazes	? .?.2015
28	Litoral de São Paulo	?
29	Alcatrazes	?
30	Litoral de São Paulo	?
31	Alcatrazes	?
32	Alcatrazes	?

Análise molecular

O DNA dos espécimes foi extraído utilizando o protocolo *DNeasy Tissue and Blood Kit* (QIAGEN), seguindo as instruções do fabricante e posteriormente quantificado através do *NanoDrop™ Lite* (ThermoFisher Scientific) utilizando 1µl do *buffer AE* como branco.

Após a extração do material genético, as amostras foram sujeitas à amplificação por reação de polimerase em cadeia (PCR) com volume final de 25µl. Foram utilizados o kit *TopTaq MasterMix* (QIAGEN) e o kit *Platinum™ Taq DNA Polymerase* (ThermoFisher Scientific), segundo as instruções do fabricante e conforme descritos nas Tabelas 2 e 3. Os iniciadores (Tab. 4) utilizados foram desenvolvidos por Medina *et al.* (2001) e Lin *et al.* (2011), e amplificam uma região de aproximadamente 750bp do gene nuclear 28S rDNA e cerca de 1000bp do gene mitocondrial 16S rDNA.

TABELA 2. Reagentes e volumes utilizados na PCR através do kit *TopTaq MasterMix*.

Reagentes	Volume por amostra (μ l)
H2O	9
TopTaqMM	12,5
Primer (Forward)	1,25
Primer (Reverse)	1,25
DNA	1

TABELA 3. Reagentes e volumes utilizados na amplificação com o kit *Platinum™ Taq DNA Polymerase*.

Reagentes	Volume (μ l)
H2O	19,15
Buffer Platinum	2,5
MgCl ₂	0,75
dNTP	0,5
Primer Forward	0,5
Primer Reverse	0,5
Taq Platinum	0,1
DNA	1

TABELA 4. Primers utilizados para reação de polimerase em cadeia (PCR).

Marcador	Nome	Sequência	Referência
rDNA 28S	28F.63sq	5' - AATAAGCGGAGGAAAAGAAAC	Medina <i>et al.</i> (2001)
	28S.R635sq	5' - GGTCCGTGTTTCAAGACGG	
rDNA 16S	Rs-F19	5' - CGAGATTCCGAGAGTAGTGG	Lin <i>et al.</i> (2011)
	Rs-R19	5' - TTTCGGGACACCATTCATAC	

A ciclagens utilizadas durante as reações de polimerase em cadeia foram: para o marcador rDNA 28S, desnaturação à 95°C por 5min, seguida por 30 ciclos de 30s à 94°C, 60s à 54°C e 90s à 72°C, terminando com uma extensão final de 5min à 72°C e para o rDNA 16S, desnaturação à 95°C por 3min, seguida por 30 ciclos de 30s à 94°C, 45s à 50°C e 90s à 72°C, terminando com uma extensão final de 10min à 72°C. Alterações na temperatura de anelamento foram realizadas a fim de otimizar os resultados da PCR, variando entre 48~58°C para o marcador rDNA 28S e 40~50°C para o rDNA 16S.

As amostras amplificadas foram purificadas utilizando o kit de purificação Zymo e sequenciadas utilizando o ABI 3730 DNA Analyzer do Centro de Pesquisa do Genoma Humano e Células Tronco, da Universidade de São Paulo.

As sequências obtidas foram editadas utilizando o software Geneious v11.1.5 (Kearse *et al.*, 2012) e o consenso resultante do sequenciamento das fitas *forward* e *reverse*, para cada marcador/amostra, foi comparada com o banco de dados do GenBank utilizando o algoritmo BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

Todas as sequências obtidas no presente estudo foram alinhadas com sequências de corais escleractíneos obtidas do GenBank (Tabela 5) utilizando a plataforma online Clustal W (Larkin *et al.*, 2007). O alinhamento resultante foi inspecionado e editado manualmente utilizando o software Jalview v2.10.5 (Waterhouse *et al.*, 2009). Análises de máxima verossimilhança foram realizadas na plataforma *online* PhyML (Guindon *et al.*, 2010) utilizando os algoritmos SH-like, Bootstrap (1000) e aBayes (Guindon *et al.*, 2010). Reconstruções evolutivas resultantes foram observadas através do software FigTree v1.4 (Rambaut, 2007).

TABELA 5. Sequências de corais escleractíneos obtidas do Genbank utilizadas no alinhamento do presente estudo.

Taxa	Genbank 16S	Genbank 28S	Sinonímia
<i>Colpophyllia natans</i>	DQ643833.1	EU262853.1	
<i>Desmophyllum dianthus 1</i>	KX000893.1	GQ868676.1	
<i>Desmophyllum dianthus 2</i>	KX000894.1	GQ868676.1	
<i>Desmophyllum pertusum 1</i>	KC875349.1	JQ611428.1	
<i>Desmophyllum pertusum 2</i>	KC875348.1	JQ611428.1	
<i>Echinophyllia aspera</i>	NC_040169.1	AF549241.1	
<i>Favites abdita</i>	KY094479.1	HQ203455.1	
<i>Favites pentagona</i>	KY247139.1	AH009470.2	
<i>Hydnophora exesa</i>	MH086217.1	HQ203472.1	
<i>Madrepora oculata</i>	JX236041.1	HQ439680.1	
<i>Mussa angulosa</i>	DQ643834.1	EU262869.1	
<i>Orbicella annularis 1</i>	AP008974.1	HQ203479.1	<i>Montastraea annularis</i>
<i>Orbicella annularis 2</i>	AP008973.1	HQ203479.1	<i>Montastraea annularis</i>
<i>Orbicella faveolata 1</i>	AP008977.1	EU262781.1	<i>Montastraea faveolata</i>
<i>Orbicella faveolata 2</i>	AP008978.1	AY064532.1	<i>Montastraea faveolata</i>
<i>Orbicella franksi 1</i>	AP008976.1	EU262849.1	<i>Montastraea franksi</i>
<i>Orbicella franksi 2</i>	KJ482947.1	AY026375.1	<i>Montastraea franksi</i>
<i>Orbicella franksi 3</i>	AP008975.1	EU262849.1	<i>Montastraea franksi</i>
<i>Plesiastrea versipora</i>	MH025639.1	HQ203398.1	
<i>Pocillopora damicornis 1</i>	EF526302.1	EU262867.1	
<i>Pocillopora damicornis 2</i>	EU400213.1	EU262867.1	

Análise Morfológica

As amostras tiveram seu tecido extraído através da imersão dos espécimes em hipoclorito de sódio (NaClO) por três dias. A identificação das espécies foi realizada com auxílio de lupa e baseada na análise de características macro-morfológicas do esqueleto, incluindo forma da colônia, arranjo septal, análises dos elementos columelares e medições do maior diâmetro calicular (vide Cairns, 2000; Vaughan, 1906; Cairns & Kitahara, 2012). Todas as amostras coletadas serão depositadas no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP).

Resultados

Sistemática

Família Rhizangiidae d'Orbigny, 1851

Gênero *Astrangia* Milne Edwards & Haime, 1848

Diagnose (segundo Cairns 2000:46): colônias formadas por brotamento extratentacular, resultando em um coralo incrustante que é unido por uma fina camada do cenóstéo (cerióide) ou por estolões (reptóide); margens septais axiais e distais dentadas; lobos paliformes podem estar presentes em todos menos no último ciclo septal; columela papilosa.

Espécie-tipo: *Astrangia michelinii* Milne Edwards & Haime, 1848 [=*A. poculata* (Ellis & Solander, 1786)].

Número de espécies válidas: quinze (Cairns & Hoeksema 2012b).

***Astrangia solitaria* (Lesueur, 1817)**

(Fig. 2)

Astrangia solitaria Lesueur, 1817: 179, pl. 8, figs. 10 a-b.

Localidade-tipo: Fish Hawk estação 134, Porto Rico.

Material-tipo: Holótipo e parátipo estão depositados no Museu Nacional dos Estados Unidos (Smithsonian).

Material examinado. 6, 7, 11, 16, 19, 20, 21 e 22.

Material base para descrição. 20, 22

Descrição. Colônias pequenas, reptóides à plocóides, compostas por coralitos cilíndricos que brotam a partir de cenósteo comum, ou por estolões. Neste último caso, espécimes podem aparentar serem solitários. Maior coralito examinado possui diâmetro calicular de 5,0 mm e 13,0 mm de altura. Cálice circular a ligeiramente elíptico; margem calicular suavemente serrada. Teca robusta e granular. Grânulos tecais pequenos e arredondados. Costas planas e iguais, separadas por sulcos relativamente profundos. Coralo variando de branco a marrom.

Septos arranjos hexameralmente em quatro ciclos de acordo com a fórmula: S1>S2>S3>S4. Número de septos diretamente relacionado com diâmetro calicular, sendo que um S4 completo (totalizando 48 septos) não foi observado. S1 projeta até 0,8 mm acima da margem calicular e se estende de 1/3 a 1/2 da distância até a columela. Margem interna do S1 lisa ou ligeiramente dentada. S2 menor e menos projetante que S1. Em cada sistema, S3 se funde ao S2 próximo à columela. S4 dentado e com margens internas lisas. Todos septos projetam-se verticalmente em direção a columela. Granulações esparsas e pontiagudas. Todos septos, exceto os do quarto ciclo possuem 1 ou 2 lobos verticalmente orientados, sendo o primeiro mais desenvolvido, e surgindo em ordem crescente de altura: P3>P2>P1. Lobos do S3 aparentes somente quando flanqueado por S4. Fossa relativamente profunda abrigando columela composta por 5 a 15 elementos.

Observações. Enquanto *A. rathbuni* e *A. sp.* podem possuir coralitos que brotam a partir da lateral de outros coralitos, *A. solitaria* apresenta maior espaçamento entre indivíduos onde, ocasionalmente, pode aparentar serem solitários. Ainda, os septos são mais grossos perto da margem calicular e mais extensos se comparado a *A. rathbuni*.

Distribuição. Cairns (2000) indica ampla distribuição de *A. solitaria* pelo Atlântico Oeste, cobrindo desde regiões insulares até regiões continentais e sendo registrada até 51 metros de profundidade. No Brasil, Leão *et al.* (2016) aponta a ocorrência de *A. solitaria* apenas para a região do Nordeste, nos estados de Alagoas, Bahia e Pernambuco, não registrando qualquer ocorrência da espécie nas demais regiões do país. Contudo, no presente estudo, foi constatado a ocorrência de *A. solitaria* no Sudeste do Brasil, nas localidades demonstradas na Tabela 1.

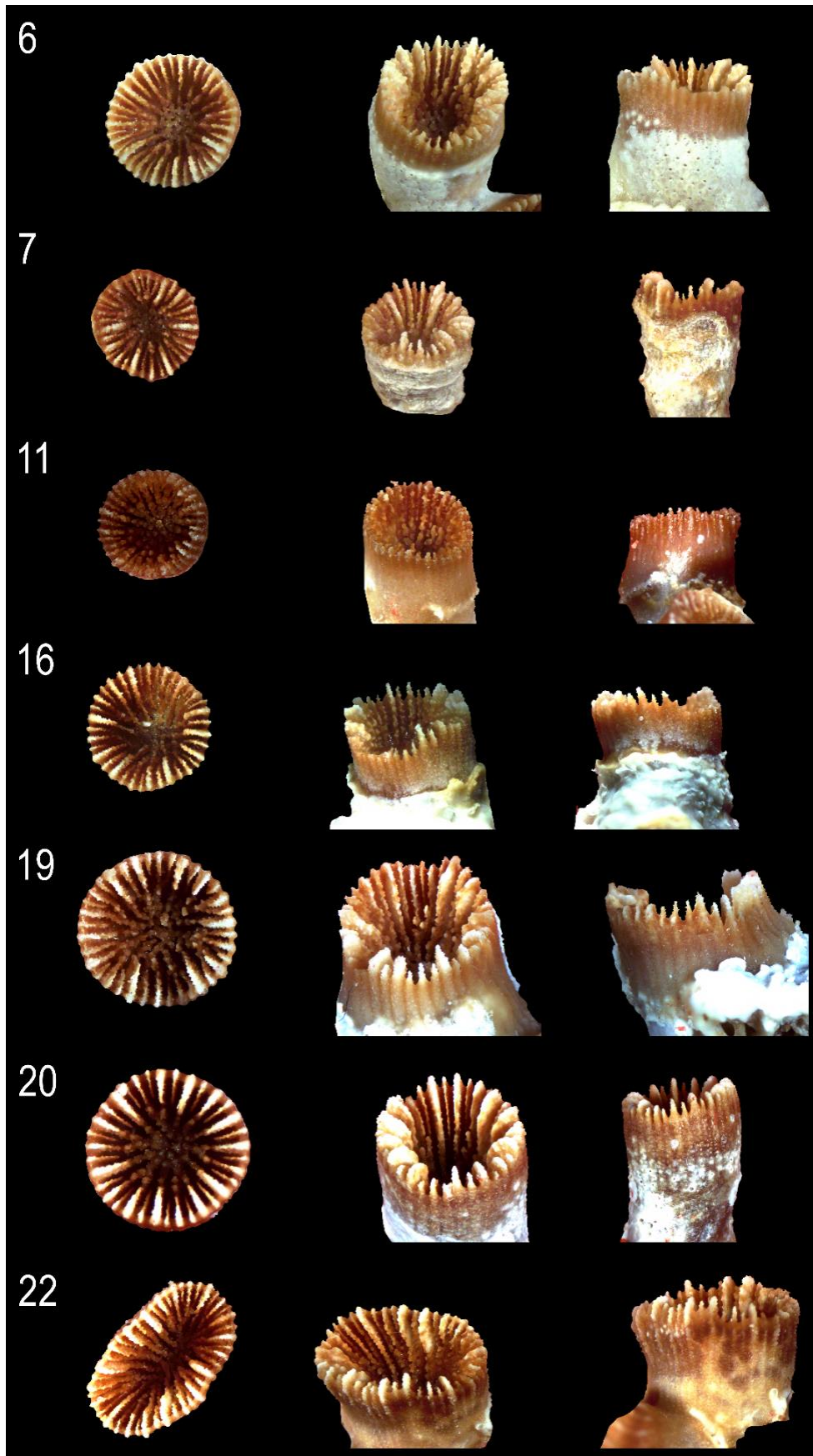


FIGURA 2. Esqueletos das amostras identificadas como *Astrangia solitaria* em três ângulos diferentes: calicular, oblíquo e lateral, respectivamente.

Astrangia rathbuni (Vaughan, 1906)

(Figs. 3)

Astrangia rathbuni Vaughan, 1906: 849-850, pl. 78, figs. 1-3.

Localidade-tipo: Paquetá, estado do Rio de Janeiro, Brasil (profundidade desconhecida).

Material-tipo: Holótipo e sete parátipos estão depositados no National Museum of Natural History, Washington, D.C. (Cairns, 2000).

Material examinado. 3, 4, 5, 9, 10, 12, 13, 17, 18, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30 e 31

Material base para descrição. 3, 4, 5, 9, 10, 12, 13, 18, 23, 25, 27 e 31

Descrição. Colônias pequenas, reptóides, normalmente incrustada sobre moluscos bivalves. Coralitos cilíndricos, pouco espaçados, brotando a partir do cenósteo ou da parede de outros coralitos. Cálice circular à ligeiramente elípticos; margem calicular serrada. Maior coralito examinado tem 5,5 mm de diâmetro calicular e 10,0 mm de altura. Parede do coralito granular e possuindo costas pouco demarcadas. Sulcos intercostais finos e rasos. Teca varia de branca a marrom, epiteca branca presente em alguns coralitos.

Septos arrançados hexameralmente em quatro ciclos de acordo com a fórmula: S1>S2>S3>S4. Entretanto, a maioria dos coralitos examinados possuem o quarto ciclo septal incompleto. S1 pouco projetante (0,3 mm), vertical, dividido em 3 a 7 lobos (margem interna dentada) e se estendendo cerca de 1/4 da distância até a columela. Dentições internas normalmente indistinguíveis dos elementos columelares. S2 similar ao S1, possuindo de 3 a 6 lobos que iniciam acima daqueles do primeiro ciclo. Quando flanqueado por um par de S4, S3 similar em tamanho ao S2. Nestes casos, em cada sistema, os S3 se fusionam com o S2 pouco antes da columela. S3 possui de 5 a 7 lobos que começam acima daqueles do S2. S4 se funde com S3 na metade da distância até a columela e possui até 6 lobos, os quais são perceptíveis apenas quando S4 é bem desenvolvido. Lobos de todos os ciclos septais oblíquos e estreitando a fossa. Fossa relativamente profunda abrigando columela de tamanho variável, frequentemente composta por 10-15 papilas.

Observações. A *Astrangia rathbuni* demonstrou ser a espécie mais abundante no presente estudo, correspondendo a mais da metade dos espécimes coletados. Em contraste com *A. solitaria* e *A. sp.*, *A. rathbuni* possui fossa mais rasa e, segundo Cairns (2000), com um formato côncavo. Ainda, as dentições septais são facilmente distinguíveis dos elementos columelares em *A. solitaria*, já em *A. rathbuni* essas características são difíceis de ser apontadas.

Distribuição. A distribuição de *A. rathbuni* é apresentada em diversos trabalhos, Cairns (2000) registra a ocorrência da espécie para as regiões da Guiana, Suriname, Guiana Francesa e Brasil, de diversas profundidades à 90m. No Brasil, Hertzell & Castro (1994) registram a ocorrência da espécie no Sudeste do Estado da Bahia. *A. rathbuni* ocorre, também, na costa leste da América do Sul, do Espírito Santo, Brasil (Castro, 1994) até Mar del Plata, Argentina (Cairns, 2000). Kitahara *et al.* (2008, 2009) aponta a ocorrência de *A. rathbuni* na plataforma continental da região Sul do Brasil, em profundidades até aproximadamente 80m, da cidade de Porto Alegre à cidade de Rio Grande.

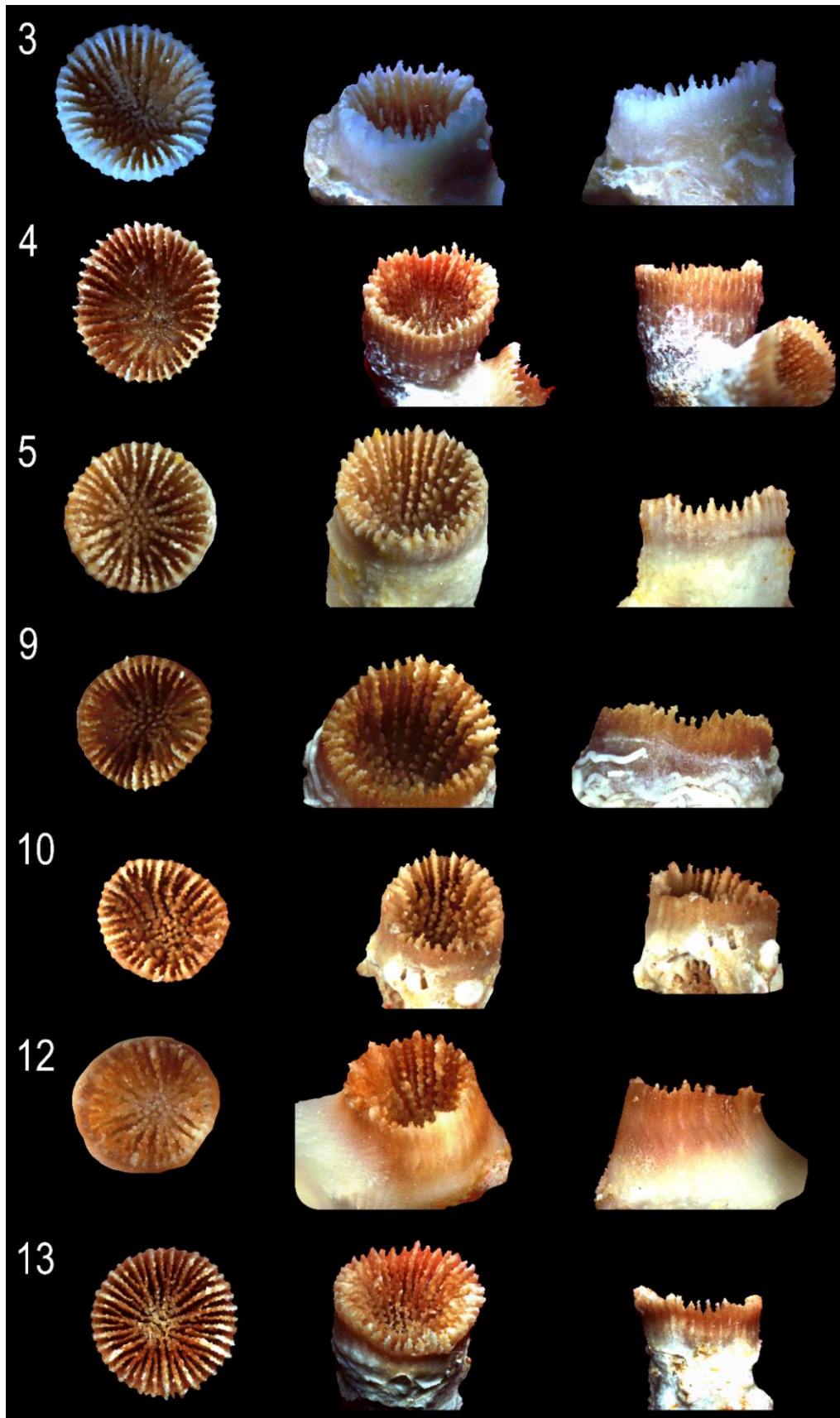


FIGURA 3. Visão calicular, oblíqua e lateral, respectivamente, dos esqueletos de amostras identificadas como *Astrangia rathbuni*.

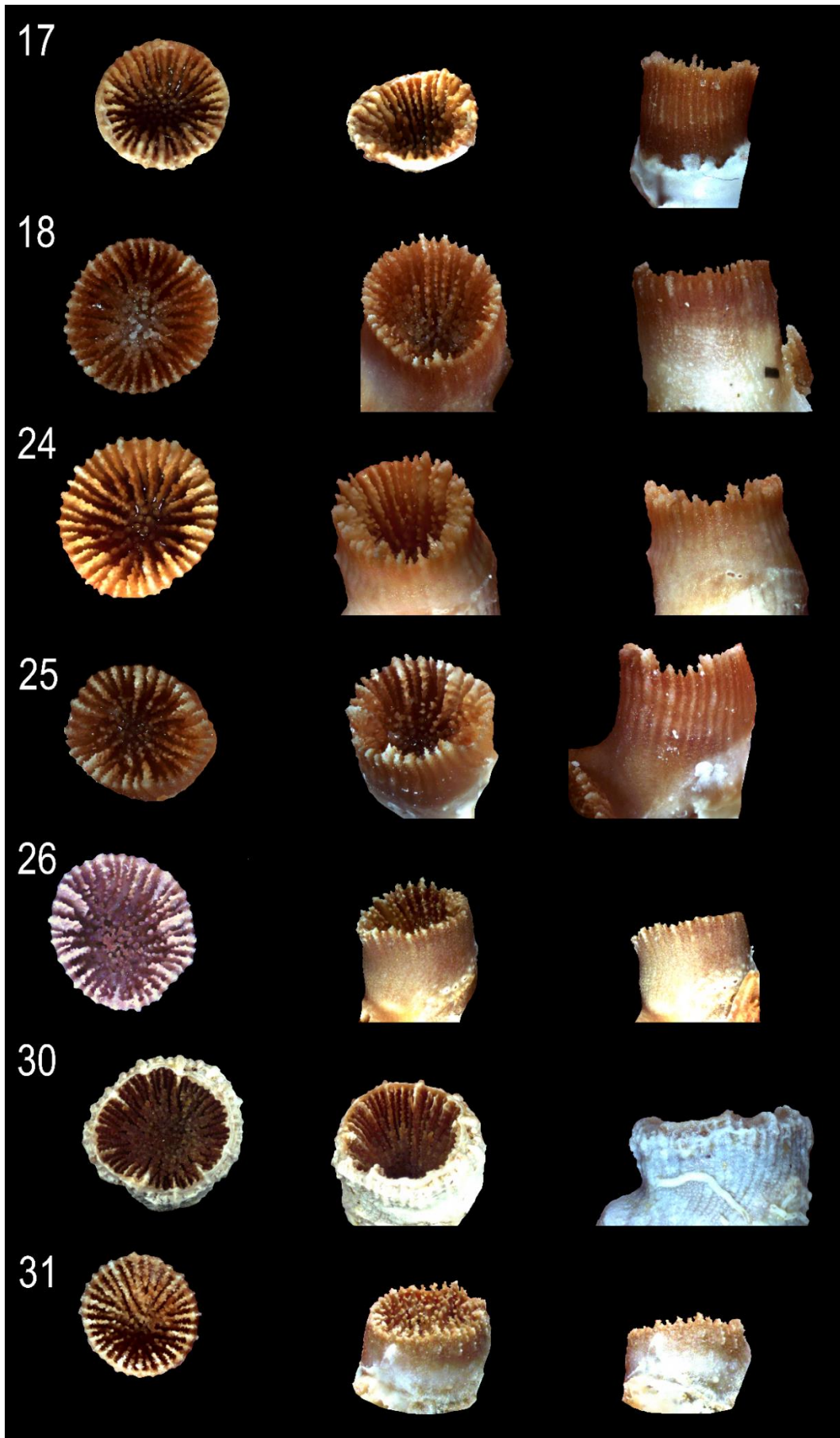


FIGURA 4. Continuação.

Astrangia sp.

(Fig. 5)

Material base para descrição. 2, 8, 14, 15 e 28.

Material examinado. 2, 8, 14, 15 e 28.

Descrição. Colônias pequenas, reptóides e incrustantes. Coralitos cilíndricos brotando a partir de cenósteo comum ou da parede de outro coralito. Cálice circular à elíptico e margem calicular ligeiramente serrada. Maior coralito examinado possui 5,0 mm diâmetro calicular e até 7,0 mm de altura. Teca robusta. Costas bem definidas e separadas por sulcos relativamente profundos. Coralo branco.

Septos arranjados hexameralmente em quatro ciclos incompletos de acordo com a fórmula: S1>S2>S3>S4. S1 projeta cerca de 0,5 mm acima da margem calicular e se estende por cerca de 2/3 da distância até a columela. Margem superior do S1 dentada e margem inferior abrigando 5 lobos que se estendem obliquamente, eventualmente se tornando verticais próximo à columela. S2 ligeiramente menos projetante que S1, mas possuindo lobos que se iniciam acima daqueles do S1. Em cada sistema, S3 se funde ao S2 flanqueado no nível da columela. Quando desenvolvido, S4 se funde ao S3 aproximadamente a meia distância até a columela. Esta normalmente representada como fusão de lobos P4 com o S3. Fossa profunda abrigando uma columela rudimentar.

Observação. Apensar de possuir disposição de lobos semelhante a *A. rathbuni*, *Astrangia* sp. se diferencia por apresentar columela menos desenvolvida, fossa mais profunda e pela presença de lobos septais oblíquos que mudam de orientação (vertical) na porção distal.

Distribuição. Até o momento, a ocorrência de *Astrangia* sp. foi constatada apenas aos arredores do Arquipélagos dos Alcatrazes, próximo às regiões popularmente conhecidas como “Wolverine” e “Oratório”.

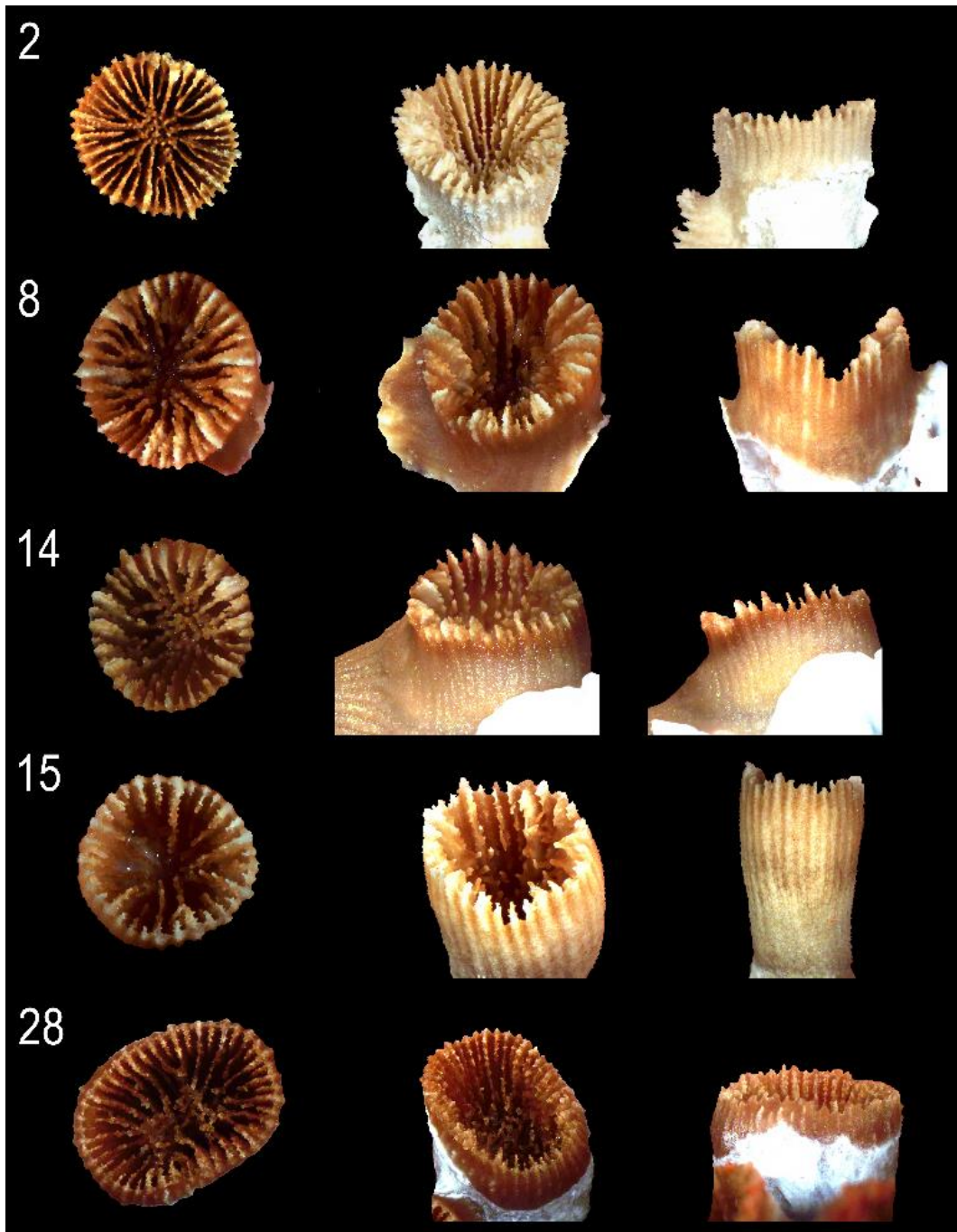


FIGURA 5. Esqueletos das amostras identificadas como *Astrangia* sp.

Análise molecular

Através da ferramenta BLAST foi possível comparar as sequências dos espécimes coletados com aquelas depositadas no GenBank, demonstrando similaridades com as das espécies *Oculina patagonica*, *Oculina difusa* e *Polycyathus mullerae* (Tabela 6). Ressalta-se que, até o momento, o gênero *Astrangia* não possui nenhuma região do genoma nuclear sequenciado disponível no banco de dados, o que dificulta a devida identificação das amostras a nível de espécie através de marcadores nucleares como o 28S rDNA. No entanto, as comparações das sequências do marcador rDNA 16S mostraram-se compatíveis com o único genoma mitocondrial de *Astrangia* disponível no banco de dados, publicado por Medina *et al.* (2006). Ainda, alinhando as sequências obtidas com as sequências disponíveis no GenBank, foi possível observar a formação de um clado monofilético (Fig. 6, 7 e 8) agrupando todos os espécimes analisados, assegurando que todos estes são de fato pertencentes a um mesmo grupo taxonômico.

TABELA 6. Resultados das comparações das sequências do 28S rDNA das amostras com o banco de dados do GenBank. O * indica amostras que tiveram problemas nas etapas de extração ou amplificação de DNA.

Amostra	Espécie de maior identidade	Identidade (%)
1	*	*
2	*	*
3	<i>Oculina patagonica</i>	99
4	<i>Oculina patagonica</i>	99
5	<i>Oculina patagonica</i>	99
6	<i>Oculina patagonica</i>	99
7	<i>Oculina patagonica</i>	99
8	<i>Oculina patagonica</i>	99
9	<i>Oculina patagonica</i>	99
10	<i>Polycyathus muelleriae</i>	96
11	<i>Oculina patagonica</i>	98
12	<i>Oculina patagonica</i>	99
13	<i>Oculina patagonica</i>	99
14	<i>Oculina patagonica</i>	96
15	<i>Oculina patagonica</i>	99
16	<i>Oculina patagonica</i>	99
17	<i>Oculina patagonica</i>	99
18	<i>Oculina patagonica</i>	99
19	<i>Oculina patagonica</i>	99
20	<i>Polycyathus muelleriae</i>	98
21	*	*
22	<i>Oculina patagonica</i>	99
23	*	*
24	<i>Oculina patagonica</i>	99
25	<i>Oculina patagonica</i>	99
26	<i>Oculina patagonica</i>	98
27	<i>Oculina patagonica</i>	97
28	<i>Oculina patagonica</i>	99
29	*	*
30	<i>Oculina difusa</i>	95
31	<i>Oculina patagonica</i>	97
32	*	*

Reconstrução Evolutiva

Marcador mitocondrial - 16S rDNA

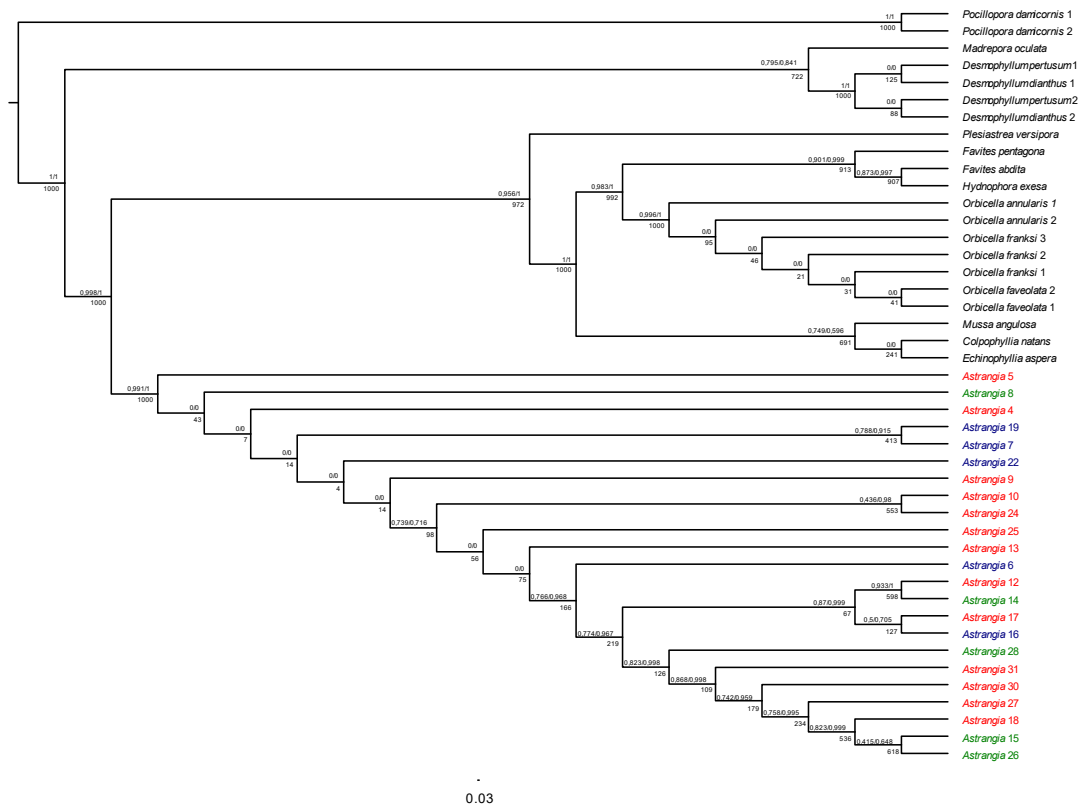


FIGURA 6. Cladograma resultante da análise sobre o marcador molecular 16S rDNA feito através do alinhamento das amostras de *Astrangia* com as sequências disponíveis no GenBank. Os números acima dos nós são referentes aos valores de confiabilidade dos mesmos provenientes das análises com os algoritmos SH-Like e aBayes, variando de 0 a 1, e abaixo dos nós o valor referente ao bootstrap (1000x), variando de 0 a 1000. As cores são referentes a identificação das espécies de acordo com a descrição macro-morfológica, sendo **vermelho**=*A. rathbuni*, **azul**=*A. solitaria* e **verde**=*A. sp.*

Marcador nuclear - 28S rDNA

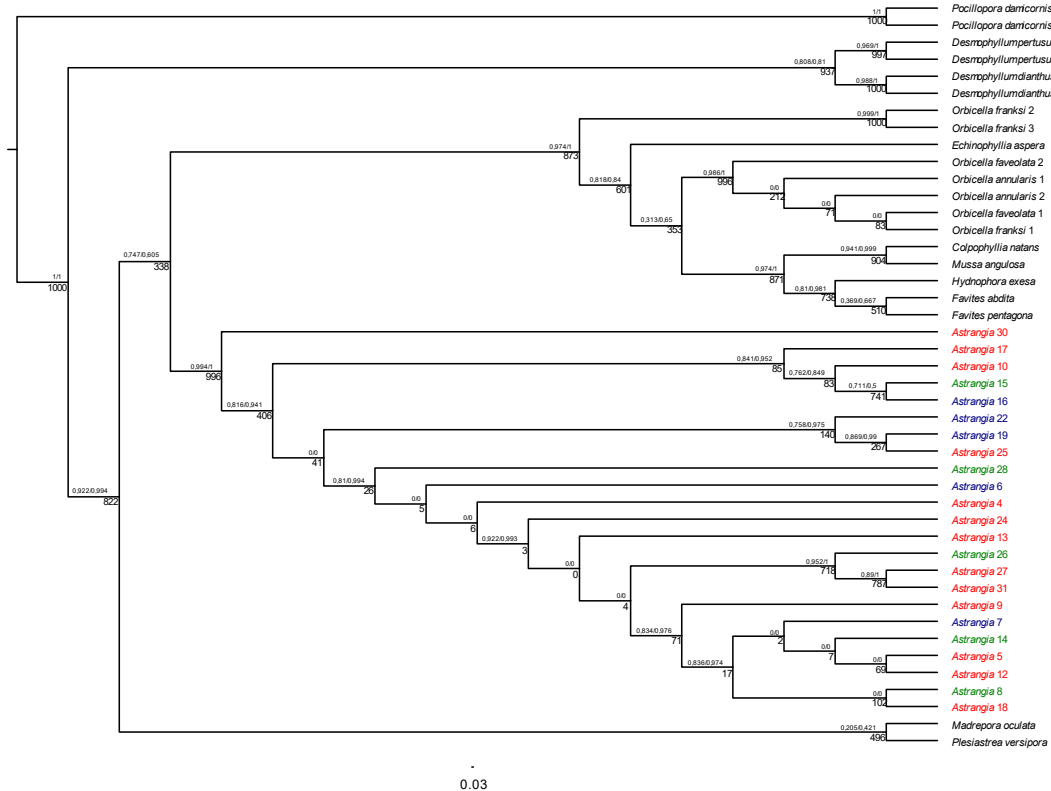


FIGURA 7. Cladograma resultante da análise sobre o marcador molecular 28S rDNA feito através do alinhamento das amostras de *Astrangia* com as seqüências disponíveis no GenBank. Os números acima dos nós são referentes aos valores de confiabilidade dos mesmos provenientes das análises com os algoritmos SH-Like e aBayes, variando de 0 a 1, e abaixo dos nós o valor referente ao bootstrap (1000x), variando de 0 a 1000. As cores são referentes a identificação das espécies de acordo com a descrição macro-morfológica, sendo **vermelho**=*A. rathbuni*, **azul**=*A. solitaria* e **verde**=*A. sp.*

Barcode estendido (16S rDNA e 28S rDNA)

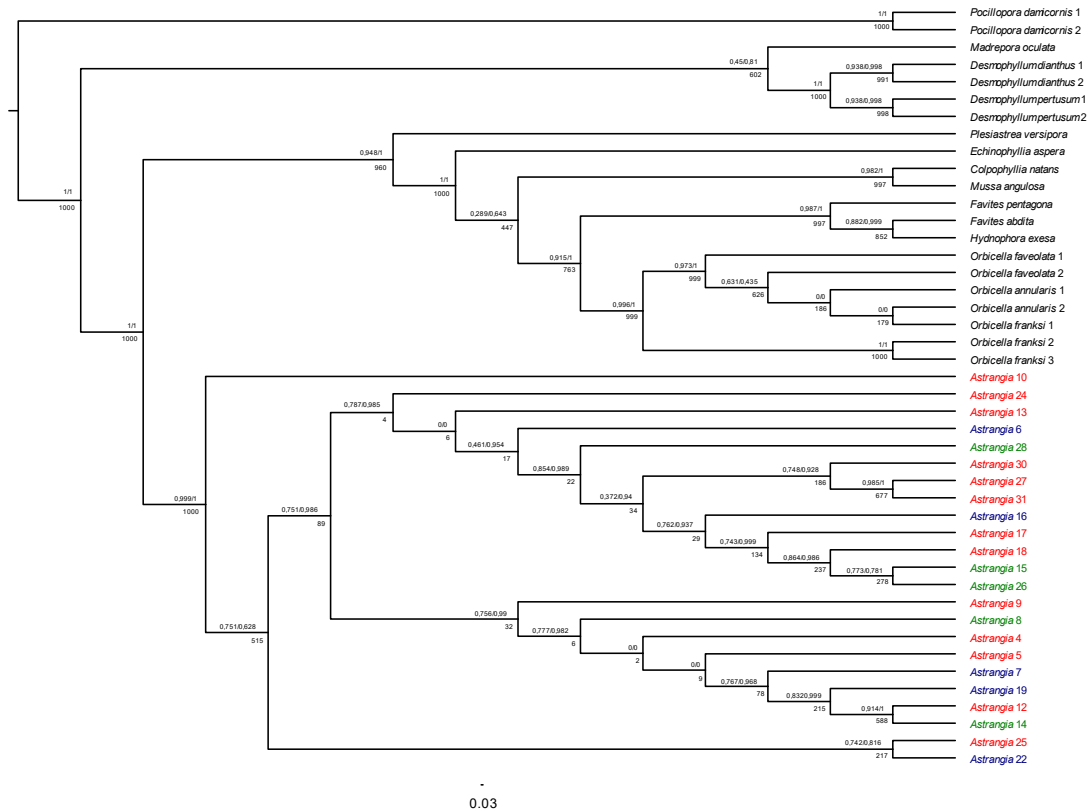


FIGURA 8. Cladograma resultante da análise sobre a união dos marcadores moleculares 16S rDNA e 28S rDNA (barcode estendido) feito através do alinhamento das amostras de *Astrangia* com as seqüências disponíveis no GenBank. Os números acima dos nós são referentes aos valores de confiabilidade dos mesmos provenientes das análises com os algoritmos SH-Like e aBayes, variando de 0 a 1, e abaixo dos nós o valor referente ao bootstrap (1000x), variando de 0 a 1000. As cores são referentes a identificação das espécies de acordo com a descrição macro-morfológica, sendo **vermelho**=*A. rathbuni*, **azul**=*A. solitaria* e **verde**=*A. sp.*

Discussão

Dentre as quinze espécies de *Astrangia* descritas atualmente, apenas cinco possuem registro no Oceano Atlântico (Hoeksema & Cairns, 2018), duas exclusivas da costa norte-africana no Atlântico Leste, *A. macrodentata* e *A. mercatoris*, (Ocaña, 2015; Chevalier, 1966), e três com registro no Atlântico Oeste: *A. solitaria*, *A. rathbuni* e *A. poculata* (Cairns, 2000). Em águas brasileiras, os representantes do gênero *Astrangia* são, provavelmente, os corais mais abundantes, sendo registrados ao largo de toda a costa. De forma geral, apesar de apenas duas espécies serem atualmente registradas para o Brasil (i.e. *Astrangia rathbuni* e *Astrangia solitaria*), até o presente trabalho, suas ocorrências se sobrepunham apenas ao largo da região nordeste do Brasil, com *A. rathbuni*, ocorrendo mais ao sul, até a plataforma continental de Mar del Plata (Argentina), e *A. solitaria* sendo encontrada principalmente no Caribe e se estendendo em distribuição da Flórida (Estados Unidos da América) até o Estado da Bahia. Destaca-se que *A. solitaria* também é registrada no Arquipélago Fernando de Noronha (Cairns, 2000). Assim, estende-se a distribuição de *A. solitaria* para a costa sudeste do Brasil, indicando que a sobreposição de ocorrência e, provavelmente, de nicho é mais comum para ambas (*A. solitaria* e *A. rathbuni*) do que se acreditava anteriormente.

As análises morfológicas de espécimes coletados nos arquipélagos dos Alcatrazes e de Ilhabela, incluindo o canal de São Sebastião, indicam a presença de pelo menos três espécies deste gênero para as regiões, as quais apresentam morfótipos significativamente distintos tanto quando observadas *in situ* (p.ex. tamanho, forma, cor), quanto nas estruturas esqueléticas (Fig. 7). Em adição, comparações dos caracteres macro-morfológicos (habitualmente utilizados em estudos taxonômicos do gênero), entre os espécimes analisados no presente estudo e as descrições previamente publicadas de corais astrangídeos (Cairns, 2000; Cairns & Kitahara, 2012; Vaughan, 1906), corroboram com este resultado, indicando que a quantidade e disposição das dentições das margens dos septos, profundidade e formato da fossa e distância entre coralitos são caracteres que podem ser aplicados na distinção entre congêneres. Ainda, as análises morfológicas, utilizando como base as descrições de Cairns (2000) e Peters *et al.* (1988), demonstram que a espécie identificada no presente estudo como *Astrangia* sp., difere-se de todas as espécies demais espécies do gênero registradas para o Atlântico Oeste, potencialmente representando uma espécie ainda não descrita pela ciência.

No entanto, mesmo existindo suporte morfológico para os resultados obtidos no presente estudo, a utilização de dados moleculares provenientes do sequenciamento parcial dos marcadores moleculares 16S rDNA e 28S rDNA nas reconstruções evolutivas dos corais

robustos da ordem mostrou que, aparentemente, os mesmos não possuem informação filogenética suficiente para separar os três morfótipos. Apesar disso, os marcadores, analisados tanto separadamente quanto em conjunto, suportam o monofiletismo do gênero, recuperando um clado com bom suporte estatístico independente do algoritmo utilizado. Por fim, ainda há a necessidade da utilização de outros marcadores moleculares que suportem as delimitações propostas pela análise morfológica para uma abordagem de sistemática integrativa, cerne do presente trabalho.

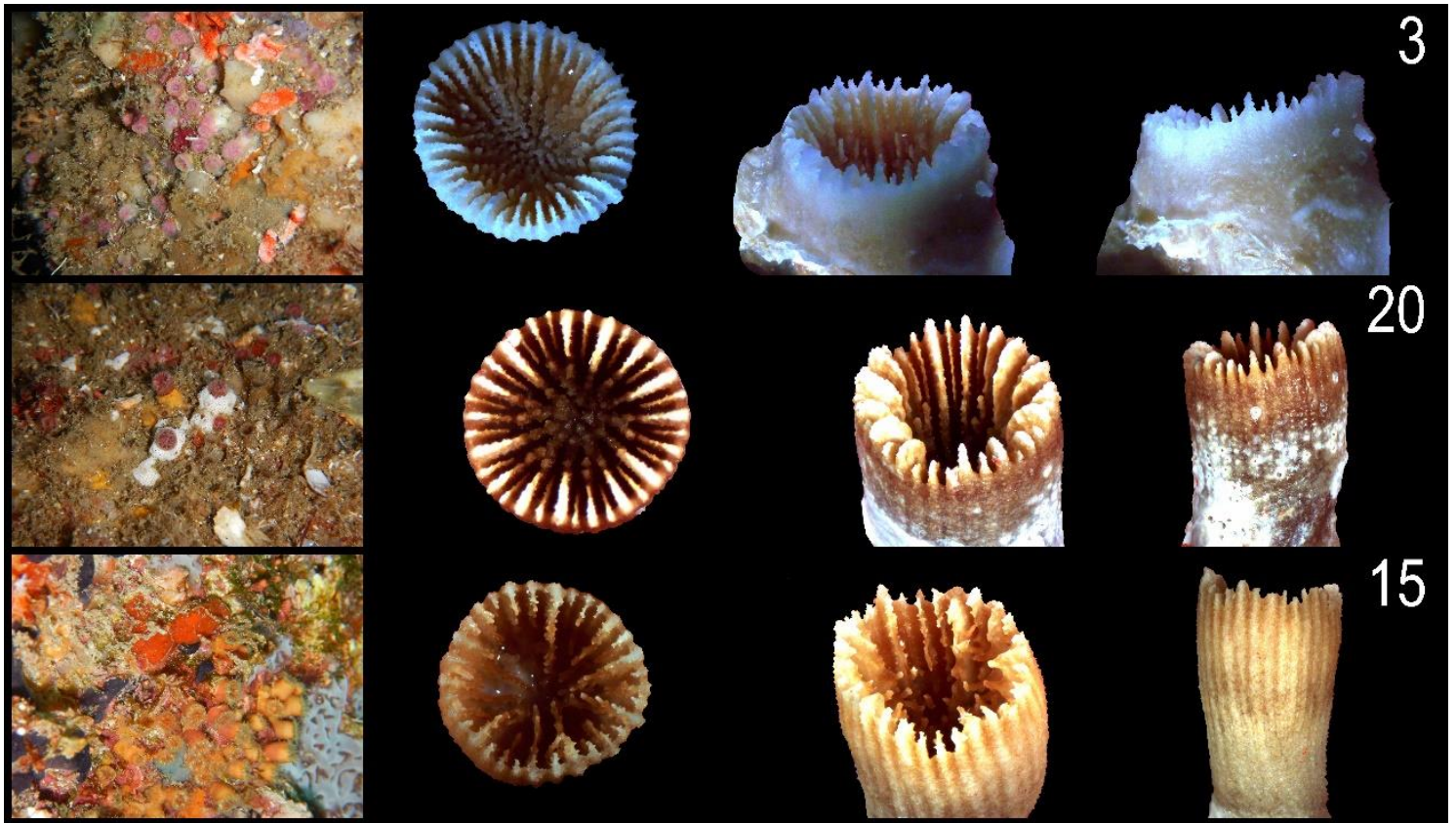


FIGURA 9. Fotos *in situ* e dos esqueletos sem tecido dos morfótipos diferenciados no presente estudo. O número no canto superior direito indica o número da amostra, sendo: 3=*Astrangia rathbuni*. 20= *Astrangia solitaria* e 15=*Astrangia* sp.

Conclusão

Através do presente estudo foi possível identificar a ocorrência de uma provável espécie não descrita de *Astrangia* no Brasil, cujas características morfológicas são singulares se comparadas com as demais espécies do gênero que ocorrem no Oceano Atlântico Ocidental. Em adição, amplia-se a ocorrência de *Astrangia solitaria* para o sudeste do Brasil. Embora tenha sido possível identificar as espécies com base nos caracteres morfológicos, os marcadores moleculares utilizados não possuem resolução suficiente para separar as espécies. Assim, a busca de outros marcadores que possam corroborar com as delimitações propostas no presente trabalho mostra-se necessária para aprimorarmos o conhecimento acerca da história evolutiva do gênero na costa brasileira.

Recomendações para o manejo

Astrangia sp. é uma espécie cuja distribuição e abundância são ainda desconhecidas, sendo até o momento registradas apenas no Arquipélago de Alcatrazes. Desta forma, é necessário realizar mais estudos acerca da distribuição da espécie para que seja possível diagnosticar o estado de conservação desta na costa norte do Estado de São Paulo.

Agradecimentos

Gostaria de deixar meus sinceros agradecimentos ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pelo suporte através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq), à Dra. Silvia Neri Godoy, Prof. Dr. Marcelo Kitahara e a Dra. Kátia Capel pela paciência e pelas orientações durante a realização deste estudo, à Prof. Dra. Fabiane Gallucci e ao Prof. Dr. Gustavo Fonseca por permitirem a utilização da lupa sempre que se mostrou necessário. Ao Laboratório de Biotecnologia Marinha da UNIFESP-BS, sobretudo ao Prof. Dr. Fernando Mendonça por ceder reagentes essenciais para a realização dos estudos moleculares. À Ágatha Carpinelli e à Isabela Seiblitz pela ajuda no laboratório, principalmente nos primeiros meses de estudo. E à Universidade de São Paulo por permitir a utilização das estruturas e dos equipamentos do Centro de Biologia Marinha (CEBIMar), onde foi feito boa parte deste trabalho.

Referências

- CAIRNS, Stephen D. Stony corals. I. Caryophylliina and Dendrophylliina (Anthozoa: Scleractinia). 1977.
- CAIRNS, Stephen D. **Species richness of recent Scleractinia**. Washington, District of Columbia: National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, 1999.
- CAIRNS, Stephen D. A revision of the shallow water azooxanthellate scleractinia of the Western Atlantic. 2000.
- CAIRNS, Stephen D. Online appendix: Phylogenetic list of 711 valid Recent azooxanthellate scleractinian species, with their junior synonyms and depth ranges. **Cold-water corals: the biology and geology of deep-sea coral habitats**. Cambridge University Press, Cambridge, <http://www.lophelia.org/online-appendices>, 2009.
- CAIRNS, Stephen D.; KITAHARA, Marcelo V. An illustrated key to the genera and subgenera of the Recent azooxanthellate Scleractinia (Cnidaria, Anthozoa), with an attached glossary. **ZooKeys**, n. 227, p. 1, 2012.
- CAIRNS, Stephen D. & STANLEY, George D. Ahermatypic coral banks: living and fossil counterparts. 1982.
- CAIRNS, Stephen D. et al. New records of deep-water Cnidaria (Scleractinia & Antipatharia) from the Gulf of Mexico. **Gulf of Mexico Science**, v. 13, n. 1, p. 1, 1993.
- CAIRNS, Stephen D. et al. List of extant stony corals. **Atoll Research Bulletin**, v. 459, p. 13-46, 1999.
- CAIRNS, Stephen D. et al. **Common and scientific names of aquatic invertebrates from the United States and Canada: Cnidaria and Ctenophora**. American Fisheries Society, 2002.
- CHEVALIER, J. P. Contribution à l'étude des Madréporaires des côtes occidentales de l'Afrique tropicale. **Bulletin de l'Institut français d'Afrique Noire**, p. 1356-1405, 1966.
- COOLEY, Nelson. An inventory of the estuarine fauna in the vicinity of Pensacola, Florida. 1978.

- CORREIA, Monica D. Scleractinian corals (Cnidaria: Anthozoa) from reef ecosystems on the Alagoas coast, Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 91, n. 3, p. 659-668, 2011.
- CASTRO, Clovis B. Corais do Sul da Bahia. **Editora Nova Fronteira**, Rio de Janeiro, p. 160-176, 1994.
- FRANCINI-FILHO, Ronaldo B. et al. Diseases leading to accelerated decline of reef corals in the largest South Atlantic reef complex (Abrolhos Bank, eastern Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 5, p. 1008-1014, 2008.
- GUINDON, Stéphane et al. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. **Systematic biology**, v. 59, n. 3, p. 307-321, 2010.
- HETZEL, B. & CASTRO, Clovis B. Corals of southern Bahia. **Editora Nova Fronteira**, Rio de Janeiro, p. 161-176, 1994.
- HOEKSEMA, Bert W.; Cairns, Stephen D. World List of Scleractinia. *Astrangia* Milne Edwards & Haime, 1848. 2018. Accessed through: **World Register of Marine Species** at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=135126> on 2018-11-07
- HORTA-PUGA, Guillermo; CARRICART-GANIVET, Juan P. Corales pétreos recientes (Milleporina, Stylasterina y Scleractinia) de México. **Biodiversidad Marina y Costera de México, SI Salazar-Vallejo y NE González (eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Centro de Investigaciones Quintana Roo, México, DF**, p. 64-78, 1993.
- JACQUES, T. G. et al. Experimental ecology of the temperate scleractinian coral *Astrangia danae*. **Marine Biology**, v. 76, n. 2, p. 135-148, 1983.
- KEARSE, Matthew et al. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 12, p. 1647-1649, 2012.
- KITAHARA, Marcelo V. Novas ocorrências de corais azooxantelados (Anthozoa, Scleractinia) na plataforma e talude continental do sul do Brasil (25-34o S). **Biotemas**, v. 19, n. 3, p. 55-63, 2006.

- KITAHARA, Marcelo V. Species richness and distribution of azooxanthellate Scleractinia in Brazil. **Bulletin of Marine Science**, v. 81, n. 3, p. 497-518, 2007.
- KITAHARA, Marcelo V. A pesca demersal de profundidade e os bancos de corais azooxantelados do sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 2, p. 35-43, 2009.
- KITAHARA, Marcelo V. et al. Utilização de registros de corais de profundidade (Cnidaria, Scleractinia) para prever a localização e mapear tipos de substratos na plataforma e talude continental do sul do Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)**, v. 48, n. 2, p. 11-18, 2008.
- KITAHARA, Marcelo V. et al. Distribuição das espécies de corais azooxantelados na plataforma e talude continental superior do sul do Brasil. **Iheringia Sér Zool Porto Alegre**, v. 99, p. 223-236, 2009.
- KNOWLTON, Nancy et al. Coral reef biodiversity. **Life in the world's oceans: diversity distribution and abundance**, p. 65-74, 2010.
- LABOREL, Jacques. Les peuplements de madréporaires des côtes tropicales du Brésil. **Annales de l'Université d'Abidjan**, 1970.
- LABOREL, Jacques. Madreporaires et hydrocoralliaires récifaux des côtes brésiliennes. **Annales de l'Institut Océanographique**, 1971.
- LAJEUNESSE, Todd C. et al. Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. **Current Biology**, v. 28, n. 16, p. 2570-2580. e6, 2018.
- LARKIN, Mark A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.
- LEÃO, Zelinda MAN et al. Brazilian coral reefs in a period of global change: A synthesis. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n. SPE2, p. 97-116, 2016.
- LEWINSOHN, Thomas M.; PRADO, Paulo Inácio. How many species are there in Brazil?. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 619-624, 2005.
- LIN, Mei-Fang et al. Seventy-four universal primers for characterizing the complete mitochondrial genomes of scleractinian corals (Cnidaria; Anthozoa). **Zool Stud**, v. 50, n. 4, p. 513-524, 2011.

- MEDINA, Mónica et al. Evaluating hypotheses of basal animal phylogeny using complete sequences of large and small subunit rRNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 17, p. 9707-9712, 2001.
- MEDINA, Mónica et al. Naked corals: skeleton loss in Scleractinia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 24, p. 9096-9100, 2006.
- MIRANDA, Ricardo J. et al. Coral invasor *Tubastraea* spp. em recifes de corais e substratos artificiais na Baía de Todos os Santos (BA). In: **Congresso Brasileiro de Oceanografia, Associação Brasileira de Oceanografia, Rio de Janeiro**, p. 13-16, 2012.
- OCAÑA, O. et al. A survey on Anthozoa and its habitats along the Northwest African coast and some islands: new records, descriptions of new taxa and biogeographical, ecological and taxonomical comments. Part I, 2015.
- PETERS, Esther C. et al. Nomenclature and biology of *Astrangia poculata* (= *A. danae*, = *A. astreiformis*) (Cnidaria: Anthozoa). 1988.
- RAMBAUT, Andrew. FigTree v. 1.4.0. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. 2007
- ROSENBERG, Eugene et al. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 5, p. 355, 2007.
- ROWAN, R. O. B.; POWERS, Dennis A. A molecular genetic classification of zooxanthellae and the evolution of animal-algal symbioses. **Science**, v. 251, n. 4999, p. 1348-1351, 1991.
- SOARES, Marcelo de O.; RABELO, Emanuelle F. Primeiro registro de branqueamento de corais no litoral do Ceará (NE, Brasil): indicador das mudanças climáticas?. **Geociências (São Paulo)**, v. 33, n. 1, p. 1-10, 2014.
- STOLARSKI, Jarosław et al. The ancient evolutionary origins of Scleractinia revealed by azooxanthellate corals. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, n. 1, p. 316, 2011.
- SZMANT-FROELICH, Alina; YEVICH, Paul; PILSON, Michael EQ. Gametogenesis and early development of the temperate coral *Astrangia danae* (Anthozoa: Scleractinia). **The Biological Bulletin**, v. 158, n. 2, p. 257-269, 1980.
- VAUGHAN, Thomas W. A new species of *Coenocyathus* from California and the Brazilian astrangid corals. **Proceedings of the United States National Museum**, 1906.

VERON, John et al. Overview of distribution patterns of zooxanthellate Scleractinia. **Frontiers in Marine Science**, v. 1, p. 81, 2015.

WAKEFIELD, Timothy S.; KEMPF, Stephen C. Development of host-and symbiont-specific monoclonal antibodies and confirmation of the origin of the symbiosome membrane in a cnidarian–dinoflagellate symbiosis. **The Biological Bulletin**, v. 200, n. 2, p. 127-143, 2001.

WATERHOUSE, Andrew M. et al. Jalview Version 2—a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. **Bioinformatics**, v. 25, n. 9, p. 1189-1191, 2009.

ZIBROWIUS, Helmut et al. Shallow-water scleractinian corals of Ascension Island, Central South Atlantic. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 97, n. 4, p. 713-725, 2017.