

Bruno Sayão de Aguiar

Avaliação de identidade taxonômica de *Amathia* cf. *crispa* e *Amathia* cf. *vidovici* (Bryozoa: Ctenostomata) com ocorrência ao longo da costa brasileira, a partir de dados morfológicos e moleculares

Taxonomy re-evaluation of *Amathia* cf. *crispa* and *Amathia* cf. *vidovici* (Bryozoa: Ctenostomata) occurring along the Brazilian coast, based on morphological and molecular data

São Paulo

2014

Bruno Sayão de Aguiar

Avaliação de identidade taxonômica de *Amathia* cf. *crispa* e *Amathia* cf. *vidovici* (Bryozoa: Ctenostomata) com ocorrência ao longo da costa brasileira, a partir de dados morfológicos e moleculares

Taxonomy re-evaluation of *Amathia* cf. *crispa* and *Amathia* cf. *vidovici* (Bryozoa: Ctenostomata) occurring along the Brazilian coast, based on morphological and molecular data

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências, na Área de Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Esteves Migotto

São Paulo

2014

Sayão de Aguiar, Bruno

Avaliação de identidade taxonômica de *Amathia* cf. *crispa* e *Amathia* cf. *vidovici* (Bryozoa: Ctenostomata) com ocorrência ao longo da costa brasileira, a partir de dados morfológicos e moleculares.

vi + 93p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Zoologia.

1. Bryozoa 2. Taxonomia 3. *Amathia* 4.  
Morfologia I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

## Comissão Julgadora:

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof. Dr. Alvaro Esteves Migotto  
Orientador

# **Dedicatória**

**A minha mãe, meu pai e aos familiares que a  
vida me proporcionou...**

### **Vida Brusca... E Brusca!**

Roçam os cílios de minha traqueia  
Em seus movimentos coordenados e esforçados,  
Força grandiosa dos inúmeros pares de microtúbulos  
Tentando sacar do âmago do meu ser,  
As palavras...  
Que persistem em seu ciclo reprodutivo  
de inúmeros órgãos hospedeiros-intermediários...  
Tento aprisioná-las com a minha probóscide captadora de palavras,  
Na difícil tarefa de paciência...  
Mas, já possuo um sistema unidirecional de vogais e de letras,  
E, portanto, posso resgatar os pensamentos e emoções perdidas  
Nos meus clados ancestrais  
De Brunos, Josés e Marias,  
Esponjas, velelas, tênias e nemertinas...  
Enfim,  
É a eterna apresentação do “Conhecimento” ao “Dr. Conhecer-se”,  
Prazer,  
Metazoa!

Bruno Sayão

## Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a todos aqueles que considero como minha família, de corpo físico ou não, de cores azul, amarelo, branco, preto, transparente. De sangue azul, vermelho, verde ou de um simples fluido vital, gratidão a todos vocês!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado concedida e ao PROEX (Programa de Excelência Acadêmica) pelo auxílio financeiro durante as coletas.

Ao Instituto de Biociências e departamento de Zoologia da Universidade de São Paulo.

Ao Centro de Biologia Marinha CEBIMar-USP por toda infraestrutura disponibilizada.

Ao curador Dr. Simon Grove curador da sessão Zoologia dos Invertebrados do Tasmanian Museum & Art Gallery, Hobart, Tasmânia, por ter enviado parte de uma amostra de *Amathia convoluta*.

A Barbara Thaler-Knoflach do departamento de Zoologia da Universidade de Innsbruck (Áustria) pelas informações e foto sobre o material de Heller.

A primeira pessoa a ser lembrada teria que ser Ronaldo A. Cristofolletti, as portas e contatos do Cebimar-USP foram abertas por ele devido a um simples convite de um trabalho de três semanas (no final de setembro de 2010) que aceitei prontamente. Dessa forma pude conhecer Dr. Alvaro E. Migotto e Dra. Karin Fehlauer-Ale.

Obrigado Karin por toda dedicação e tempo direcionados a minha pessoa, pela aposta feita apesar de eu não possuir conhecimento na área de biologia molecular. Sou grato pela possibilidade de trabalho primeiramente como técnico do seu projeto, ensinando-me com toda paciência a conduta, as práticas e técnicas no laboratório. E posteriormente a este mestrado, apoiando desde os intensos estudos para a tão temida prova de zoologia e durante todos os mais de 24 meses.!

Ao Alvaro pelo aceite de orientação, por também apostar na minha pessoa mesmo sem eu ter conhecimento sobre a área de taxonomia. Agradeço pelas conversas produtivas, os diversos ensinamentos, a melhor forma de uso do microscópio, lupa, câmera fotográfica, as repostas e idéias sempre na ponta da língua, a forma da escrita, e principalmente, a calma na condução de todo tipo de trabalho biológico, mesmo quando as condições não eram ideais para o mesmo. Obrigado!

Ao Dr. Leandro M. Vieira por sua disposição em ensinar parando tudo o que estava fazendo mediante a qualquer pergunta e partir daí ministrando uma aula sobre assunto Bryozoa que fosse, sua empolgação com estes animais é cativante e sua

sabedoria sobre eles também. Obrigado por todas as dicas taxonômicas, métodos e conduta tanto no campo como em laboratório sua ajuda foi de muita importância neste trabalho.

A mestranda Karine, pela enorme ajuda no laboratório, sempre muito eficiente, competente e dedicada nessa “praia”, conseguiu resolver várias sequências “buchas”, e pelas conversas divertidas, discussões, e ajuda no campo.

Ao Mestre Rafael (Mogli), irmão que ganhei nesta “pelea” por viver de Biologia (desde 2005), agradeço as consultas e ensinamentos estatísticos. Sempre disposto, apontado o melhor caminho estatístico a seguir, mas com a sabedoria de instigar as leituras sobre o tema “ensinando a pescar” popularmente falando. Tu és o cara!

Aos doutores Sergio Coelho (Serginho), Maria Soledad (Sol) e Augusto Flores pelas conversas e dicas estatísticas.

A Ana Luiza(Parlet), pelas diversas ajudas tanto físicas como energéticas, segurando a “minha onda” quando por algum motivo eu estava mal. Agradeço pela presença não presente e indispensável nessa reta final, pessoa fantástica!

A Larissa Akiko (companheira de aventuras pelo Brasil) e Etiene Clavico pelas diversas ajudas em campo!

A Ludmila Gladek (Ludi), pelas ajudas e incentivos nesse fim de mestrado.

A mestranda Licia, pela ajuda em campo e na cidade universitária, pelas conversas alegres, discussões e por nos acolher na casa de sua família em Salvador-BA para as coletas na cidade. Sua família é dez! Beijo do Marcelo para sua mãe!

A Dra. Ana Cristina Bondioli (Ana Cris) pelas ótimas dicas, conversas, discussões e por sempre levantar meu ânimo nessa reta final!

A Ana Paula (Itapira) que apesar de muito anos que não nos vemos (fisicamente) está sempre presente na minha vida, meu “Encosto da guarda”, irmã querida de jornada! Obrigado pela força.

Aos funcionários do Cebimar-USP, todos sem exceção, que de alguma forma cada um de vocês contribuíram em algo deste trabalho. Muito agradecido, em especial Simone, Graça, Camila, Elso e Zé.

Aos moradores das casas que conviveram e convivem todos os dias em São Sebastião: Rep da Alegria, Rep Barco, Rep Barbie, Kzona, Grade, e as demais repúblicas sem nomes, obrigado pelas inúmeras caronas, jantás, festas, roda de viola, sessão pipoca, o famoso vôlei, churascos, e as idas a Ilhabela. Sem vocês o tempo de mestrado não seria o mesmo, não teria a mesma graça, não seria o que foi! Muito obrigado, boas energias para vocês! Em especial aos moradores da Rep Boate Azul: Francisca Buarque (Chica), Rafael (Mogli), Ludmila (Ludi), Vanessa (Dadá) e Maicon, forte abraço em todos.

A Isabel Ribeiro que participou do pré-mestrado, do início, do meio, e um pouco do fim deste tempo, de forma intensa. Você não sabe (talvez um pouco) o tamanho e a dimensão de coisas que aprendi neste período contigo e que reverberou em meu crescimento emocional, espiritual, intelectual e muito mais. A troca foi tamanha, a gratidão e o carinho que tenho não cabem no famoso “morro de São Sebastião”, és uma amiga querida que está no meu coração. Conte comigo sempre!

Ao Hayato Kodama, mestre de cura física e espiritual obrigado por me colocar literalmente no lugar, pelas boas conversas e dicas, grande amigo!

A todos meus irmãos trabalhadores do Grupo Aliança que bom ter reencontrado vocês, agradeço pelo grande carinho que recebo de cada um de vocês, sintam-se abraçados e energizados.

A minha querida Ana Cláudia, por esse encontro inusitado e alegre em meio a este turbilhão de coisas de fim de ciclos, agradeço pela companhia gostosa, as conversas edificantes e o enorme carinho, além do entendimento nesse período. Você é um presente do povo de lá! Feliz!

A todos aqueles que esqueci de mencionar, agora, neste exato momento, sintam-se lembrados!

A minha mãe, pai, irmãos e vó, obrigado por tudo!



# Índice

Agradecimentos.....	iii
INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVOS .....	05
MATERIAL & MÉTODOS.....	05
Coleta e identificação morfológica.....	05
Análises de dados morfológicos .....	08
Obtenção das sequências de DNA .....	09
Análises filogenéticas.....	11
RESULTADOS.....	12
Coleta e identificação morfológica.....	12
Espécies do grupo <i>Amathia</i> cf. <i>vidovici</i> .....	16
Análise morfológica de dados.....	16
Análise molecular de dados.....	23
Taxonomia <i>Amathia vidovici</i> .....	32
Taxonomia <i>Amathia</i> sp.nov.1.....	36
Figura 16. <i>Amathia vidovici</i> e <i>Amathia</i> sp.nov.1 .....	39
Figura 17. <i>Amathia vidovici</i> e <i>Amathia</i> sp.nov.1 .....	40
Espécies do grupo <i>Amathia</i> cf. <i>crispa</i> .....	41
Análise morfológica de dados.....	41
Análise molecular de dados.....	44
Taxonomia <i>Amathia crispa</i> .....	52
Taxonomia <i>Amathia</i> sp.nov.2.....	55
Figura 27. <i>Amathia crispa</i> e <i>Amathia</i> sp.nov.2.....	58
Figura 28. <i>Amathia crispa</i> e <i>Amathia</i> sp.nov.2.....	59
DISCUSSÃO .....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
RESUMO .....	71
ABSTRACT .....	72
APÊNDICE .....	73

## INTRODUÇÃO

Os lofoforados estão representados por três filos de invertebrados (Phoronida, Brachiopoda, Bryozoa) majoritariamente bentônicos, sésseis e coloniais, que podem viver em tubos, conchas ou envoltórios rígidos secretados. Estes animais compartilham a presença de um lofóforo tentacular ciliado eversível ou fixo. Embora uma análise molecular recente considere o grupo como monofilético (Nesnidal *et al.*, 2013), vários estudos anteriores atuais indicam que Lophophorata é um táxon polifilético (e.g. Funch & Kristensen, 1995; Hejnol *et al.*, 2009).

O filo Bryozoa (por vezes chamado também de Ectoprocta) é formado por animais coloniais sésseis sendo abundantes em ambientes costeiros. São compostos por zooides que são unidades funcionais polimórficas realizadoras de diferentes funções. Este grupo diferencia-se dos outros filos que apresentam lofóforo pela posição do ânus fora da coroa de tentáculos, e lofóforo retrátil circular ou em forma de “U” (Brusca & Brusca, 2007).

Os briozoários podem ser encontrados em regiões entremarés, costões rochosos ou em áreas sublitorâneas dispersos em todos os oceanos do mundo (Bock, 2013). Eles têm o significativo papel nos ecossistemas marinhos através de contribuições para sedimentos carbonáticos temperadas e tropicais (Nelson *et al.*, 1988; Cocito, 2004), além de ser fonte de alimento para outras espécies marinhas (Lidgard, 2008; Alves *et al.*, 2013).

Suas estruturas tridimensionais permitem proteção e abrigo para uma série de invertebrados, além servirem como um local de berçário para outras espécies marinhas incluindo algumas de importância comercial (Bradstock & Gordon, 1983; Wood *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2013). São também conhecidos como uma fonte valiosa de compostos bioativos (Sharp *et al.*, 2007; Green *et al.*, 2010; Carroll *et al.*, 2011).

O filo está representado por cerca de 5.800 espécies vivas e 15.000 fósseis (Gordon, 2009), distribuídas em três classes: a) Phylactolaemata, que consiste em organismos exclusivamente de água doce, sendo a menos representativa do grupo; b) Stenolaemata, marinhos e cujos membros recentes pertencem somente à ordem Cyclostomata; c) Gymnolaemata, majoritariamente marinhos, agrupados nas ordens Ctenostomata e Cheilostomata, sendo esta com a maior representatividade.

No Brasil, o estudo do filo foi principalmente realizado pelo professor Ernst Marcus da Universidade de São Paulo, que registrou entre 1937 e 1962 cerca de 180 espécies (Vieira *et al.*, 2008). Recentemente Vieira *et al.* (2008) apresentaram uma lista de espécies com ocorrência registrada no país, na qual foram detectadas 346 espécies. Posteriormente, Ramalho *et al.* (2009, 2010, 2011), Santana *et al.* (2009), Vieira & Gordon (2010), Vieira *et al.* (2010a-c, 2012, 2014), Fehlaue-Ale *et al.* (2011), Almeida & Souza (2014), Almeida *et al.* (2014) descreveram e/ou redescreveram outras espécies marinhas para o Brasil, o que demonstra um aumento da atenção conferida ao filo, e a necessidade da ampliação do grupo de pesquisa na área.

Dentre os Ctenostomata, o gênero *Amathia* Lamouroux, 1812 (Vesiculariidae) está representado por aproximadamente 38 espécies recentes e exclusivamente marinhas, das quais ao menos oito são tratadas como cosmopolitas (Bock, 2013). As espécies deste gênero são caracterizadas por colônias de estolões tubulares e rastejantes, sendo a porção ereta bifurcada.

Os autozooides são geralmente organizados em grupos, formando duas fileiras paralelas em linha reta, ou torcidas em espiral em torno dos ramos (Chimonides, 1987). A revisão extensa mais recente das espécies que compõem o gênero é a de Chimonides (1987), na qual foram descritas quatro espécies e redescritas outras onze. Neste trabalho, o autor também chama a atenção para o fato de várias referências anteriores a 1987 serem duvidosas, por conterem erros de identificação e/ou descrições incompletas.

Embora negligenciadas por mais de 20 anos após o trabalho de Chimonides (1987), importantes questões taxonômicas foram recentemente abordadas para o gênero, relacionadas a espécies com ocorrência registrada para o Mar Mediterrâneo (Souto *et al.*, 2010), costa brasileira (Fehlaue-Ale *et al.*, 2011), e sul do Pacífico (Gordon & Spencer-Jones, 2013).

Cinco espécies são reportadas para a costa atlântica ocidental (Bock, 2013), das quais quatro ocorrem em águas brasileiras (exceto *Amathia alternata*) (Vieira *et al.*, 2007, 2008; Fehlaue-Ale *et al.*, 2011): a) *Amathia* cf. *vidovici* (Heller, 1867), espécie cosmopolita, registrada no Brasil em Alagoas, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná; b) *Amathia distans* Busk, 1886, cosmopolita, cuja distribuição no Brasil inclui Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná; c) *Amathia* cf. *crispa*

(Lamarck, 1816) [= *Amathia convoluta* (Lamouroux, 1816), veja d'Hondt, 1983], reportada para a Austrália, São Paulo e Paraná; d) *Amathia brasiliensis* Busk, 1886, que ocorre na Flórida (EUA), em Fernando de Noronha, Alagoas, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina; e) *Amathia alternata* Lamouroux, 1816, restrita ao leste dos EUA e ao Golfo do México.

As características diagnósticas para as espécies reportadas para o Atlântico Ocidental são: a) *Amathia vidovici*: colônias ramificadas semieretas, variando de esbranquiçadas a castanho claro, estolões mais grossos e rígidos que *A. distans*, zooides agrupados de forma espiral (Winston, 1982); b) *A. distans*: colônias cuticularizadas e regularmente ramificadas, estolão fino, e com manchas de pigmento amarelo brilhante a transparentes presentes no estolão e zooides (Fehlauer-Ale *et al.*, 2011); c) *Amathia crispa*: colônias com poucas ramificações, zooides de mesmo tamanho ocupando os internódios dos estolões na sua totalidade ou em mais da metade destes, descrevendo uma espiral completa e contínua (d'Hondt, 1983); d) *A. brasiliensis*: colônias cuticularizadas, estolão grosso e zooides com a superfície densamente manchada por pigmento esbranquiçado (Fehlauer-Ale *et al.*, 2011); e) *A. alternata*: colônias espessas, ramificadas e elásticas ao toque, estolão de coloração amarela a marrom, zooides dispostos ordenadamente por fileiras duplas em linha reta ou torcidos em 90 graus (Winston, 1982).

Pesquisas recentes baseadas em sequências de DNA têm desafiado o conceito tradicional e amplamente difundido para Bryozoa de que muitas de suas espécies sejam cosmopolitas. Exemplos de complexos de espécies crípticas recentemente revelados apenas por análises de sequências de DNA são os queilostomados *Membranipora membranacea* (Linnaeus, 1767) (Schwaninger, 1999, 2008), *Celleporella hyalina* (Linnaeus, 1767) (Hoare *et al.*, 2001; Gómez *et al.* 2007), *Electra pilosa* (Linnaeus, 1767) (Nikulina *et al.*, 2007) e *Bugula neritina* (Linnaeus, 1758) (Fehlauer-Ale *et al.*, 2014).

Devido à dificuldade em se distinguir espécies de invertebrados que exibem morfologia e anatomia simples, grande plasticidade fenotípica e aparente ampla distribuição geográfica, o “DNA barcoding” (Herbet *et al.* 2003; Herbert & Gregory, 2005) tem sido proposto como uma poderosa ferramenta complementar à taxonomia clássica. Esta propõe a comparação de sequências de DNA com base em marcadores

moleculares (genes) que permitam acessar a correta identificação de espécies. Estes marcadores devem possuir regiões suficientemente conservadas que viabilizem a sua amplificação por um conjunto de iniciadores ‘universais’ (*primers*), e os segmentos entre as regiões conservadas devem ser divergentes o suficiente para diferenciar espécies proximamente relacionadas (Stoeckle, 2003).

O citocromo c oxidase subunidade 1 (COI) é o gene mitocondrial mais utilizado nos trabalhos baseados em “DNA barcoding” para os metazoários invertebrados, sendo este geralmente amplificado e sequenciado a partir de *primers* ‘universais’ publicados no trabalho pioneiro de Folmer *et al.* (1994).

A eficácia do “DNA barcoding” como uma ferramenta de identificação em nível espécie-específico tem sido demonstrada em inúmeros grupos de invertebrados, incluindo copépodes (Bucklin *et al.*, 2003; Handschumacher *et al.*, 2010), colêmbolos (Hogg & Hebert, 2004), platelmintos (Curini-Galletti *et al.*, 2010), briozoários (e.g., Gómez *et al.* 2007; Fehlaer-Ale *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2011), bem como aves (Hebert *et al.*, 2004; Johnson & Cicero, 2004) e primatas (Lorenz *et al.*, 2005).

O grande volume de adesão a esta nova ferramenta vem trazendo reflexos importantes para a sistemática filogenética e para a genética de populações, já que os resultados dessas pesquisas são depositados em bancos de dados genéticos mundiais (GenBank, BOLD) e podem ser acessados por qualquer pesquisador para eventuais consultas e estudos (Hajibabaei *et al.*, 2007). Adicionalmente, marcadores mitocondriais como a subunidade ribossomal maior (16S rDNA) vêm sendo propostos como forma complementar à utilização do COI em alguns grupos de invertebrados (e.g., Nikulina *et al.*, 2007; Fehlaer-Ale *et al.*, 2011, 2014; Moura *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 2012), aumentando dessa forma a disponibilidade de caracteres potencialmente informativos para a diferenciação interespecífica (Roe & Sperling, 2007)

Observações morfológicas preliminares indicam que espécimes coletados no litoral paulista atribuídos a *Amathia* cf. *vidovici* e *Amathia* cf. *crispa* devam pertencer a espécies novas, quando comparados com o respectivo material tipo e com espécimes de outros estados brasileiros, da Europa e Austrália (L.M. Vieira, comunicação pessoal). Diferenças no tamanho, diâmetro dos estolões e zooides, bem como disposição destes ao longo do ramo, são variáveis também no material brasileiro relatado por Marcus (1937). Estas observações, aliadas com o conhecimento de plasticidade fenotípica

encontrada para espécies do gênero (Chimonides, 1987; Fehlauer-Ale *et al.*, 2011), sugerem que *A. cf. vidovici* e *A. cf. crispa* compreendem ao menos duas espécies distintas cada.

Dessa forma, este estudo visa o esclarecimento taxonômico das espécies mencionadas, através de uma revisão de espécimes com ocorrência ao longo do litoral brasileiro, baseando-se em análises morfológicas e moleculares.

## **OBJETIVOS**

a) Delimitar a identidade taxonômica de *Amathia cf. vidovici* e *Amathia cf. crispa*, a partir da caracterização morfológica de espécimes provenientes do litoral do Brasil, com base em material tipo, revisão de literatura e estudo de material proveniente de coleções de museus nacionais e internacionais.

b) Caracterizar molecularmente os espécimes coletados, através da obtenção de sequências de DNA dos genes mitocondriais COI e 16S rDNA, como ferramenta complementar à análise morfológica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Coleta e identificação morfológica*

Os espécimes de *Amathia* spp., separados em campo e preliminarmente identificados como *Amathia cf. crispa* e *Amathia cf. vidovici* segundo critérios utilizados por Winston (1982) e d'Hondt (1983), foram coletados em diversas localidades ao longo de uma ampla extensão do litoral brasileiro, de Fortaleza- CE (Marina Park, 3°38'57,14" S; 38°36'21,85" O) até Palhoça-SC (Ponta do Papagaio, 27°50'43,35"S; 48°34'48,54"O), efetuado em colaboração com diversos pesquisadores, principalmente: Larissa Akiko (UFF-RJ), Karine B. Nascimento (Zoologia-IBUSP), Licia S. Oliveira (Zoologia-IBUSP), Leandro M. Vieira (CEBIMar-USP; UFPE-PE), Karin H. Fehlauer-Ale (CEM-UFPR), Alvaro E. Migotto (CEBIMar-USP) e Etiene Clavico (UFF-RJ). O esforço amostral foi maior ao longo do litoral do estado de São Paulo, devido à facilidade de acesso e proximidade com o Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo (CEBIMar-USP), onde o material foi estudado.

As colônias foram coletadas manualmente, desde a região entremarés até o sublitoral raso (até 20 m), por meio de mergulhos livre e autônomo. Os espécimes amostrados foram fixados em etanol 92-100% e acomodados em tubos Falcon devidamente etiquetados. Exemplares vivos ou fixados foram fotografados sob estereomicroscópio ou microscópio binocular (câmera digital Sony HDR-250). Sempre que possível, de uma amostra (correspondente a uma colônia) até cinco amostras por localidade foram coletadas.

Diversos pesquisadores colaboraram com a obtenção de informação de espécimes depositados em coleções ao redor do mundo. Informações e detalhamentos sobre o material tipo da espécie *A. crispa*, depositado por Lamarck no museu de Paris (*Muséum National D'Histoire Naturelle*) foram obtidas. O curador do museu da Tasmânia (*Tasmanian Museum & Art Gallery*, Hobart, Tasmânia), fez a doação e envio de parte de uma amostra de *A. convoluta* do seu acervo, proveniente da localidade tipo da espécie. Este espécime foi utilizado para comparações, uma vez que *A. convoluta* é muito similar com *A. crispa*, ambas tendo sido consideradas anteriormente coespecíficas.

O departamento de Zoologia da Universidade de Innsbruck (Áustria), onde está depositada parte da coleção estudada Pelo Prof. Cam Heller (material do Mar Adriático), localidade do material tipo de *A. vidovici*, foi contatado e enviou informações dessa coleção, além de uma fotografia de um dos espécimes de *A. convoluta* (Lamouroux, 1816) [= *Amathia crispa* (Lamarck, 1816)] dessa coleção. Esse material não pode ser enviado para estudo por ser escasso e estar em mau estado de conservação.

O pesquisador Dennis Gordon (*National Institute of Water and Atmospheric Research*, Nova Zelândia) enviou amostras de outras espécies do gênero *Amathia* provenientes no Oceano Pacífico na região da Nova Zelândia. Por estarem fixadas em formol, não foi possível obter sequências dessas amostras para comparação; por serem de espécies muito distintas das em estudo, não foram incluídas nas análises. Judith Winston (*Virginia Museum of Natural History*, EUA) enviou uma colônia identificada como *Amathia vidovici* oriunda do Atlântico Norte, a qual foi depositada no museu de Zoologia da USP (MZUSP). Esta última foi incluída nas análises morfológicas e moleculares.

Literatura especializada, observação de espécimes coletados, e dos materiais oriundos das coleções científicas foram utilizados para o levantamento de caracteres morfológicos (e.g., Winston, 1982; d'Hondt, 1983; Chimonides, 1987; Souto *et al.*, 2010; Fehlauer-Ale *et al.*, 2011).

O estudo morfométrico foi baseado majoritariamente nos critérios propostos por Chimonides (1987). Para a mensuração dos caracteres morfológicos externos, as amostras foram colocadas em placas de Petri com água destilada, para minimizar o efeito de enrugamento causado pela fixação em etanol (92-100%), processo que deixa as colônias com aspecto similar ou muito próximo ao observado em condições naturais. As porções apicais das colônias não foram utilizadas para as medições por serem regiões de crescimento, cujas dimensões gerais e de seus componentes (zooides por exemplo) geralmente não atingiram seu tamanho ou número máximo.

Os organismos foram medidos em um microscópio estereoscópico (Wild M5) com ocular micrométrica. As variáveis mensuradas foram: (Ls) - Comprimento do estolão; (Ds) - Diâmetro do estolão; (Lz) - Comprimento do zooides; (Lz) - Largura dos zooides; (Lzg) - Comprimento do agrupamento de zooides; (As) - Ângulo da espiral (Ângulo de rotação do agrupamento ao longo do estolão). As variáveis merísticas foram também avaliadas, conforme: (Nz) - Número de pares de zooides por agrupamento; (Lzg/Ls) - Proporção linear de ocupação do estolão por zooides; (Ss) - Sentido da espiral no ramo filho; (R) - Presença de rizoide; (Rd) - Presença de rizoide distal; (Le) - Comprimento do embrião (Figura 1). Para cada característica mencionada, 15 medidas foram obtidas por colônia (exceto para as três últimas características), sendo que por localidade foram medidas até cinco colônias.



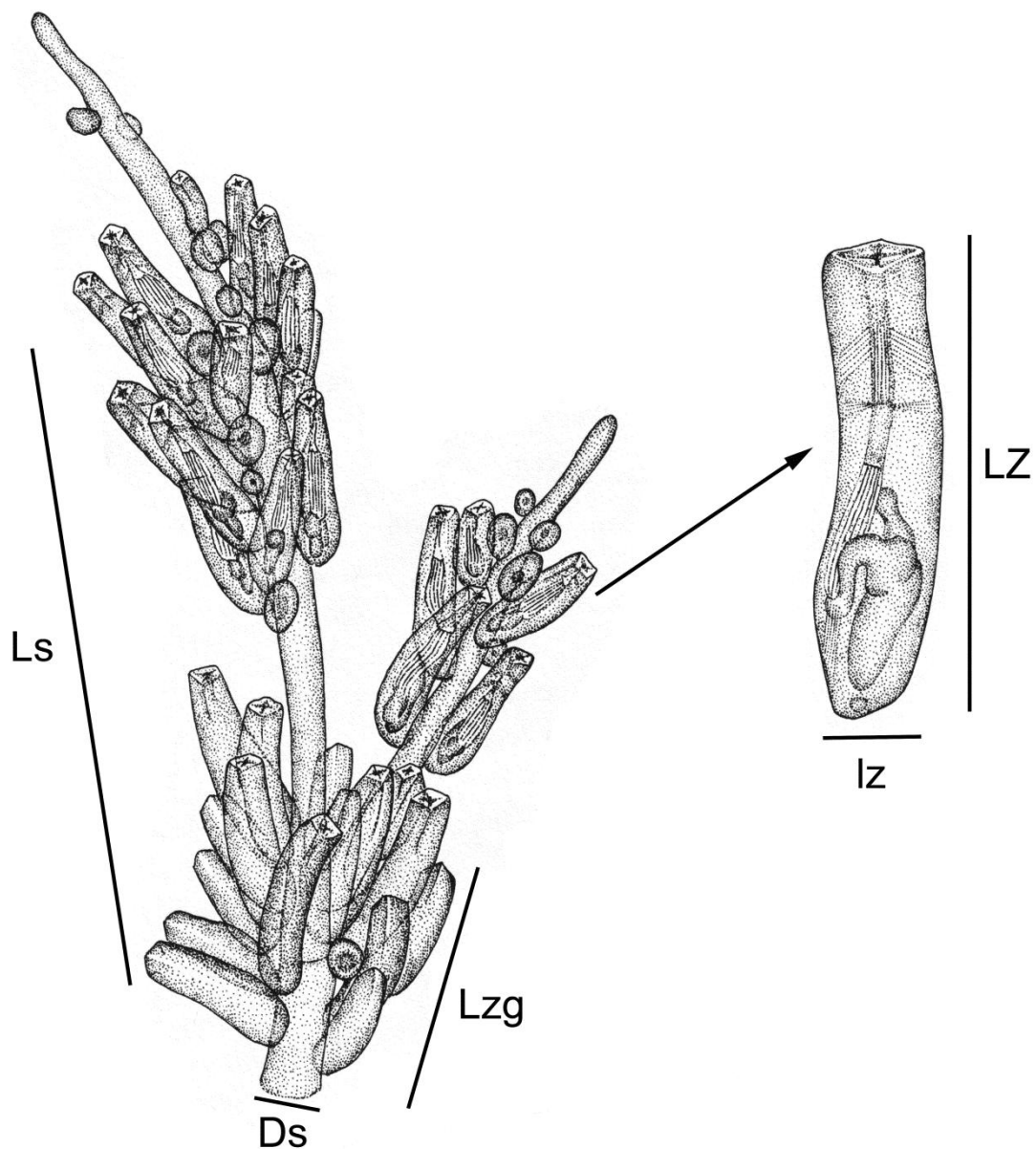


Figura 1: Algumas das características de *Amathia* spp. mensuradas: Ls - Comprimento do estolão; Lzg - Comprimento do agrupamento de zooides; Lz - Comprimento do zoide; lz - Largura do zoide; Ds - Diâmetro do estolão Adaptado de Hayward (1985, Figura 47b).

#### *Análises de dados morfológicos*

Os programas Primer 6 versão 6.1.13 (Clarke & Gorley, 2006) foram utilizados para a análise multivariada das oito variáveis selecionadas (seis mensuráveis e duas merísticas), a partir de 15 medidas efetuadas para cada variável por colônia. Os valores mínimo e máximo das características foram utilizados para as duas espécies de estudo,

bem como os valores médios e desvio padrão (Tabela 1 e 2, Apêndice). Antes de serem analisados, os dados foram normalizados a fim de padronizar as medidas de todas as características. Posteriormente, foi aplicada a função de semelhança baseada na distância euclidiana entre as amostras, gerando assim uma matriz triangular de similaridade onde todas as análises foram realizadas.

As análises de Escalonamento Multidimensional não métrico (nMDS) e de Classificação (CLUSTER) foram realizadas para ordenar e classificar as amostras com relação as suas similaridades (distância Euclidiana), quanto as variáveis morfológicas medidas. Para entender quais características contribuíram com maior importância para separação dos agrupamentos obtidos nas análises anteriores, foram utilizadas as análises de similaridade percentuais (SIMPER) e de Componentes Principais (PCA). No caso do PCA, a variabilidade total dos dados é resumida em um pequeno número de combinações lineares chamadas de componentes principais. Essas componentes são extraídas na ordem da mais explicativo para a menos explicativa, e representadas graficamente (Clarke, 1993; Clarke & Warwick, 2001).

Os resultados obtidos para *Amathia cf. vidovici* foram interpretados de acordo com o melhor entendimento dessas análises, utilizado a separação por Província Biogeográfica de cada amostra. Para isso, foram determinadas três ecorregiões biogeográficas ao longo do litoral brasileiro: Nordeste do Brasil (NB), Leste do Brasil (LB), ambas localizadas na província do Atlântico Tropical Sul Ocidental, e Sudoeste do Brasil (SB), pertencente à província do Atlântico Temperado-Quente Sul Ocidental (Spalding *et al.*, 2007). Para *Amathia cf. crispera*, foram utilizadas as próprias localidades de coleta, uma vez que todas as amostras estão contidas em uma mesma ecorregião (Sudeste Brasil - SB) e se restringem a uma localidade no Paraná (Ilha do Mel) e oito no estado de São Paulo (sete em São Sebastião e uma em Caraguatatuba).

#### *Obtenção de sequências de DNA*

As etapas de extração e preparo de reações para sequenciamento foram feitas nas dependências do Laboratório de Genética Molecular do CEBIMar, através de utilização de *kits* comerciais disponíveis.

Para a realização das extrações de DNA genômico (gDNA), uma porção das ramificações das colônias contendo zooides previamente identificadas e preservadas

em etanol (92-100%) foi removida. Segmentos dos genes mitocondriais COI (~1200pb) e 16S rDNA (~500pb) foram selecionados, uma vez que estes demonstraram ser úteis na delimitação de espécies de *Amathia* (Fehlauer-Ale *et al.*, 2011). O COI foi sequenciado para um segmento maior ao comumente utilizado em “DNA barcoding” (~600bp) a fim de aumentar a disponibilidade de caracteres potencialmente informativos para este gene.

O DNA genômico total (gDNA) foi extraído utilizando o kit *DNeasy Blood and Tissue Kit* (QIAGEN, Germantown, MD, USA). Segmentos dos genes mitocondriais citocromo c oxidase 1 (COI) (pontas 5' e 3'; a partir daqui denominadas o COI-5P e COI-3P, respectivamente) e 16S foram sequenciados para o material amostrado. As reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram feitas em volumes de 25µl, utilizando o kit *illustra puReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads* (GE Healthcare, Fairfield, CT, USA), seguindo condições previamente descritas (Fehlauer-Ale *et al.*, 2011; Waeschenbach *et al.*, 2012).

Detalhes dos *primers* utilizados, condições das reações de PCR e tamanho aproximado dos segmentos obtidos são fornecidos na Tabela III (Apêndice). Os produtos do PCR foram purificados com o *illustra GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit* (GE Healthcare). As purificações foram precipitadas com solução de etanol e ácido acético. O sequenciamento das fitas nas direções *forward* e *reverse* foi realizado em um sequenciador ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (HITACHI) (Serviço de Sequenciamento de DNA do Instituto de Química da Universidade de São Paulo - IQUSP), utilizando o fluoróforo *BigDye Terminator, version 3.1, Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Sempre que possível, duas colônias por local de amostragem foram sequenciadas para cada espécie definida morfológicamente. As fitas complementares foram alinhadas entre si e editadas no programa *CodonCode Aligner, version 4* (CodonCode Corporation, Dedham, MA, USA) para a geração de sequências. A identidade de cada sequência foi checada através da ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST; [www.ncbi.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/)).

As sequências obtidas para cada gene foram individualmente compiladas e alinhadas com as ferramentas do programa *Geneious Pro v7.0.2* (Drummond *et al.*, 2011) para a determinação de haplótipos. Sequências de COI foram traduzidas usando

o código genético mitocondrial de invertebrados, para eventual detecção de mutações *frameshift* (i.e., inserções ou deleções de nucleotídeos não múltiplos de três) e códons de parada prematuro, sendo nenhum destes detectados.

As sequências e os cromatogramas foram depositados no *Barcode of Life Database System* (BOLD), *version 3* (Ratnasingham & Hebert 2007) ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)), no projeto de acesso público BRBRY (*Bryozoa from Brazil (and other countries)*). O BOLD serviu como interface para aquisição de números de acesso no Genbank (Tabela 4 e 5, Apêndice).

### *Análises filogenéticas*

A validade das espécies alvo foi testada por métodos filogenéticos. As matrizes de sequências de DNA foram alinhadas separadamente por segmento de gene e espécie. Cada matriz foi alinhada no *MAFFT, version 5* (Katoh *et al.*, 2005), usando parâmetros *default* do programa.

Regiões ambíguas de alinhamento para o 16S foram excluídas através do servidor *Gblocks* ([http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks\\_server.html](http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks_server.html); Castresana, 2000), usando todas as opções disponíveis para uma seleção o menos rigorosa possível.

Os vesicularídeos *Zoobotryon verticillatum* delle Chiaje, 1828 (números de acesso Genbank 16S: JF490050\*; COI-5P: JF490060\*; COI-3P: KM373584\*\*), *Amathia brasiliensis* Busk, 1886 (números de acesso Genbank 16S: JF490051\*; COI-5P: JF490055\*), *Amathia cf. crispa* (números de acesso Genbank 16S: JF490052\*; COI-5P: JF490057\*; COI-3P: KM373521\*\*), *Amathia distans* Busk, 1886 (números de acesso Genbank 16S: JF490053\*; COI-5P: JF490058\*; COI-3P: KM373524\*\*) e *Amathia cf. vidovici* (números de acesso Genbank 16S: JF490054\*; COI-5P: JF490059\*; COI-3P: KM373559\*\*) foram selecionados para o grupo externo.

Não foi possível sequenciar COI-3P para *A. brasiliensis*. As sequências marcadas com \* foram retiradas de Fehlauer-Ale *et al.* (2011), e as sequências marcadas com \*\* foram retiradas de Waeschenbach *et al.* (em preparação) (Apêndice: Tabelas IV e V)

Adicionalmente às análises filogenéticas dos segmentos individuais (16S, COI-5P e COI-3P), duas análises filogenéticas dos segmentos concatenados também foram realizadas para cada uma das espécies alvo: uma para o gene COI (COI-5P+COI-3P) e

outra para 16S+COI. Os parâmetros *default* do programa *jModeltest version 0.1.1* (Guindon & Gascuel, 2003; Posada, 2008) foram utilizados para selecionar modelos de evolução separadamente para cada segmento de gene, através do *Akaike Information Criterion* (AIC). Os seguintes modelos recuperados para cada conjunto de dados foram utilizados: *Amathia cf. vidovici* (TPM2uf+G para 16S e COI-3P; TIM3+I+G para COI-5P); *Amathia cf. crispa* (TIM2+G para 16S; TIM3+I para COI-5P; TrN+G para COI-3P).

Todas as análises filogenéticas foram realizadas através de Inferência Bayesiana (BI) no programa *MrBayes, version 3.1.2* (Ronquist & Huelsenbeck 2003), utilizando parâmetros equivalentes ao modelos evolutivos obtidos no *jModeltest*: *nst=6* e *rates=equal* para a matriz COI-5P de *Amathia cf. crispa*; *nst=6, rates=gamma, ngammacat=4* para as demais análises.

Dois corridas com métodos de Monte Carlo via quatro cadeias de Markov (MCMC) foram utilizadas em cada análise, até o desvio padrão de frequências de divisão atingir valores abaixo de 0.01. Números distintos de gerações e amostragem foram utilizados por análise, descritos a seguir: 500,000 e 100 para todas as análises de *Amathia cf. crispa*; 2,000,000 e 1,000 para as matrizes de 16S e COI-5P de *Amathia cf. vidovici*; 3,000,000 e 1,000 para as matrizes de COI-3P e COI de *Amathia cf. vidovici*; 5,000,000 e 1,000 para a matriz de 16S+COI de *Amathia cf. vidovici*. Vinte e cinco por cento das gerações foram descartadas como *burn-in* em cada análise. Probabilidades posteriores Bayesianas (pp) >95% foram consideradas como suporte significativos dos clados.

## RESULTADOS

### *Coleta e identificação morfológica*

Das localidades amostradas ao longo do litoral brasileiro – 111 localidades em 30 municípios, entre outubro de 2012 a outubro de 2013 –, em 43 foi encontrada ao menos uma das espécies em estudo. A amostra mais ao norte foi obtida em Fortaleza-CE e a mais ao sul em Palhoça-SC, num total de 125 amostras (= colônias), das quais 107 referem-se a *A. cf. vidovici* (Figura 2; Apêndice: Tabela I) e 18 a *A. cf. crispa* (Figura 3; Apêndice: Tabela II).

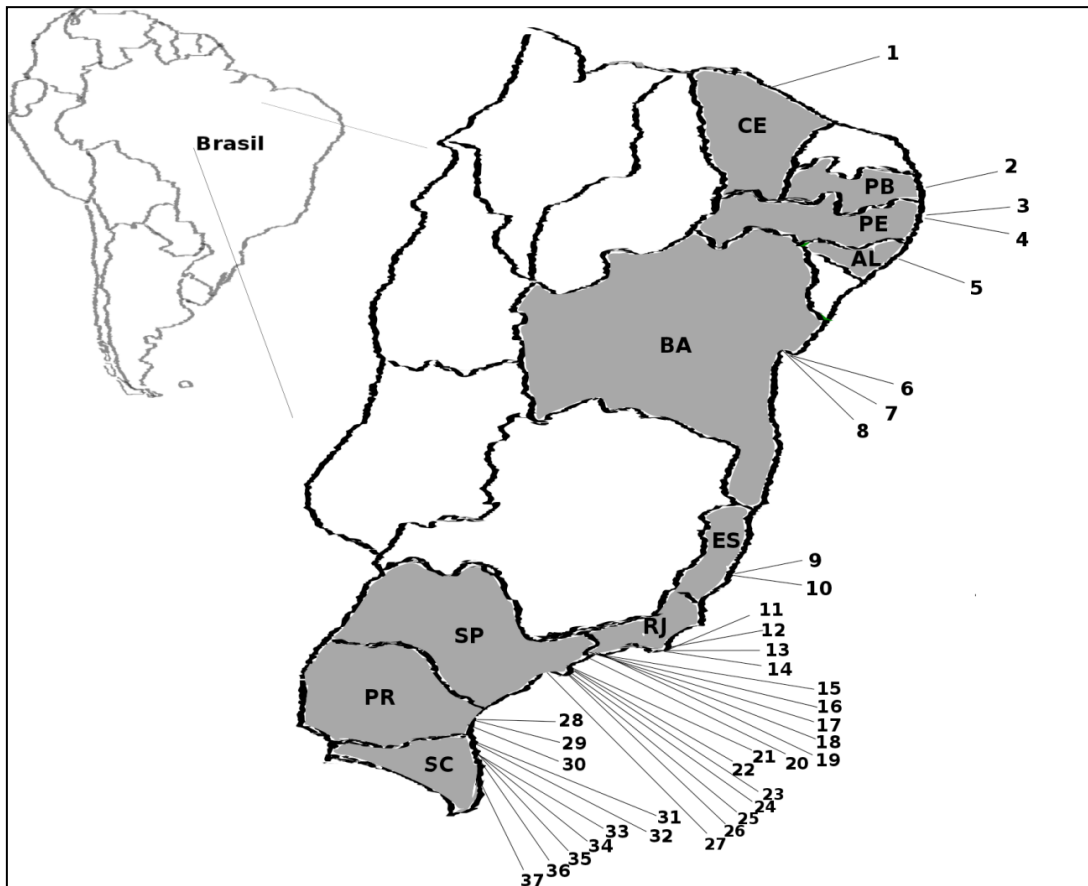


Figura 2: Localidades de amostragem de colônias de *Amathia* cf. *vidovici* ao longo do litoral brasileiro: 1. Marina Park, Fortaleza-CE; 2. Cabo Branco, João Pessoa-PB; 3. Boa viagem, Recife-PE; 4. Buraco da Velha, Recife-PE; 5. Francês, Maceió-AL; 6. Corredor da Vitória, Salvador-BA; 7. Ribeira, Salvador-BA; 8. Ferry Boat, Itaparica-BA; 9. Curva da Jurema, Vitória-ES; 10. Iate Clube ES, Vitória-ES; 11. Canal de Cabo Frio, Cabo Frio-RJ; 12. Ilha do Papagaio, Cabo Frio-RJ; 13. Flutuante do Forno, Arraial do Cabo-RJ; 14. Porto do Forno, Arraial do Cabo-RJ; 15. Laje Branca, Ilha Grande-RJ; 16. Penguino, Ilha Grande-RJ; 17. Matariz, Ilha Grande-RJ; 18. Araçatibinha, Ilha Grande-RJ; 19. Ubatubinha, Ilha Grande-RJ; 20. Marina Kauaí, Ubatuba-SP; 21. Martim Sá, Caraguatatuba-SP; 22. Camaroeiro, Caraguatatuba-SP; 23. Porto Novo, Caraguatatuba-SP; 24. Yatch Club Ilhabela, Ilhabela-SP; 25. Pontal da Cruz, São Sebastião-SP; 26. Praia Preta, São Sebastião-SP; 27. Riviera de São Lourenço, Bertioga-SP; 28. Morro do Sabão, Ilha do Mel-PR; 29. Farol das Encantadas, Ilha do Mel-PR; 30. Morro do Cristo, Guaratuba-PR; 31. Centro Histórico, São Francisco do Sul-SC; 32. Figueira, São Francisco do Sul-SC; 33. Paciência, Penha-SC; 34. Trapiche, Penha-SC; 35. Armação de Itapocorói, Penha-SC; 36. Poá, Penha-SC; 37. Ponta do Papagaio, Palhoça-SC.

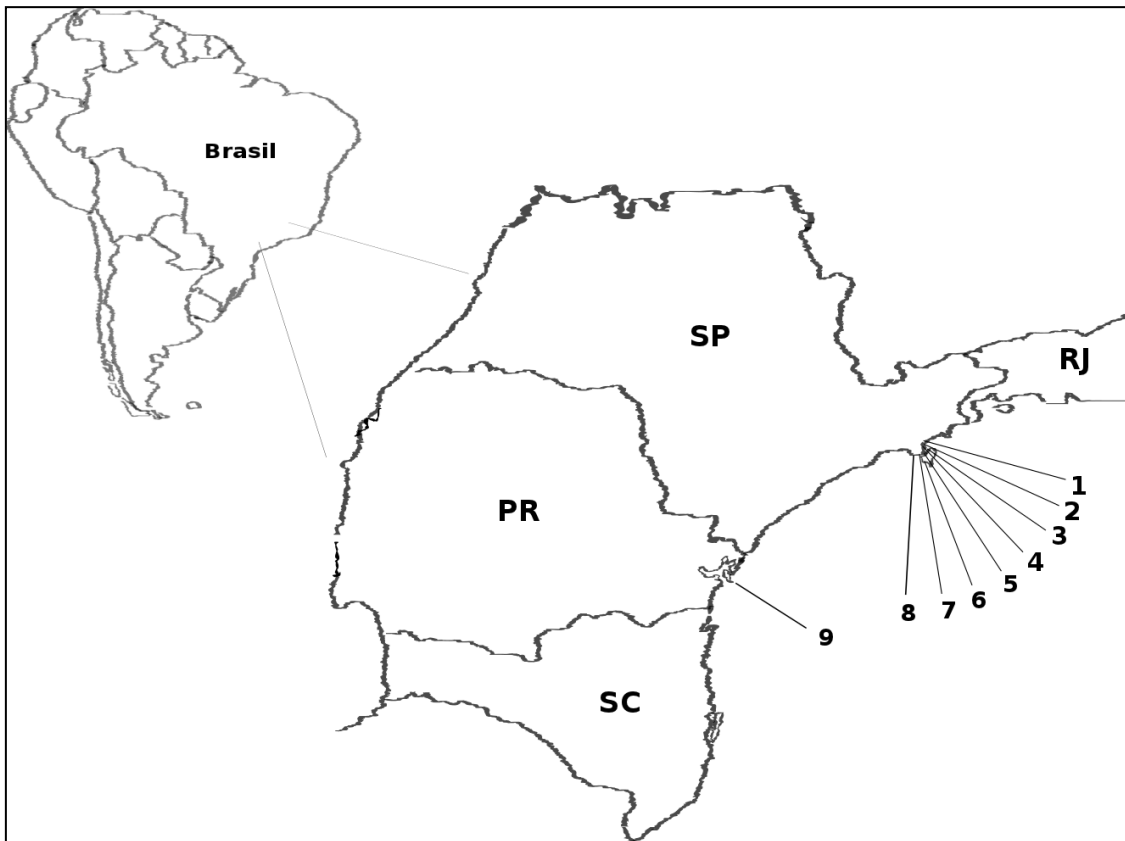


Figura 3: Localidades com amostragem de colônias de *Amathia cf. crisper*: 1, Porto Novo, Caraguatatuba-SP; 2. Araçá, São Sebastião-SP; 3. Praia Preta, São Sebastião-SP; 4. Praia Grande, São Sebastião-SP; 5. Pitangueiras, São Sebastião-SP; 6. Canal, São Sebastião-SP; 7. Zimbro, São Sebastião-SP; 8. Guaecá, São Sebastião-SP; 9. Morro do Sabão, Ilha do Mel-PR.

Atracadouros e outras estruturas náuticas (de madeira, cimento ou borracha) e rochas foram os substratos sobre os quais as colônias foram encontradas mais vezes, seguidos por substratos do entremarés, cordas, boias, garrafas, placas, lixo, além de colônias em associação com macroalgas e de briozoários (Tabela 1).

Colônias de *A. cf. vidovici* tiveram uma ampla distribuição de amostragem, sendo encontradas no litoral de diversos estados do país (CE, PB, PE, AL, BA, ES, RJ, SP, PR e SC), mais comumente nos estados do RJ, SP e SC, onde o esforço de coleta foi maior. Por outro lado, a espécie *A. cf. crisper* foi encontrada somente em localidades de dois municípios do estado de São Paulo (São Sebastião e Caraguatatuba) e em uma localidade do estado do Paraná (Ilha do Mel) (Figura 4). *Amathia cf. crisper* foi encontrada somente no inverno e *A. cf. vidovici* durante o ano todo.

Tabela 1: Substratos em que foram encontradas colônias dos agrupamentos *Amathia* cf. *vidovici* e *Amathia* cf. *crispa*.

Substrato	<i>Amathia</i> cf. <i>vidovici</i>	<i>Amathia</i> cf. <i>crispa</i>
Boia	6	0
Cabos e estruturas de embarcações	4	0
Algas e colônias arribadas em praias arenosas	4	2
Pilastras do Pier	44	0
Placas de recrutamento	3	0
Rochas	16	4
Concha de ostra	1	0
Casco de navio	3	0
Seixos	12	11
Cabos de náilon e garrafas plásticas	8	0
Associados a outros briozoários ou algas	9	1

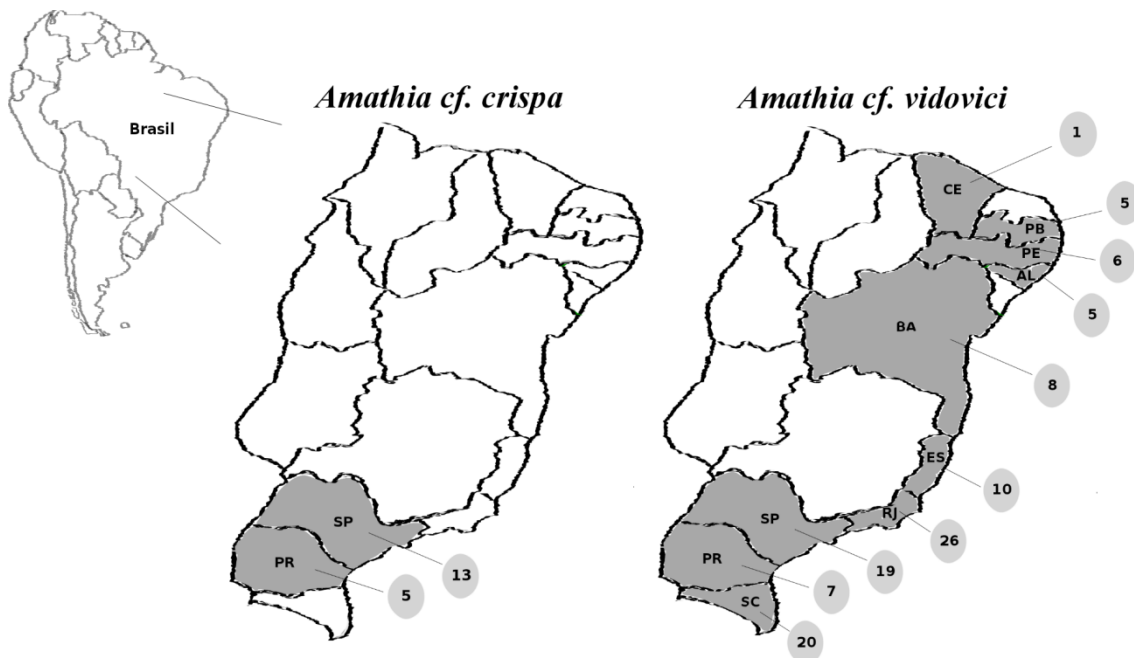


Figura 4 - Número de colônias coletadas por estado da federação para *Amathia* cf. *crispa* e para *Amathia* cf. *vidovici* ao longo do litoral do Brasil.

### Espécies do grupo *Amathia* cf. *vidovici*

#### *Análise morfológica de dados*

A análise de classificação (CLUSTER) e análise de Escalonamento Multidimensional não métrico (nMDS) utilizando Min-Máx sugerem, na comparação entre todas as amostras coletadas para o litoral brasileiro, que o táxon previamente considerado como *A. cf. vidovici* compreende duas espécies: *Amathia vidovici* (Heller,



1867) e *Amathia* sp. nov. 1, esta última referente às colônias provenientes de Vitória-ES/Cabo Frio-RJ (para melhor entendimento este grupo foi nomeado LBEN – Leste Brasil Espécie Nova) pertencentes a ecorregião Leste Brasil. Boa parte dessas amostras estão contidas no Grupo 1, o mais divergente da análise de CLUSTER (Figura 5, 6), e pela separação das amostras das mesmas localidades para o nMDS (Figura 9, a esquerda).

O PCA e o Simper destacaram as características que contribuíram para tal separação, confirmadas pelas diferenças encontradas na mensuração das colônias desse grupo (Tabela 2). O eixo PC2 (análise do PCA) revela que as características Ângulo da espiral (As; Min-Máx), Proporção Linear de ocupação do estolão por zooides (Lzg/Ls; Min-Máx) e Número de pares de zooides (Nz; Min-Máx) foram as responsáveis pela diferenciação e agregamento deste grupo em comparação com as demais colônias (Figura 10).

Tabela 2: Amplitude de variação (min-máx) para as características mensuradas de *Amathia vidovici* e *Amathia* sp. nov. 1: Ls - Comprimento do estolão; Lzg - Comprimento do agrupamento de zoóide; Ds - Diâmetro do estolão; Lz - Comprimento do autozoóide; lz - Largura dos zooides; Nz - Número de pares de zooides; As - Ângulo da espiral.

	<i>Amathia vidovici</i>			<i>Amathia</i> sp. nov. 1
	Nordeste Brasil NB	Leste Brasil LB	Sudeste Brasil SB	Leste Brasil LBEN
Ls (mm)	1,023 – 1,926	1,144 – 2,348	1,084 – 2,589	1,625 – 2,709
Lzg (mm)	0,421 – 1,023	0,421 – 1,204	0,482 – 1,565	0,783 – 1,746
Lzg/Ls (%)	25,00 – 65,00	27,59 – 61,29	26,67 – 74,29	37,50 – 72,73
Ds (mm)	0,107 – 0,214	0,119 – 0,202	0,107 – 0,226	0,131 – 0,214
Lz (mm)	0,321 – 0,583	0,357 – 0,631	0,286 – 0,607	0,369 – 0,631
lz (mm)	0,071 – 0,107	0,071 – 0,119	0,071 – 0,131	0,083 – 0,119
Nz (n°)	7 – 12	8 – 12	7 – 14	9 – 15
As (°)	340 – 370	340 – 380	340 – 380	350 – 420

Para o Simper (com distancia média quadrada = 11,79) as características Ângulo de rotação do agrupamento Máx (11,07%), Proporção Linear Min (9,03%), Número de pares de zooides Min (7,98%), Comprimento da Espiral Min (7,92%) foram as que mais contribuíram para a definição do agrupamento LBEN.

Sob a mesma análise, quando o agrupamento Vitória-ES/Cabo Frio-RJ (LBEN – Leste Brasil Espécie Nova) é comparado independentemente com os agrupamentos NB, LB e SB, observa-se grande dissimilaridade entres eles (54,00; 39,90; 37,52, respectivamente), o que reforça a divergência de LBEN com relação aos demais, indicando a existência de uma nova espécie.

As análises de CLUSTER e nMDS revelaram que as amostras do agrupamento LB formam dois grupos: um assemelhado em parte ao agrupamento NB (Figura 8, grupo 3; Figura 9), e outro agrupamento SB (Figura 9).

As características que mais contribuíram para a similaridade das colônias do agrupamento LB foram: Comprimento dos zooides Min-Máx (7,61-8,62%), Comprimento da espiral Máx (8,38%) e Número de pares de zooides Min (7,18%).

O PCA segue a mesma linha, o eixo principal (PC1) evidencia a ampla variação morfométrica das colônias de LB, enquanto que o PC2 acrescenta, em relação ao Simper, algumas características que reforçam a dissimilaridade entre LB e LBEN: Largura do zooide (Ls; Min-Máx), Diâmetro do estolão (Ds; Máx), Comprimento do autozooide (Lz; Min-Máx).

A análise de CLUSTER para todas as amostras revelou uma divisão em 3 grandes grupos: Grupo 1 (já abordado acima possuindo amostras da LBEN), mais divergente com oito amostras LB e cinco amostras SB, totalizando 13 amostras; Grupo 2: 14 amostras LB e 16 SB, num total de 30 amostras; Grupo 3: 17 amostras NB, 10 LB e 35 SB, num total de 62 amostras. Duas amostras do agrupamento SB não se agrupam com nenhum desses grupos (Grupos 1, 2, 3), formando terminais individualizados (na figura 5 estão entre o Grupo 1 e Grupo 2) (Figura 5, 6, 7, 8).

As colônias NB apresentaram as menores medidas de todas as características mencionadas para todas as amostras (Tabela 2; Apêndice, Tabela I). A análise nMDS utilizando os dados Min-Máx indica que as amostras desse agrupamento possuem maiores similaridades entre si do que em relação principalmente a LB (exceto para a maioria das amostras da BA contidas em LB) que possui as colônias mais divergentes,

como aquelas que representam uma espécie nova (LBEN - Leste Brasil Espécie Nova) como ilustrado na Figura 9.

Através da Análise de Classificação (CLUSTER) utilizando Min-Máx, nota-se que todas as amostras NB (total de 17) estão dentro do Grupo 3, sendo que a maioria destas está mais proximamente relacionada entre si do que com o restante do grupo (Figura 8).

A análise de Simper enfatiza o agrupamento NB (distância média quadrada igual 8,90) sendo as características Diâmetro do estolão Min-Máx (10,12-13,17%) e Proporção linear do agrupamento Min-Máx (10,44-11,90%) as que mais contribuíram para a similaridades das amostras dessa ecorregião.

O PCA corrobora as análises anteriores, o eixo principal PC1 mostrou que o agrupamento NB, está relativamente separado dos agrupamentos LB e parte de SB (as amostras do Paraná se agruparam com as da Nordeste Brasil) (Figura 10).

O resultado do nMDS para o agrupamento SB mostra a tendência dos pontos de se dispersarem e distanciarem-se uns dos outros em função das medidas de Min-Máx (Figura 9), indicando que as características mensuradas apresentam grande variação (Tabela 2; Apêndice: Tabela I). No entanto, SB agrupa-se mais proximamente às colônias NB do que com as LB (Figura 9).

A análise de CLUSTER evidencia uma ampla variação morfométrica quando se considera o conjunto de todas as amostras de SB (Figura 5). Nota-se um agrupamento maior (Figura 5 e 8) que contém todas as amostras do Paraná e a maioria das amostras de São Paulo e Santa Catarina. O Simper revela que as características Número de pares de zooides Máx (6,89%), Comprimento do estolão Máx (7,04%), Comprimento do autozoóide Min (7,19%) e Diâmetro do estolão Máx (7,29%) são as que mais contribuíram para a similaridade do agrupamento SB. O PCA reforça essa conclusão (Figura 10).

A análise Simper indica que SB e NB se distanciam consideravelmente (média de 32,80), sendo que Largura zooides Min-Máx (9,85-12,27%), Ângulo de rotação do agrupamento Máx (8,42%) e Diâmetro do estolão Máx (6,70%) são as características que mais contribuíram para a separação desses grupos. Ainda sob a mesma análise, LB e SB se distanciam um pouco menos (média de 27,55), sendo as características

Número de pares de zooides Min-Máx (7,24-9,27%) e Comprimento de zoóide Min-Máx (7,84-7,71%) as que mais contribuíram para a distinção de tais agrupamentos.

NB e LB se comportam de forma similar ao anterior (média de 26,99), sendo que Largura dos zooides Mín-Máx (12,10-11,41%) e Comprimento do zoóide Min-Máx (9,25-7,45%) são as características determinantes para a definição desses agrupamentos.

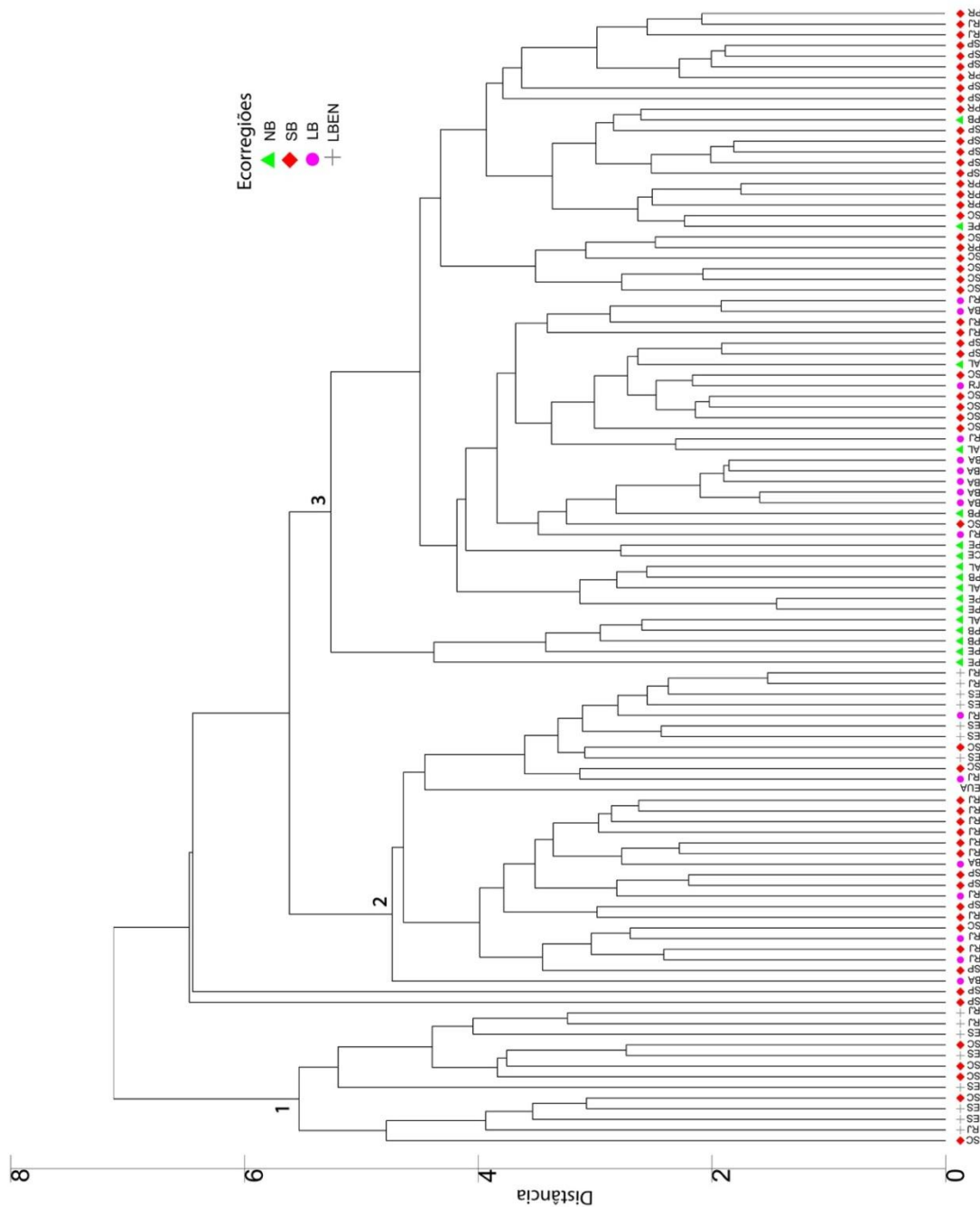


Figura 5: Análise de Cluster das utilizando valores Min-Máx das características das colônias do agrupamento *Amathia cf. vidovici*; as amostras estão contidas em Ecorregião: NB - Nordeste Brasil, LB - Leste Brasil, LBEN – Leste Brasil Espécie Nova, SB – Sudeste Brasil; Estados da Federação representados pelas iniciais; e em grupos: 1 – Grupo 1; 2 – Grupo 2; 3 – Grupo 3.

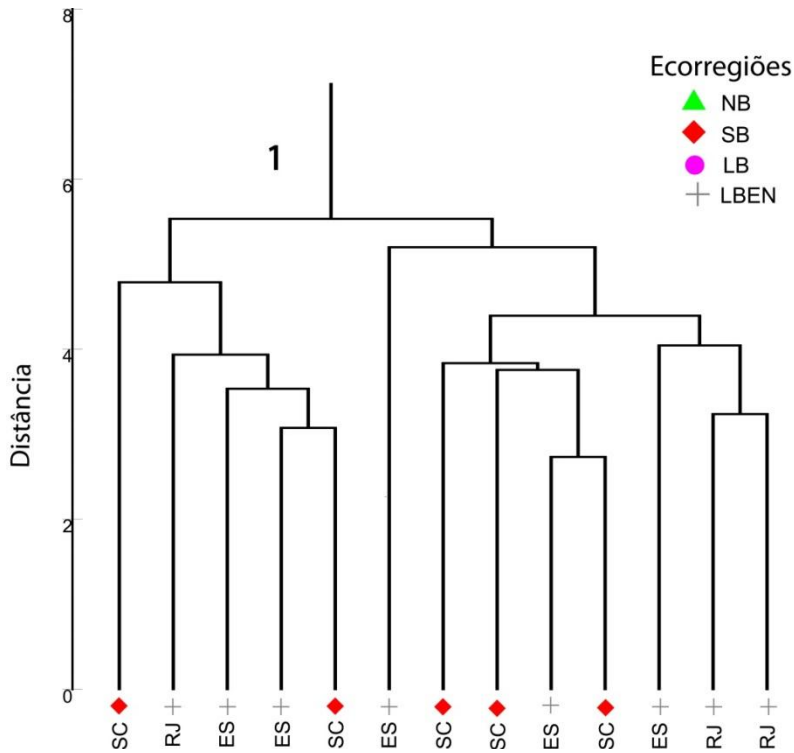


Figura 6: Análise de Cluster *Amathia* cf. *vidovici*. Grupo 1, contém a maioria das amostras de *Amathia* sp. nov.1, LBEN – Leste Brasil Espécie Nova; e da ecorregião SB – Sudeste Brasil.

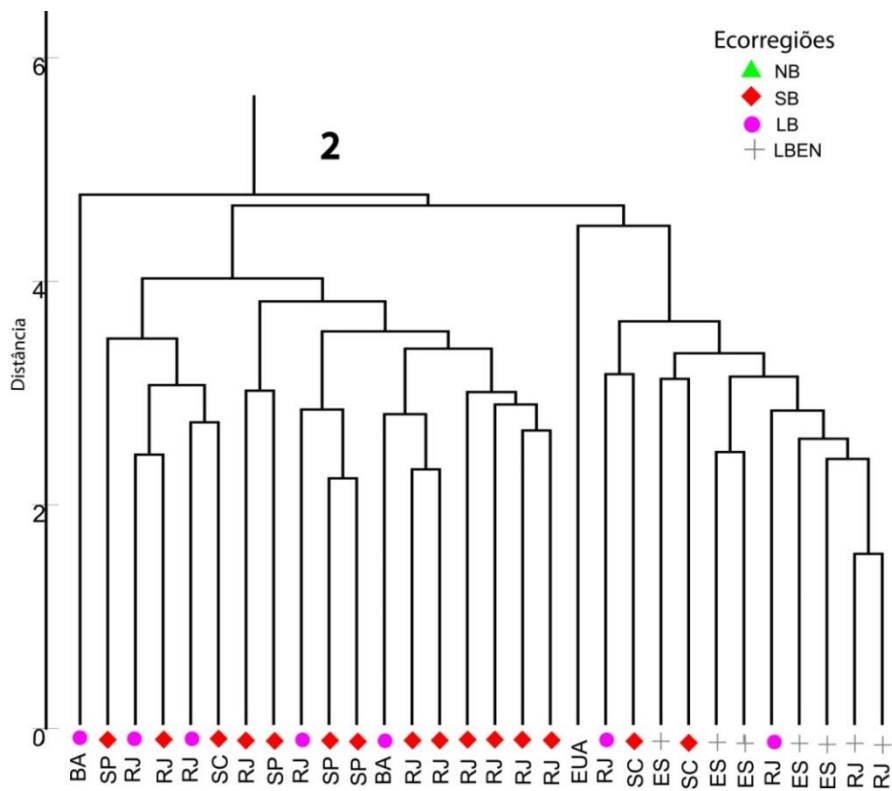


Figura 7: Análise de Cluster *Amathia* cf. *vidovici*. Grupo 2: contém amostras de *Amathia* sp. nov.1, LBEN – Leste Brasil Espécie Nova; LB – Leste Brasil e SB – Sudeste Brasil.

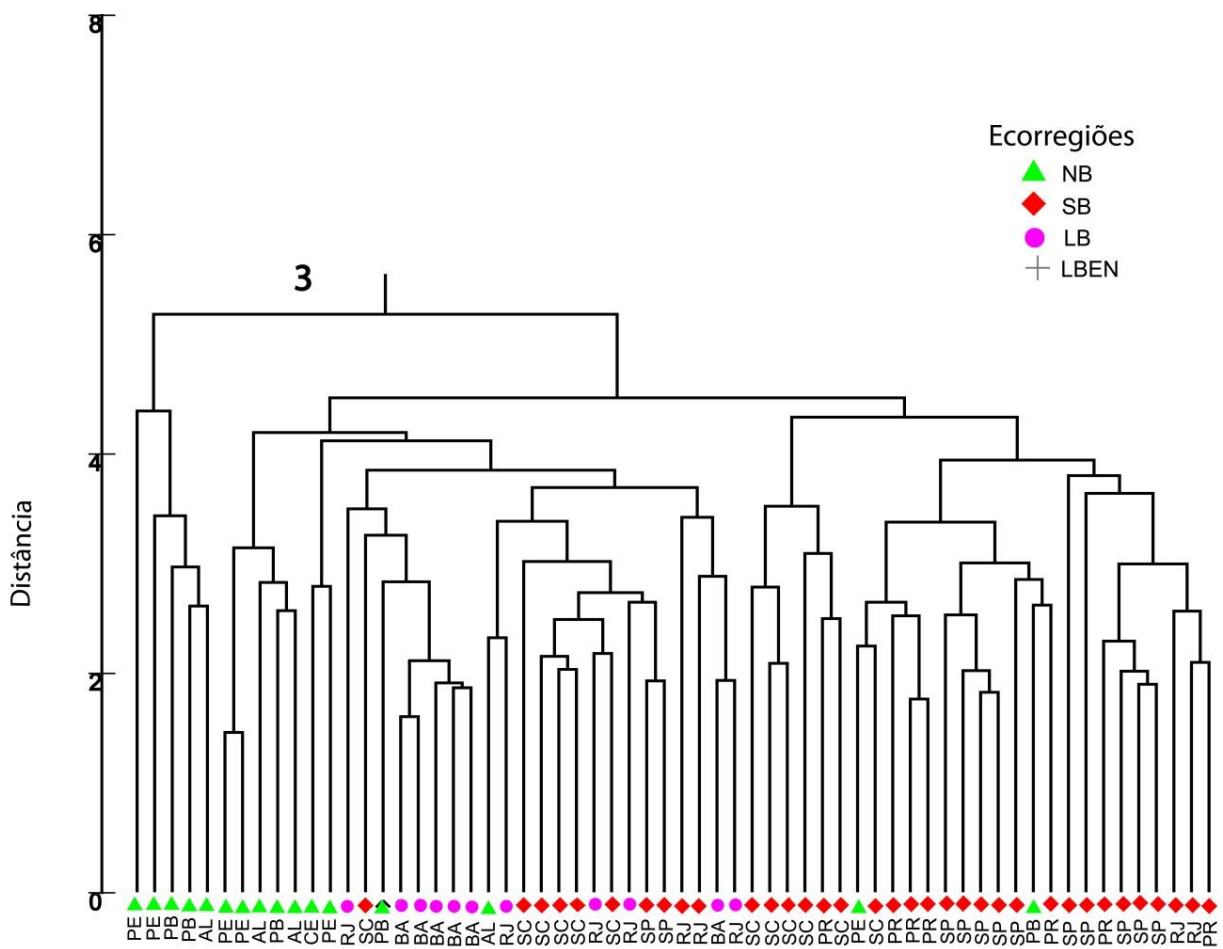


Figura 8: Análise de Cluster *Amathia cf. vidovici*. Grupo 3: contém amostras da ecorregião NB – Nordeste Brasil, LB – Leste Brasil e SB – Sudeste Brasil.

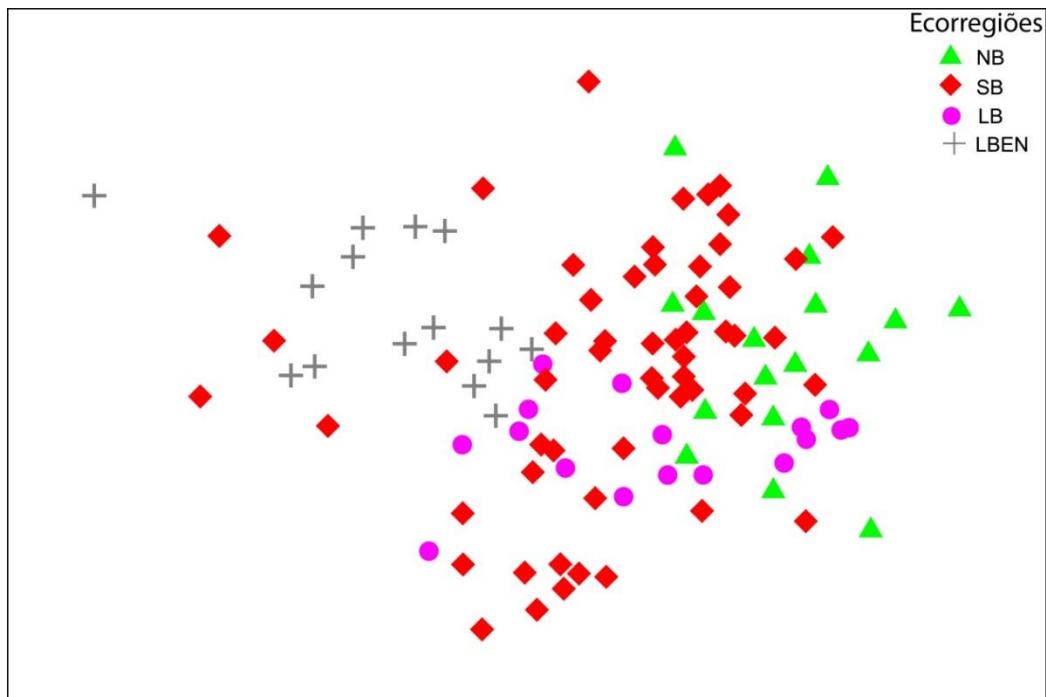


Figura 9 - Análise nMDS utilizando os valores Min-Máx das características de *Amathia* cf. *vidovici* por Ecorregião: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; LBEN – Leste Brasil Espécie Nova; SB – Sudeste Brasil.

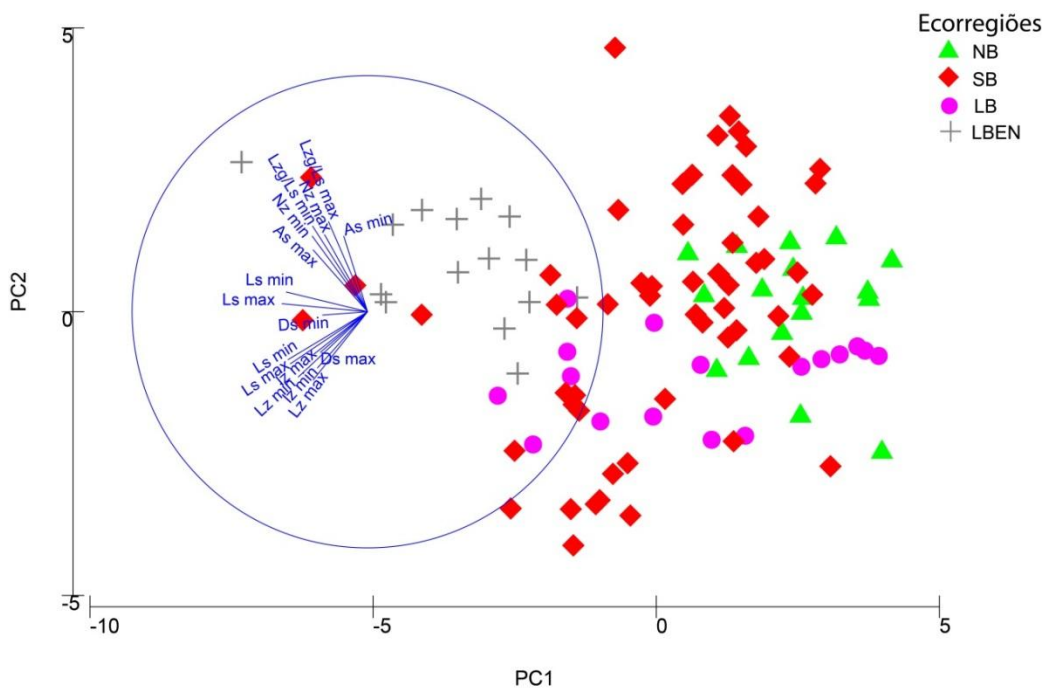


Figura 10 – Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando valores Min-Máx das características de *Amathia* cf. *vidovici* por Ecorregião: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; LBEN – Leste Brasil Espécie Nova; SB – Sudeste Brasil. Para o PC2 as variáveis que deslocaram as colônias para cima no gráfico foram: Lzg/Ls - Proporção Linear de ocupação dos zooides(Min-Máx); As - Ângulo da espiral (Min-Máx); Nz - Número pares de zoóide (Min-Máx), e para baixo no gráfico: Diâmetro do estolão (Máx), Comprimento do zoóide (Min-Máx), Lz – Largura do zoóide (Min-Máx).

## *Análise molecular de dados*

165

O grupo interno foi composto por 60 sequências, das quais 56 foram obtidas para este estudo e quatro retiradas de publicação prévia (Apêndice: Tabela IV). O comprimento das sequências sem gap do grupo interno variou entre 392 e 817 pb, e 34 haplótipos foram encontrados. No alinhamento final incluindo o grupo externo, o Gblocks removeu 45% do alinhamento original de 930 bp, deixando 519 pb; destes, 201 pb (38,72%) foram variáveis.

Parece haver certa estruturação geográfica das amostras oriundas da região nordeste do Brasil, contidas em um grupo que inclui todas as sequências do agrupamento NB, junto com a maioria das sequências oriundas de amostras da Bahia. As sequências de SB também se agruparam; o mesmo se viu para as colônias da LBEN (Leste Brasil Espécie Nova), contidas em um clado distinto.

A análise filogenética deste gene sugere que *A. cf. vidovici* é um complexo de ao menos duas espécies, uma delas formada por terminais compondo o grupo 4, e outra pelos grupos 1, 2 e 3 (Figura 11). O grupo 4 é formado por seis sequências (quatro haplótipos diferentes) abrangidas na ecorregião Leste Brasil, sendo quatro de Vitória-ES e duas de Cabo Frio-RJ, referente ao agrupamento previamente observado, denominado LBEN (Leste Brasil Espécie Nova).

As demais sequências estão distribuídas ao longo dos outros três clados: grupo 1, composto por 28 sequências, agrupando somente as colônias de SB (quatro sequências do RJ; dez de SP; oito do PR; seis de SC); grupo 2, formado por sete sequências de NB (duas de AL; duas da PB três de PE), quatro de LB (BA) e quatro de SB (SC), perfazendo um total de 15 terminais; Grupo 3 formado por seis amostras de SB (quatro do RJ; duas de SP), duas de LB (RJ) e uma sequência dos EUA. Uma sequência única (NB, CE) situa-se entre os grupos 2 e 3 (Figura 11).

### *COI-5P*

O grupo interno incluiu 64 sequências, das quais 62 foram obtidas para este estudo e duas foram retiradas de publicação prévia (Apêndice: Tabela IV). O



comprimento das sequências do grupo interno variou entre 416 e 672 pb, e 25 haplótipos foram encontrados. O comprimento do alinhamento final incluindo o grupo interno foi de 672 pb; destes, 504 foram sítios idênticos (75%) e 168 sítios variáveis (25%).

Da mesma forma que para o gene anterior, parece haver uma estrutura geográfica que neste caso está mais bem estabelecida. Para o COI-5P, todas as amostras de NB estão agrupadas, incluindo quase todas as sequências do estado da Bahia (exceto uma). As sequências de SB também se agruparam entre si; o mesmo se viu para as colônias da LBEN, contidas em clado único e mais divergente de todas as outras amostras.

Assim, esta análise demonstra que *A. cf. vidovici* é um complexo de ao menos duas espécies, destacando-se um terminal (Grupo 4) contendo seis sequências (quatro de Vitória-ES e duas de Cabo Frio-RJ) fortemente relacionadas entre si, quando comparadas com as demais sequências do clado. A análise do gene 16S recupera essas sequências em um mesmo grupo, acrescidas de uma da Bahia e uma de SC, totalizando oito para o Grupo 4.

O Grupo 1 é formado por quatro sequências de LB (RJ), oito de SB (quatro de SP; quatro do RJ) e um terminal individualizado da amostra dos EUA, num total de 13; o Grupo 2 é formado por sete sequências de NB (uma CE; duas PB; três PE, duas AL) e 3 de LB (BA), mais um terminal individualizado NB, totalizando onze; o Grupo 3 agrupou 31 amostras, todas SB (quatro RJ; onze SP; oito PR; oito SC (Figura 12).

#### *COI-3P*

O grupo interno totalizou 46 sequências, todas obtidas para este estudo (Apêndice: Tabela IV). O comprimento das sequências no grupo interno variou entre 544 e 590 pb, e 22 haplótipos foram encontrados. O comprimento do alinhamento final incluindo o grupo externo foi de 590 pb, com 304 sítios idênticos (51,5%) e 286 sítios variáveis (48,5%).

Da mesma forma que as análises anteriores, parece haver uma estrutura geográfica igualmente representada.

Esse gene forma também um clado separado (Grupo 4) de mesma localidade (Cabo Frio-RJ), indicando a possibilidade da existência de pelo menos duas espécies

para o táxon *A. cf. vidovici*. Embora para este gene o grupo contenha apenas duas sequências que se referem a amostras definidas no mesmo grupo pelos genes 16S e COI-5P.

Nesta análise, define-se o Grupo 1, formado por nove sequências, sendo seis NB e três de LB; um Grupo 2, que possui quatro amostras de LB (quatro RJ) e onze de SB (10 RJ e um de SP), num total de 15; o Grupo 3, o maior, contém 20 sequências, todas de SB (quatro do RJ; oito de SP; três do PR; cinco de SC) (Figura 13).

### *COI*

A análise combinada dos segmentos do gene COI incluiu 67 terminais no grupo interno, dos quais ao menos uma partição de gene foi sequenciada. O comprimento do alinhamento final foi de 1262 pb, incluindo os terminais do grupo externo.

A análise concatenada dos genes COI-5P e COI-3P revelam uma possível estrutura geográfica, como já mencionado. As sequências de NB estão todas contidas em um clado que inclui quase todas as sequências do estado Bahia (exceto uma).

As sequências de SB também se agruparam. O mesmo se observa para as colônias de LB, mas neste caso com um número menor de sequências provenientes de amostras de outras ecorregiões. Observa-se também um grupo único e divergente, com sequências provenientes da mesma ecorregião (LBEN).

A análise filogenética concatenada do COI também revelou um terminal distinto (Grupo 4), como descrito anteriormente (16S, COI-5P e COI-3P individualmente), mas de forma mais clara e robusta. O Grupo 4 contém 8 sequências, sendo quatro de Vitória-ES, duas de Cabo Frio-RJ, uma da BA e uma de SC.

O Grupo 1 é formado por quatro sequências LB (quatro RJ), 11 SB (RJ), e um terminal individualizado (sequência dos EUA), num total de 16. O Grupo 2 é formado por um subgrupo com 8 sequências de NB (uma CE; duas PB; três PE; duas AL) e três de LB (BA), e um terminal individualizado NB, totalizando 11; o Grupo 3 agrupa 31 amostras, todas de SB (quatro RJ; 11 SP; oito PR; oito SC) (Figura 14).

### *16S+COI*

A análise combinada dos segmentos dos genes 16S+COI totalizou 68 terminais no grupo interno, dos quais ao menos uma parte do gene foi sequenciada. Quando

não se conseguiu o sequenciamento dos três fragmentos, utilizou-se somente um (16S, COI-5P ou COI-3P) ou dois fragmentos (16S e COI5P, 16S e COI-3P, COI-5P e COI-3P). O comprimento do alinhamento final foi de 1780 pb, incluindo os terminais do grupo externo.

A análise concatenada para os três genes (16S, COI-5P e COI-3P) mostra haver uma clara estruturação geográfica, conforme indicada pelas análises individuais dos três genes estudados. Os agrupamentos definidos morfológicamente NB, SB e, sobretudo, LBEN foram também recuperados por meio desta análise molecular concatenada.

Como nas outras análises, o Grupo 4 mostra-se fortemente coeso, com as mesmas 6 sequências oriundas de LBEN (4 de Vitória-ES e 2 de Cabo Frio-RJ). No entanto, duas amostras que aparecem dentro do Grupo 4 (uma BA e uma SC) nas análises dos genes COI-5P e concatenada de COI (COI-5P e COI-3P), posicionam-se externamente a esse grupo na análise combinada 16S+COI (Figura 15).

As demais sequências se agruparam em um clado único que se divide em três: Grupo 1, formado por quatro sequências de LB (quatro RJ) e onze de SB (RJ), totalizando 15, mais uma amostra dos EUA (amostra MZUSP) num terminal distinto. O Grupo 2 é formado por sete sequências de NB (duas PB; duas PE, duas AL), três de LB (BA) e uma de SB (SC), mais um terminal individualizado de NB (CE), totalizando 13. O Grupo 3 agrega 31 amostras, todas de SB (quatro RJ; onze SP; oito PR; oito SC) (Figura 15).

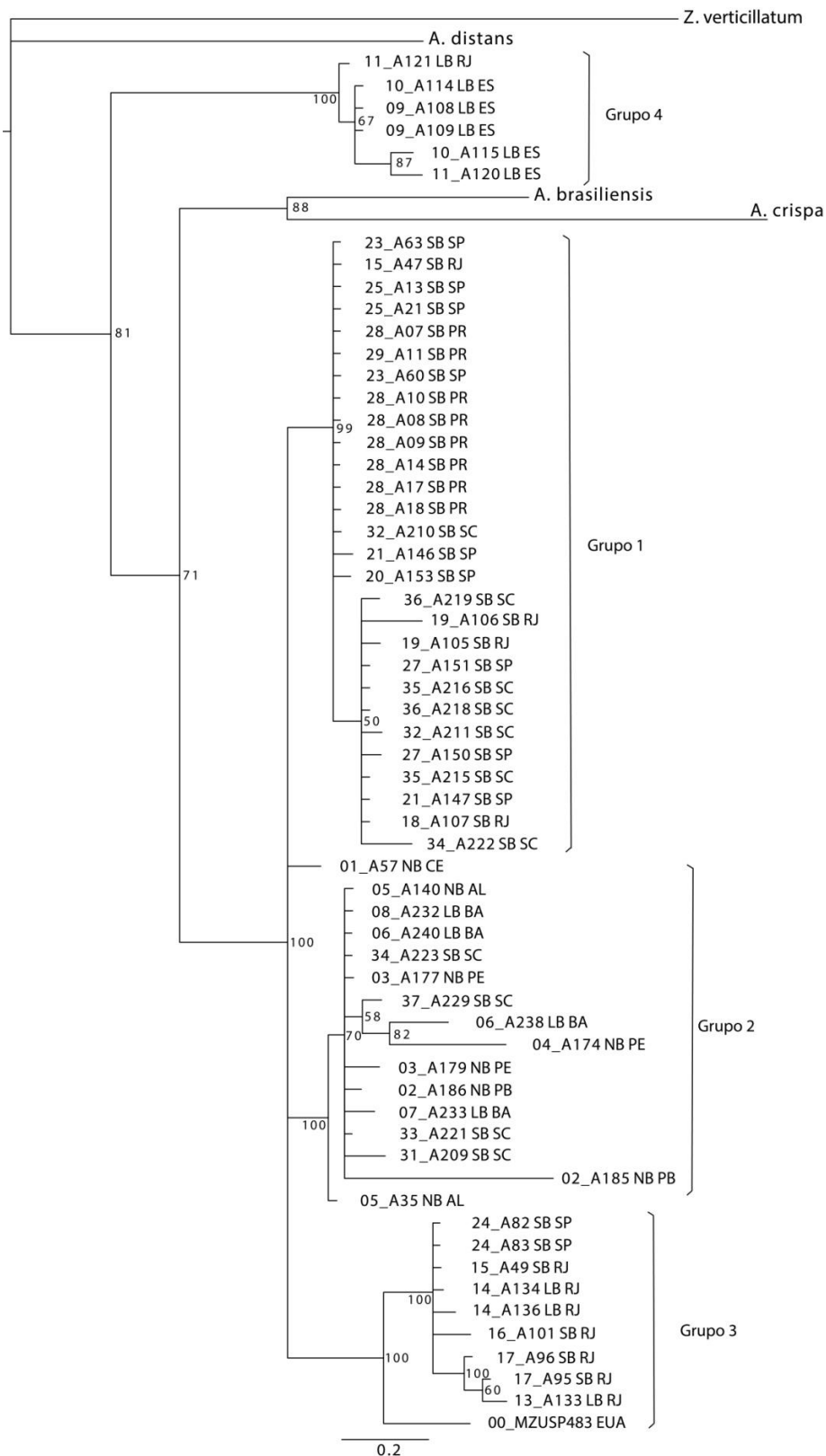


Figura 11 – Análise filogenética do gene 16S para *Amathia cf. vidovici*, cada sequência está representada pelo código da amostra, ecorregião e estado da federação. Ecorregiões: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; SB – Sudeste Brasil. Estados da federação: Ceará-CE; Paraíba-PB; Pernambuco-PE; Alagoas-AL; Bahia-BA; Espírito Santo-ES; Rio de Janeiro-RJ; São Paulo-SP; Paraná-PR; Santa Catarina-SC.

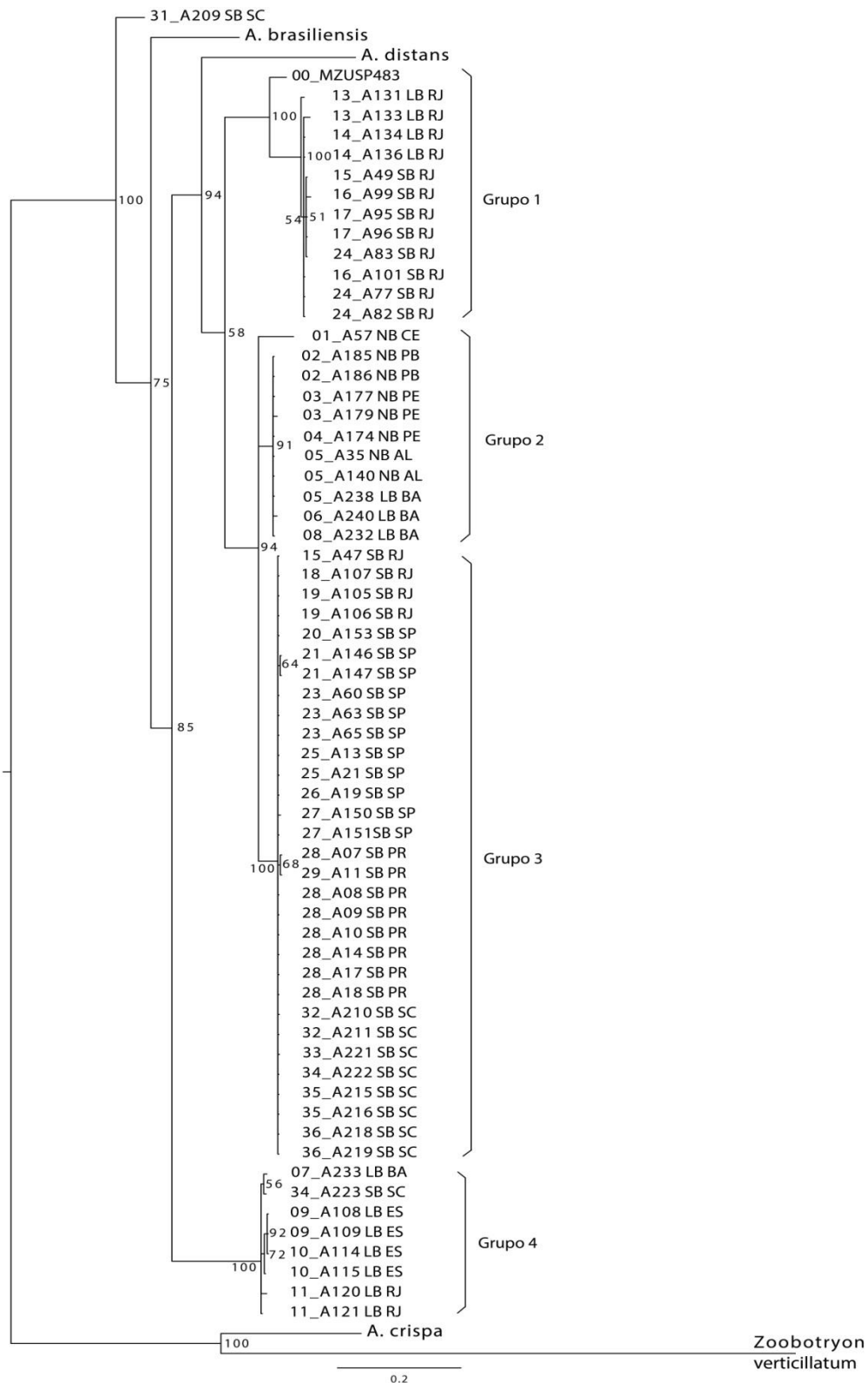


Figura 12 - Análise filogenética do gene COI-5P para *Amathia* cf. *vidovici*, cada sequência está representada pelo código da amostra, ecorregião, estado da federação. Ecorregiões: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; SB - Sudeste Brasil. Estados da federação: Ceará-CE; Paraíba-PB; Pernambuco-PE; Alagoas-AL; Bahia-BA; Espírito Santo- ES; Rio de Janeiro-RJ; São Paulo-SP; Paraná-PR; Santa Catarina-SC. ES; Rio de Janeiro-RJ; São Paulo-SP; Paraná-PR; Santa Catarina-SC.

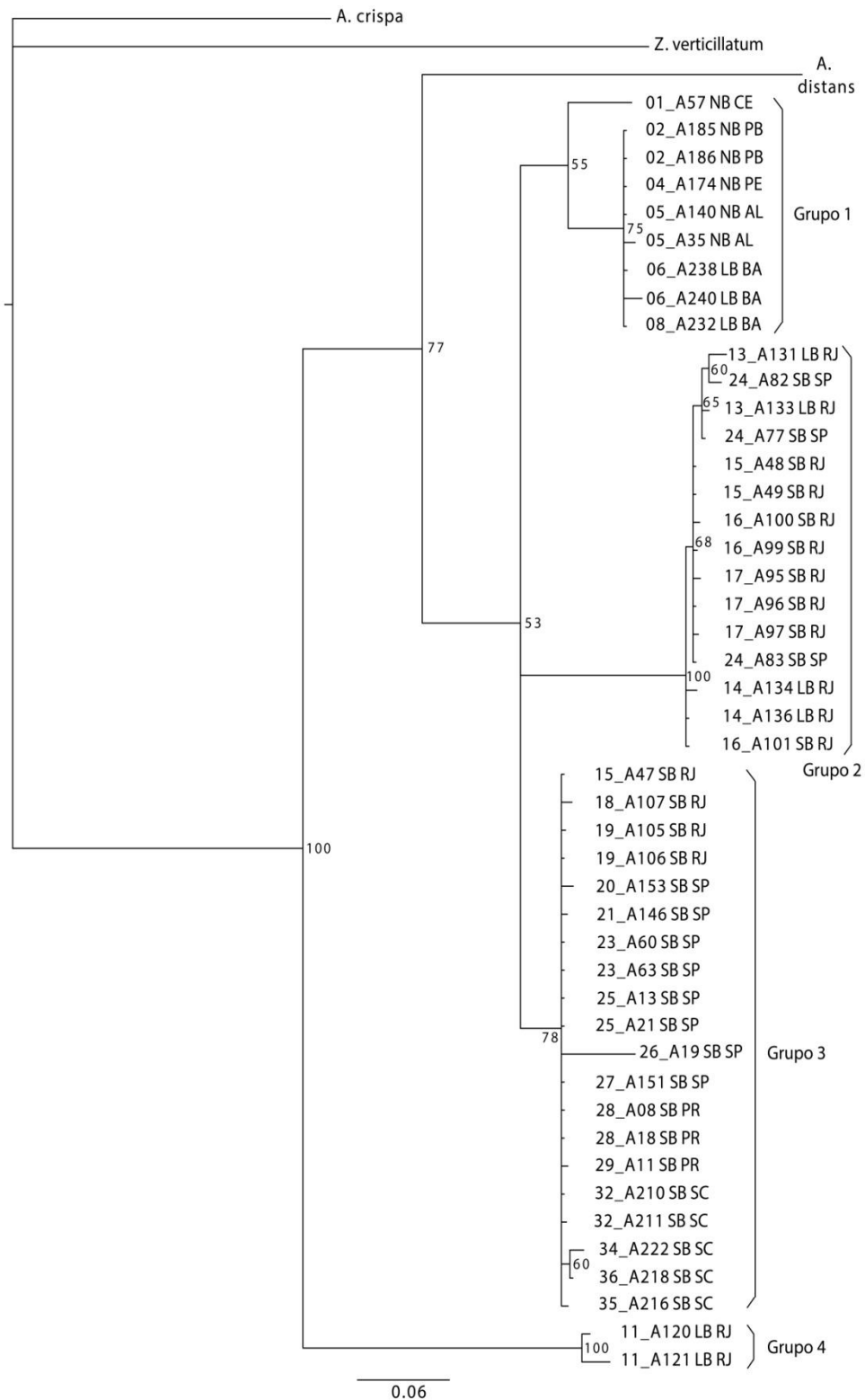


Figura 13 - Análise filogenética do gene COI-3P para *A. cf. vidovici*, cada sequência está representada pelo código da amostra, ecorregião, estado da federação. Ecorregiões: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; SB – Sudeste Brasil. Estados da federação: Ceará-CE; Paraíba-PB; Pernambuco-PE; Alagoas-AL; Bahia-BA; Espírito Santo-ES; Rio de Janeiro-RJ; São Paulo-SP; Paraná-PR; Santa Catarina-SC.

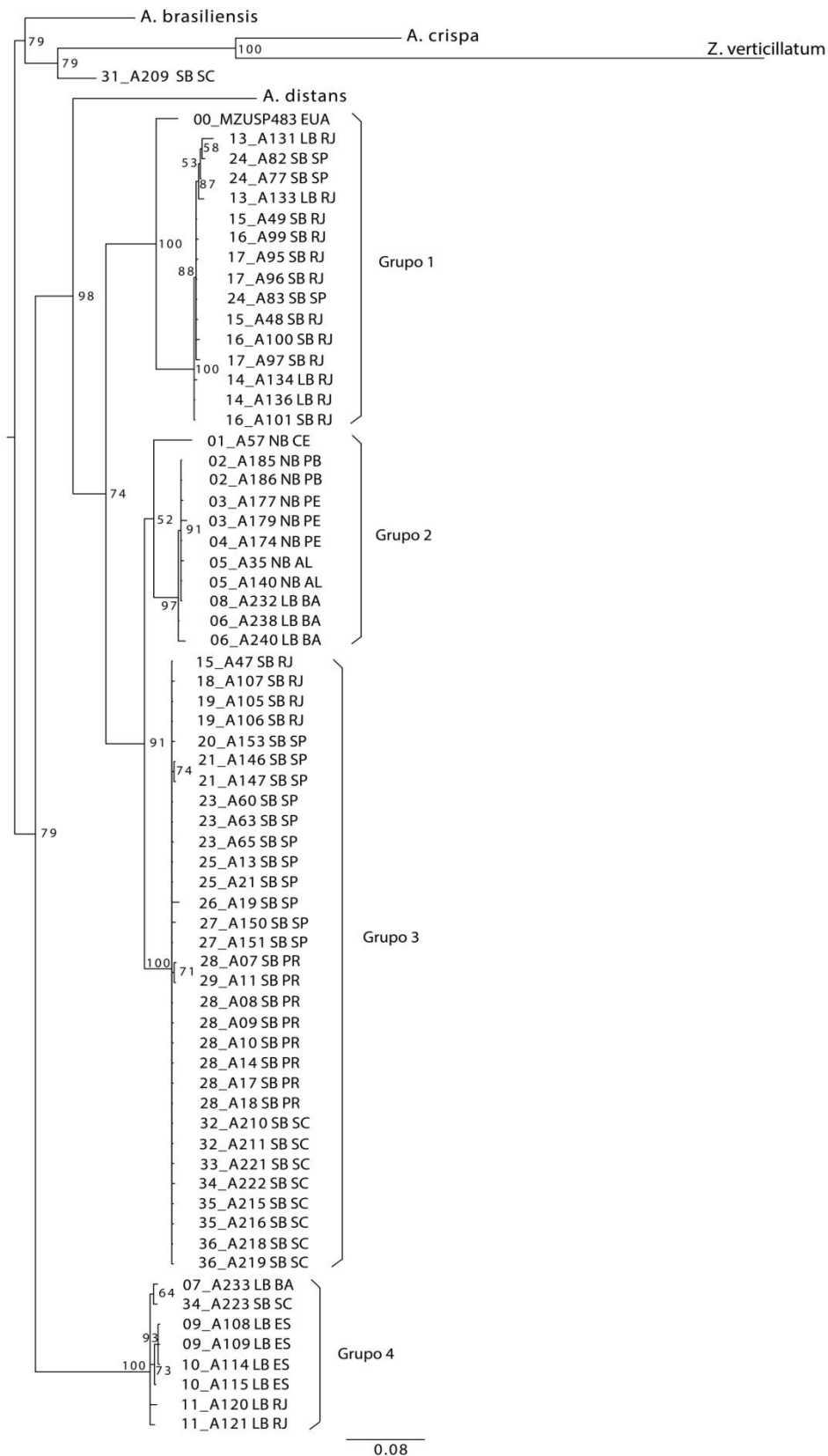


Figura 14 - Análise filogenética concatenada do gene COI (COI-5P e COI-3P) para *A. cf. vidovici*, cada sequência está representada pelo código da amostra, ecorregião, estado da federação. Ecorregiões: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; SB - Sudeste Brasil. Estados: Ceará-CE; Paraíba-PB; Pernambuco-PE; Alagoas-AL; Bahia-BA; Espírito Santo-ES; Rio de Janeiro-RJ; São Paulo-SP; Paraná-PR; Santa Catarina-SC.

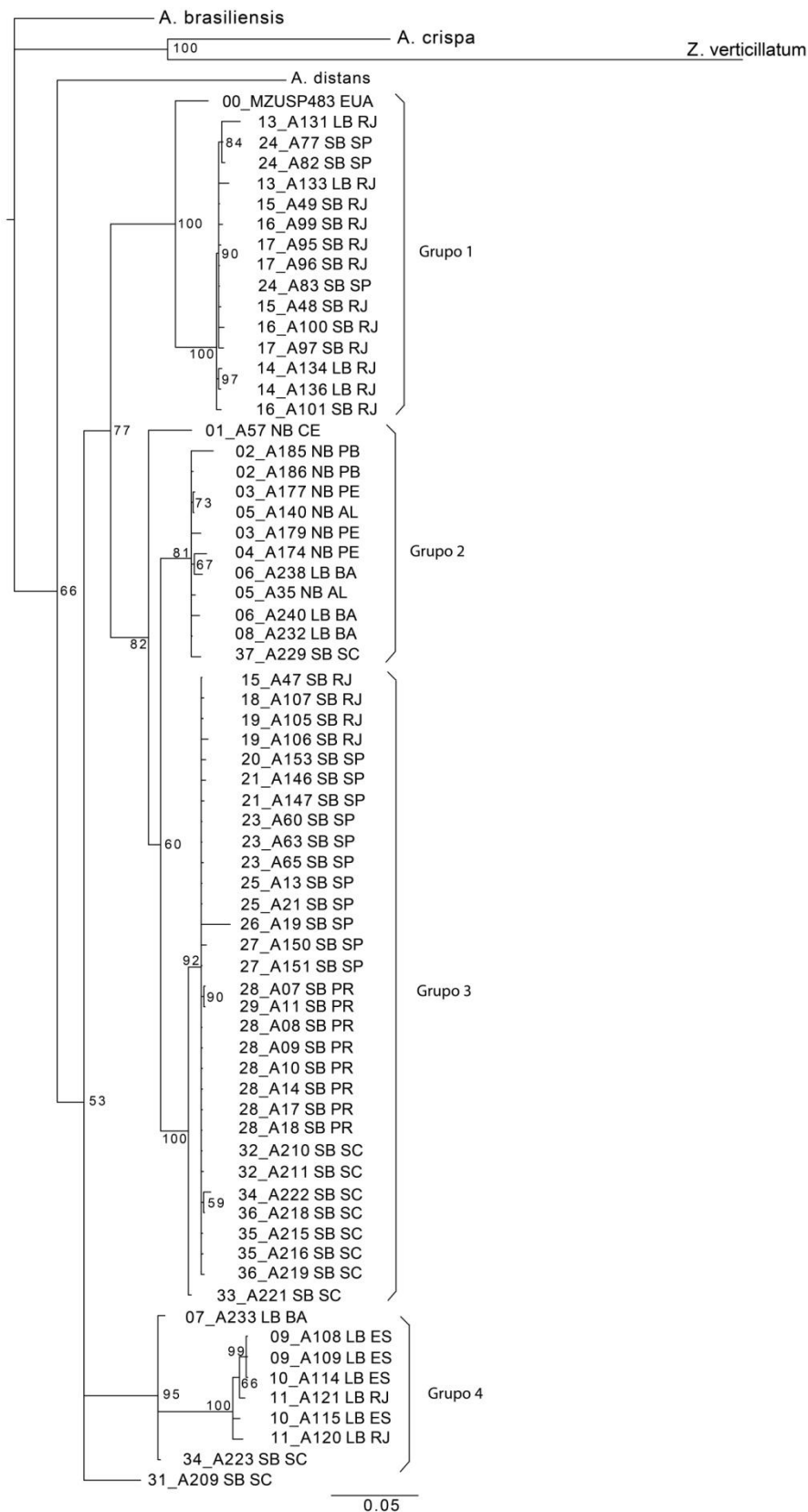


Figura 15 - Análise filogenética concatenada do gene COI (COI-5P e COI-3P) e 16S para *A. cf. vidovici*, cada sequência está representada pelo código da amostra, ecorregião, estado da federação. Ecorregiões: NB - Nordeste Brasil; LB - Leste Brasil; SB – Sudeste Brasil. Estados: Ceará-CE; Paraíba-PB; Pernambuco-PE; Alagoas-AL; Bahia-BA; Espírito Santo-ES; Rio de Janeiro-RJ; São Paulo-SP; Paraná-PR; Santa Catarina-SC.



## ***Taxonomia***

**Filo Bryozoa Ehrenberg, 1831**

**Classe Gymnolaemata Allman, 1856**

**Ordem Ctenostomata Busk, 1852**

**Subordem Euctenostomata Jebram, 1973**

**Superfamília Vesicularioidea Johnston, 1847**

**Família Vesiculariidae Hincks, 1880**

**Gênero *Amathia* Lamouroux, 1812**

***Amathia vidovici* (Heller 1867)**

(Figura 16 A – D; Figura 17 A - D; Tabela 2; Apêndice: Tabela I)

*Valkeria vidovici* Heller, 1867: 128, pl. 5, figs 3, 4.

*Valkeria vidovici*: Joliet, 1888: 108.

*Vesicularia dichotoma* Verrill, 1873, 704.

*Amathia semiconvoluta*: Joliet, 1877, 295 (nec Lamouroux, 1824).

*Amathia lendigera*: Busk, 1886, 33 (nec Linnaeus, 1766).

*Amathia dichotoma*: Osburn, 1912, 254, pl. XXIX, fig. 81.

*Amathia vidovici*: Waters, 1914: 848, pl. IV, fig. 1-2; Barroso, 1923: 191; Osburn, 1940: pl. 79, 340; 1944: 21, fig. 12; 1947: 7; Hutchins, 1945: 38; Prenant & Bobin, 1956: 283, fig. 126; Winston, 1982: 110 fig. 9; d'Hondt, 1983: 65, 67, fig 35B; Fenández Pulpeiro & Reverter Gil, 1995: 51, fig 4b; Reverter-Gil & Fernández-Pulpeiro, 2001: 44; Hayward & Mckinney, 2002: 13, fig. 4b; Souto *et al.* 2010: 192, fig 9.

## **Material examinado**

*Amathia vidovici*, MZUSP 483, Fort Pierce, Florida-USA; Material adicional coletado e acervo do CEBIMar-USP, Apêndice, Tabela I: A57, Fortaleza-CE; A182, A185, A186, A188, A189, João Pessoa-PB; A174, A175, A176, A177, A178, A179, Recife-PE; A35, A137, A138, A140, A142, Maceió-AL; A231, A232, Itaparica-BA; A233, A236, A237, A238, A240, A241, Salvador-BA; A45, Cabo Frio-RJ; A128, A129, A131, A132, A133, A134, A135, A136, Arraial do Cabo-RJ; A47, A48, A49, A95, A96, A97, A99, A101, A104, A105, A106, A107, Ilha Grande-RJ; A153, Ubatuba-RJ; A146, A147, A148, A149, A60,

A63, A65, Caraguatatuba-SP; A77, A82, A83, A171, A173, Ilhabela-SP; A13, A21, São Sebastião-SP; A150, A151, A152, Bertiooga-SP; A10, A11, A14, A37, A38, A41, Ilha do Mel-PR; A230, Guaratuba-PR; A209, A210, A211, A212, A213, A214, São Francisco do Sul-SC; A215, A216, A217, A218, A219, A220, A221, A222, A223, A224, A226, A227, A228, Penha-SC; A229, Palhoça-SC.

### **Descrição**

Colônias levemente quitinizadas, ramificadas, semieretas ou eretas, variando de esbranquiçadas a castanho claro; zooides agrupados de forma espiral. Superfície frontal dos estolões e zooides delicadas. Estolão fino, pouco elástico, sem ramificações desnudas (sem zooides). Diâmetro e comprimento do internódio do estolão variando de 0,107-0,226 mm e 1,023-2,589 mm, respectivamente. Agrupamentos de zooides cobrindo de um terço a mais da metade da extensão do estolão (ocupando de 25 a 74,29 % do mesmo). Autozooides saculares, com comprimento e largura variando de 0,286-0,631 mm e 0,071-0,131 mm, respectivamente, dispostos bisserialmente em forma de agrupamento próximo à extremidade distal do estolão e junto à bifurcação. Grupos de zooides com 7 a 14 pares, cada grupo cobrindo 0,421-1,565 mm de comprimento linear do estolão. Grupos de zooides dispostos em espiral, em sentido horário ou anti-horário, ao redor do estolão, cada qual descrevendo um ângulo que varia de 340-380° do início ao fim do grupo. Séries de agrupamentos interrompidas nos internódios ou próximo a estes. Ramos filhos na mesma a direção da espiral do ramo materno; uma mesma colônia podendo apresentar agrupamentos com direção horária, anti-horária ou ambas. Autozooides agrupados na porção basal porém não fundidos, com porção apical livre, fixados ao estolão pela porção basal/lateral. Rizoides quase sempre presentes, frequentemente proximais, eventualmente distais ou laterais na colônia. Número de tentáculos e morfologia dos polipídios não observados.

### **Comentários**

*Valkeria vidovici* foi descrita por Heller em 1867, coletada em Capocesto (Primošten), Croácia. Hayward & Mckinney (2002) não conseguiram localizar os espécimes tipos de *V. vidovici* na coleção do Instituto de Zoologia da Universidade de

Innsbruck, Áustria, somente uma parte de um espécime com localidade não identificada, cuja morfologia é idêntica à descrição de Heller para *A. vidovici*.

Segundo diversos autores, *Amathia vidovici* distingue-se das demais espécies do gênero pelo conjunto das seguintes características: autozooides fixos ao estolão pela porção basal/lateral do mesmo; espiral relativamente curta, situada sempre na porção distal do estolão junto à bifurcação; rotação do agrupamento com aproximadamente 360°; estolão com cerca 2 mm de diâmetro (Waters, 1914; Prenant & Bobin, 1956; d'Hondt, 1983; Hayward & Mckinney, 2002; Souto *et al.* 2010) (Figura 16 A-D e 17 A-D). Neste estudo, observou-se que os ramos filhos mantêm a direção da espiral do ramo materno; sendo que uma mesma colônia pode apresentar agrupamentos com rotação na direção horária, anti-horária ou ambas, conforme também relatado na literatura (d'Hondt, 1983; Hayward & Mckinney, 2002).

Contudo, com relação a diversos caracteres, encontramos intervalos de variação maior do que os descritos na literatura. Por exemplo, o número de pares de zooides por agrupamento variou de 7-14, enquanto Hayward & Mckinney (2002) citam 8 pares, Souto *et al.* (2010) e Gordon & Spencer-Jones (2013), 8-9 pares, e Prenant & Bobin (1956), 9 pares. Por outro lado, Winston (1982) reporta a ocorrência de colônias de *A. vidovici* com número mínimo de pares de zooides muito inferior (4-8 pares), indicando que os espécimes examinados por ela podem ser colônias jovens ou fragmentos distais de colônias, locais que representam zonas de crescimento, em que o número de zooides é geralmente menor que no restante da colônia (observação pessoal).

Os espécimes de *Amathia vidovici* encontrados no Brasil mostraram grande variação morfométrica. As medidas de menores valores estiveram relacionadas com a ecorregião Nordeste Brasil (mesmo em colônias grandes), sendo a Sudeste Brasil a ecorregião com maiores variações de praticamente todas as características mensuradas (Tabela 2).

As colônias oriundas do Paraná, se mostraram mais similares às da ecorregião Nordeste do que com as demais da própria região Sudeste Brasil, devido às medidas de menores valores encontradas (Apêndice, Tabela I).

O exemplar de *A. vidovici* dos EUA apresentou morfologia compatível com as colônias estudadas provenientes do litoral brasileiro (Apêndice: Tabela I). As análises

moleculares indicam tratarem-se de materiais coespecíficos. Tanto morfológicamente quanto molecularmente a colônia dos EUA assemelha-se mais às colônias do Sudeste brasileiro (RJ e SP), do que em relação às das demais regiões do Brasil. Como esperado, esse exemplar difere também molecularmente (Figuras 11, 12, 14, 15) e em dimensões gerais de *Amathia* sp. nov.1, descrita neste estudo (Apêndice, Tabela I).

### **Notas biológicas**

A coloração descrita refere-se a colônias vivas; quando preservadas em etanol, elas perdem a cor gradativamente, ficando transparentes. Amostras do Nordeste apresentaram em geral cor de canela semelhante ao substrato em que se encontravam, enquanto as amostras do Sul-Sudeste variaram de branco (fosco) a amarelo claro.

A espécie é geralmente encontrada em locais sombreados, em superfícies verticais ou de inclinação negativa, próxima a esponjas, anêmonas, algas e outros briozoários. Dificilmente é observada em locais de inclinação positiva e/ou expostos; quando isso ocorre as colônias tendem a ser de tamanho menor, conforme notado em colônias provenientes do litoral de Santa Catarina (Praia da Paciência, Penha; amostra A220 e A221, Apêndice: Tabela I).

### **Distribuição**

Amplamente distribuída nos mares Mediterrâneo e Adriático, litoral norte da França e Espanha, e nos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico. No Brasil, é encontrada em quase todo litoral, desde o Ceará até Santa Catarina.

## **Taxonomia**

**Filo Bryozoa Ehrenberg, 1831**

**Classe Gymnolaemata Allman, 1856**

**Ordem Ctenostomata Busk, 1852**

**Subordem Euctenostomata Jebram, 1973**

**Superfamília Vesicularioidea Johnston, 1847**

**Família Vesiculariidae Hincks, 1880**

**Gênero Amathia Lamouroux, 1812**

***Amathia* sp. nov.1**

(Figura 16 E – H; Figura 17 E - H; Tabela 2; Apêndice: Tabela I)

### ***Material examinado***

Material coletado, A108, A109, A110, A111, A113, A114, A115, A116, A117, A118, Vitória-ES; A120, A121, A122, A123, A126, Cabo Frio-RJ. Apêndice, Tabela I.

### **Descrição**

Colônias levemente quitinizadas, ramificadas, semieretas, arbustivas, com variação de cor desde esbranquiçada a castanho claro. Estolão fino, sem ramificações desnudas (sem zooides), com diâmetro e comprimento variando de 0,131-0,214 mm e 1,625-2,709 mm, respectivamente. Superfície frontal dos estolões e zooides delicadas. Autozooides saculares, dispostos bisserialmente em agrupamentos posicionados próximos à extremidade distal do internódio e junto à bifurcação, com comprimento e largura variando de 0,369-0,631 mm e 0,083-0,119 mm, respectivamente. Agrupamentos de zooides cobrindo de um terço a mais da metade do comprimento linear internódio (37,50 - 72,73%), ocupando 0,783-1,746 mm de extensão linear, cada qual com 9 a 15 pares de zooides. Pares de zooides do agrupamento dispostos em espiral, em sentido horário e/ou anti-horário, ao redor do estolão, cada qual descrevendo um ângulo que varia de 350-420° do início ao fim do grupo. Ramos filhos com o mesmo sentido da espiral do ramo materno. Autozooides com porção apical livre, fixos ao estolão pela base e parte da parede lateral. Rizoides quase sempre

presentes, frequentemente proximais, eventualmente distais ou laterais na colônia. Número de tentáculos e características dos polipídios não observados.

### **Comentários**

A análise morfométrica dos exemplares de *Amathia* cf. *vidovici* do litoral brasileiro evidenciou a existência de três grupos, um englobando as amostras provenientes da região Nordeste Brasil, um segundo grupo com amostras das regiões Sudeste e Sul, e um terceiro referente a exemplares da região de Cabo Frio, RJ, e Vitória, ES. Enquanto as análises moleculares e morfológicas indicaram que os dois primeiros grupos, incluindo o exemplar oriundo dos EUA (MZUSP 483; Apêndice: Tabela I), referem-se a *Amathia vidovici* (Heller, 1867), o último grupo mostrou-se tratar de uma nova espécie, também fortemente corroborada pelas análises morfológicas e moleculares realizadas.

*Amathia* sp. nov.1 apresenta dimensões maiores que *A. vidovici* (Heller, 1867) em relação a várias estruturas, como ângulo de rotação do agrupamento de zooides, comprimento do internódio do estolão e do agrupamento, e número de pares de zooides. Compartilha com a *A. vidovici* características como posição do agrupamento de zooides sempre na porção distal do estolão, próximo à bifurcação do ramo; autozoóide conectado ao estolão pela porção proximal e lateral, e ângulo de rotação do agrupamento de aproximadamente 360° (Prenant & Bobin, 1956; d'Hondt, 1983; Hayward, 2002; Souto *et al.* 2010).

A colônia MZUSP 483 (*A. vidovici* dos EUA, Apêndice: Tabela I) possui no geral diferenças morfométricas e merísticas em relação a *Amathia* sp. nov.1; por exemplo, o ângulo de rotação do agrupamento de zooides em torno do estolão é de 360 graus (*Amathia* sp. nov.1.: 350-420°) e o número de pares de zooides é de 10-11 (*Amathia* sp. nov.1.: 9-15). Ademais, as colônias da primeira são visualmente menores; o comprimento do estolão e do agrupamento de zooides medem, respectivamente, 1,385-1,742 mm e 0,783-1,023 mm, enquanto que em *Amathia* sp. nov.1 esses valores são, respectivamente, 1,625-2,709 mm e 0,783-1,746 mm. No entanto, as medidas relativas à colônia MZUSP 483 estão dentro da amplitude de variação encontrada para o material brasileiro amostrada para a espécie *A. vidovici*.

### **Notas Biológicas**

*Amathia* sp. nov.1 foi encontrada em locais abrigados e sombreados, em superfícies verticais (pilastras) ou de inclinação negativa, junto outros invertebrados incrustantes, como esponjas e outros briozoários. Nas localidades amostradas, observou-se grande aporte de material antrópico principalmente esgotos.

As colônias têm muitas vezes coloração semelhante a do substrato. Quando armazenadas em etanol, as colônias perdem a cor gradativamente, tendendo a ficarem transparentes.

### **Distribuição**

Águas rasas do litoral dos estados do Rio de Janeiro (Cabo Frio) e Espírito Santos (Vitória).

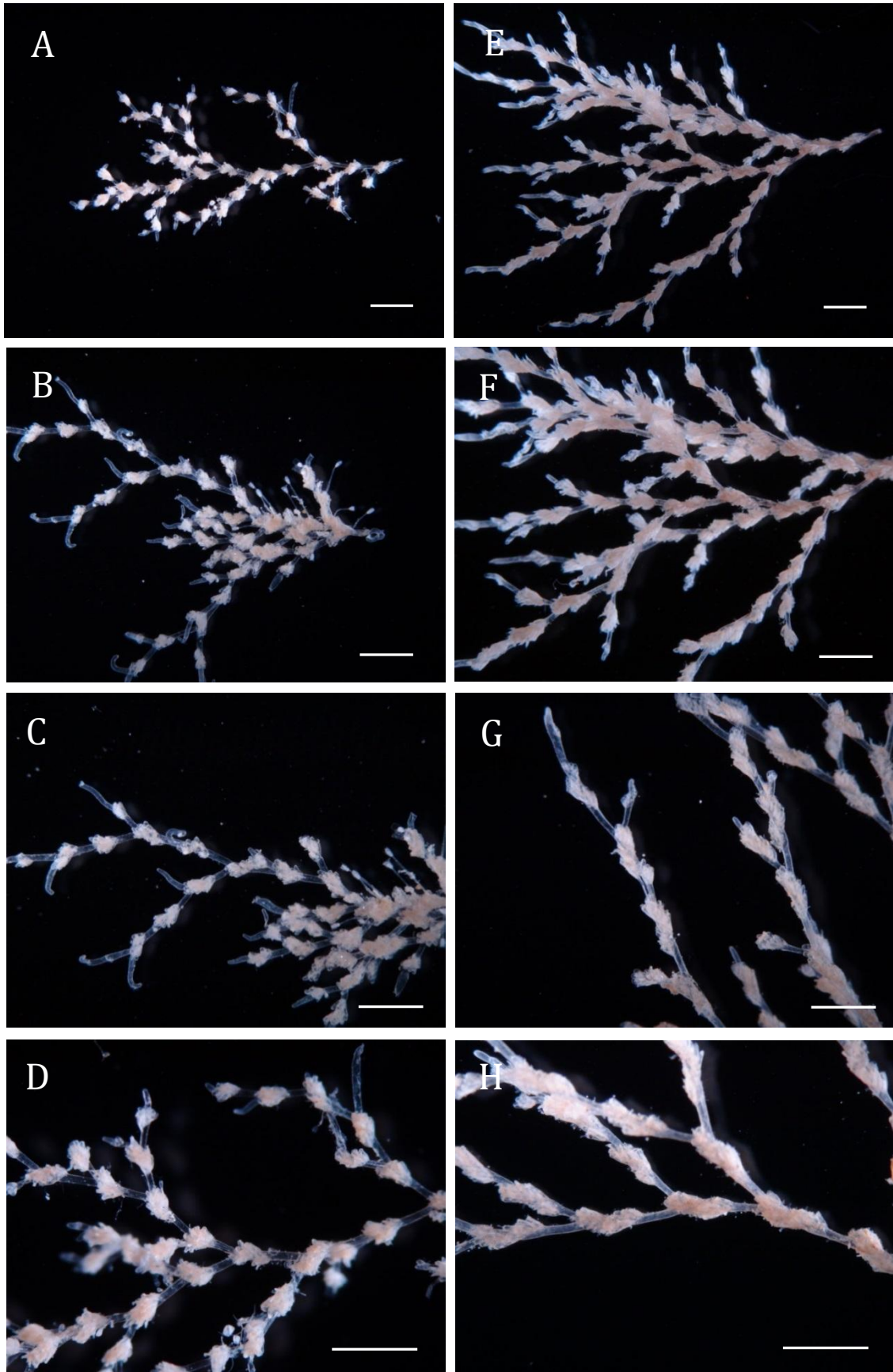


Figura 16 – A - D: *Amathia vidovici*; E - H: *Amathia* sp. nov.1. Escala: 1 mm. Observe as maiores dimensões gerais *Amathia* sp. nov.1, como comprimento do agrupamento de zooides e do estolão (entre internódios).



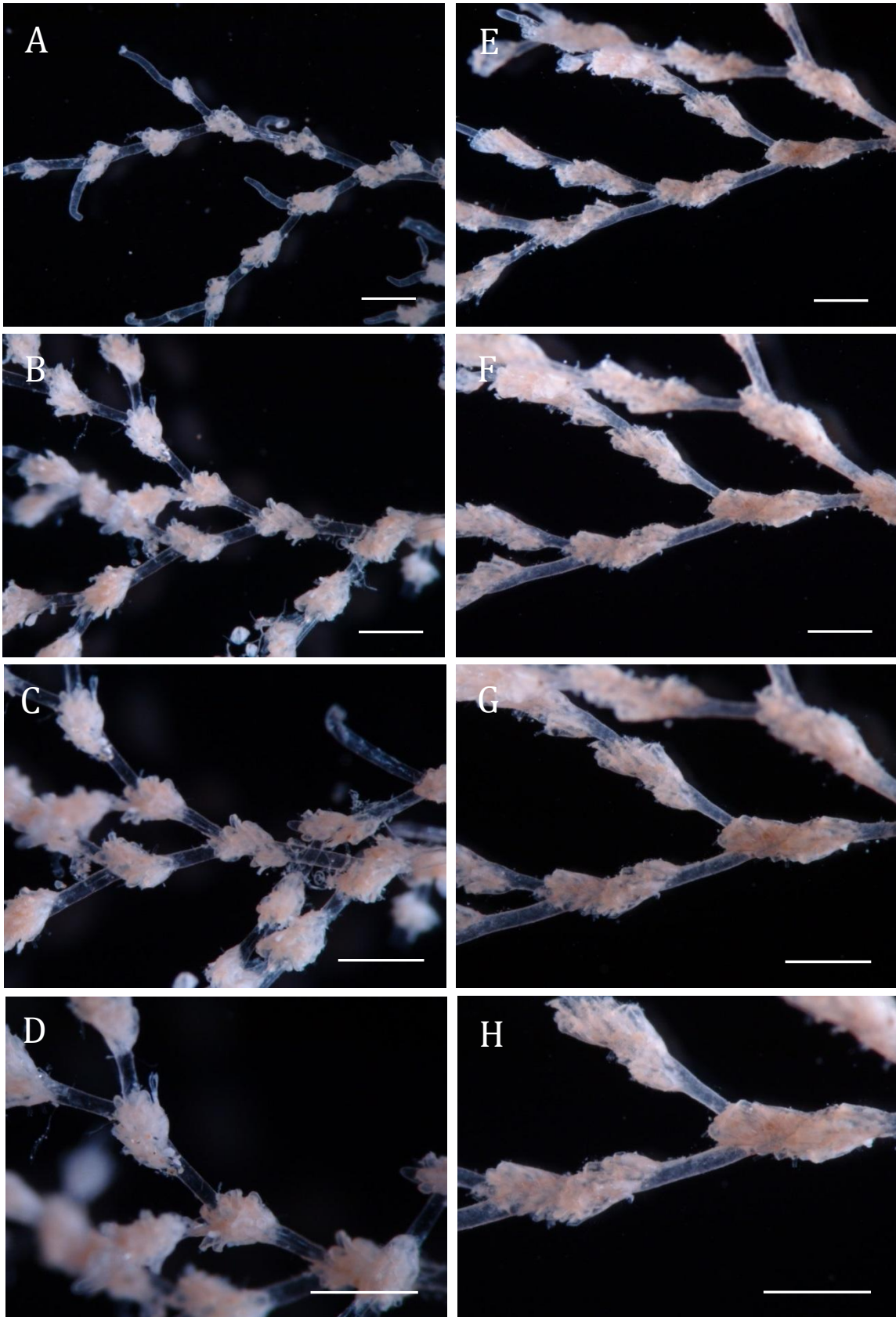


Figura 17 – A - D: *Amathia vidovici*; E - H: *Amathia* sp. nov.1. Escala: 2 mm. Observe as maiores dimensões gerais de *Amathia* sp. nov.1, como comprimento do agrupamento de zooides e do estolão (entre internódios).

## **Espécies do grupo *Amathia cf crispa***

### *Análise de dados morfológicos*

As análises morfológicas sugerem duas espécies para o grupo avaliado de *A. cf. crispa* na comparação de colônias amostradas em São Sebastião-SP e Ilha do Mel-PR. Diferenças evidentes notadas ao examinar as colônias sob estereomicroscópio foram confirmadas por todas as análises, principalmente as características: Ângulo de rotação do agrupamento de zooides, Comprimento do estolão e do agrupamento (Tabela 8; Apêndice: Tabela II). O espécime de *A. convoluta* (Austrália, –Apêndice: Tabela II) foi utilizado para fins de comparação.

A análise de CLUSTER revelou dois grupos principais, um com as amostras da Ilha do Mel-PR como um grupo irmão do segundo, que inclui todas das amostras de São Sebastião-SP (Figura 18).

O nMDS mostra a formação de três grupos, definidos basicamente pelas diferenças de tamanho de algumas estruturas, um com cinco colônias marcadamente agrupadas da Ilha do Mel-PR, um segundo grupo com 11 amostras de São Sebastião-SP, e um terceiro grupo com duas amostras de Caraguatatuba-SP (Figura 19).

A análise Simper revelou que as variáveis mais importantes para a distinção dos agrupamentos Ilha do Mel-PR e São Sebastião-SP são principalmente o Ângulo de rotação do agrupamento Min-Máx (12,70-11,10%), Número de pares de zooides Min (11,17%) e Comprimento do autozoóide Min (8,46%) (Tabela 8). O Comprimento da espiral Min-Máx (17,24-16,21%) e do estolão Min-Máx (8,95-14,35%) foram as características que mais contribuíram para a distinção dos grupos referentes a Ilha do Mel-PR e Caraguatatuba-SP.

O PCA corrobora todas as análises anteriores, mostrando claramente que as amostras de São Sebastião-SP e Caraguatatuba-SP se destacam das da Ilha do Mel-PR, devido principalmente ao Número de pares de zooides (Nz, Min-Máx) e Proporção Linear de ocupação dos zooides nos internódios (Lzg/Ls, Min-Máx). O ângulo da espiral (As, Min-Máx) é a característica que separa as amostras de São Sebastião-SP das localidades Ilha do Mel-PR e Caraguatatuba-SP; esta última claramente separada de todas as demais devido ao comprimento da espiral (Ls, Min-Máx) e comprimento do agrupamento de zooides (Lzg, Min-Máx) (Figura 20).

Tabela 3: Amplitude de variação (Min-Máx) dos caracteres morfométricos avaliados de *Amathia crispera*, de São Sebastião-SP e Caraguatatuba-SP, e *Amathia* sp. nov. 2 da Ilha do Mel-PR, e *Amathia convoluta* da Tasmânia, Austrália. Ls - Comprimento do estolão; Lzg - Comprimento do agrupamento de zooide; Ds - Diâmetro do estolão; Lz - Comprimento do autozooide; lz - Largura dos zooides; Nz - Número de pares de zooides; As - Ângulo da espiral.

	<i>Amathia crispera</i>	<i>Amathia</i> sp. nov.2	<i>Amathia convoluta</i>
Ls (mm)	2,227 – 4,515	2,348 – 3,130	3,070-3,973
Lzg (mm)	1,806 – 3,853	1,806 – 2,829	2,107-2,528
Lzg/Ls (%)	73,81 – 95,35	71,11 – 90,38	61,54-74,54
Ds (mm)	0,178 – 0,381	0,226 – 0,357	0,143-0,226
Lz (mm)	0,464 – 0,714	0,464 – 0,595	0,464-0,595
lz (mm)	0,071 – 0,131	0,071 – 0,119	0,095-0,119
Nz (n)	28 – 43	21 - 32	18-21
As (°)	360 – 500	350 – 360	350 – 360

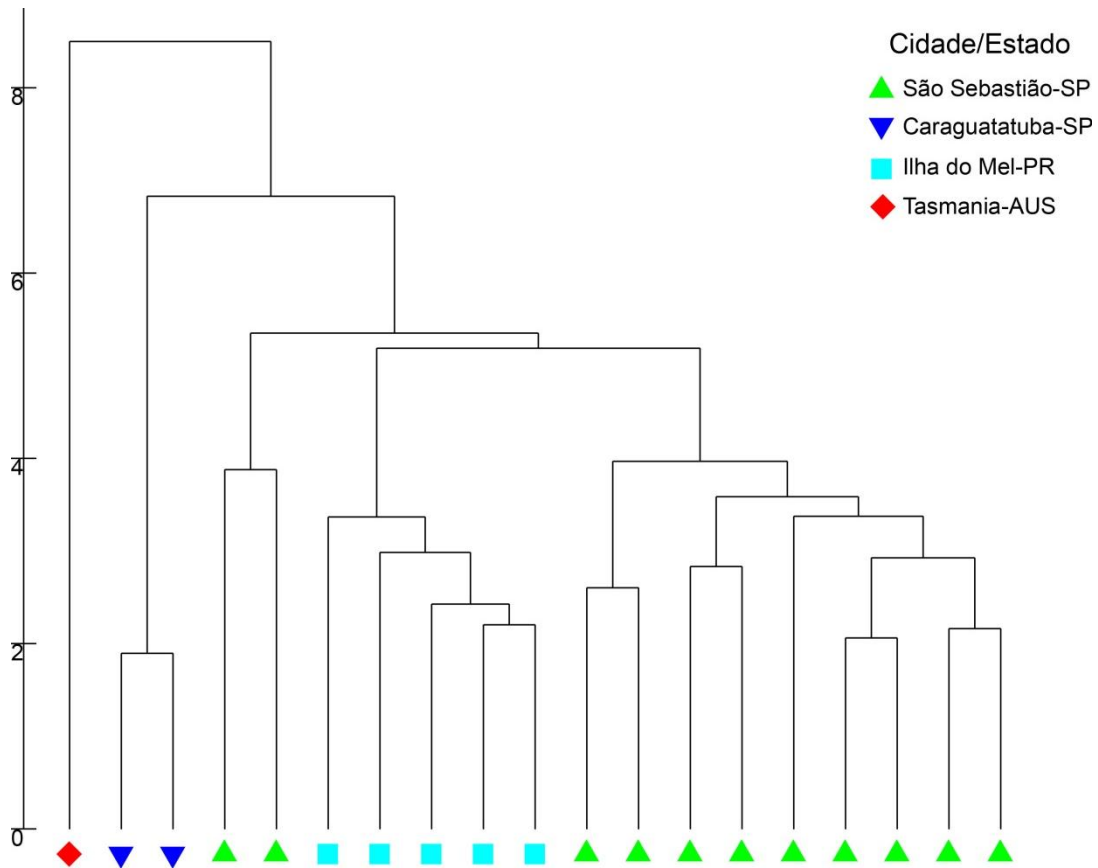


Figura 18 – Análise de Cluster utilizando Min-Máx para *Amathia cf. crispa*, por estados da Federação (São Paulo e Paraná), e uma amostra de *Amathia convoluta* da Austrália.

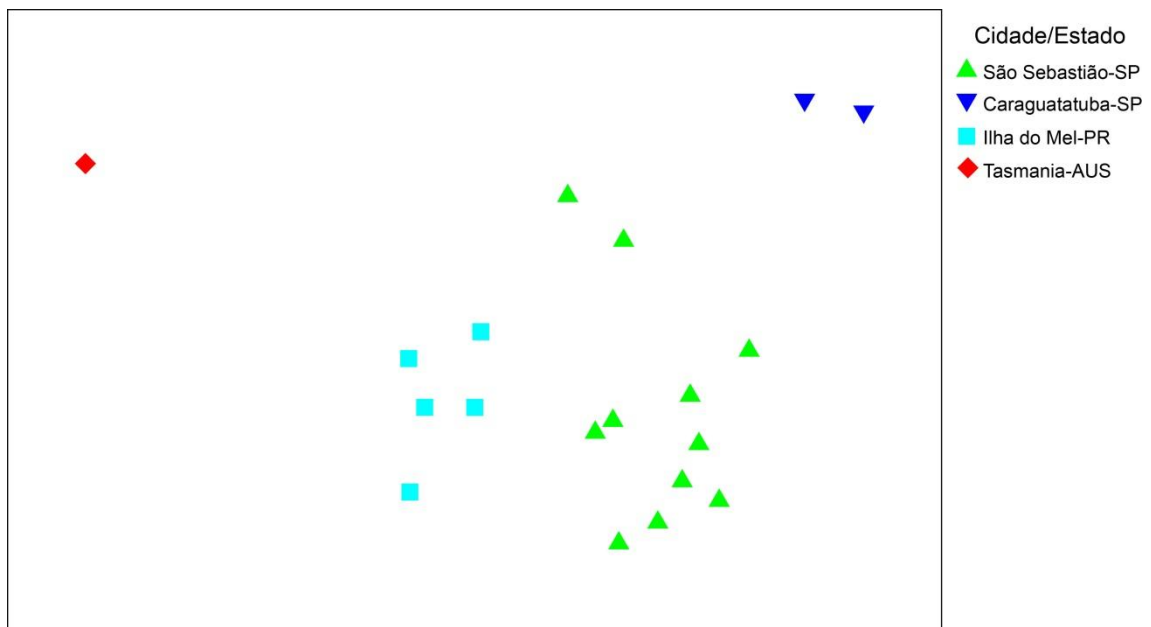


Figura 19 – Análise nMDS utilizando os valores Min-Máx das características de *A. cf. crispa* por localidade, e de uma amostra de *Amathia convoluta* da Austrália.

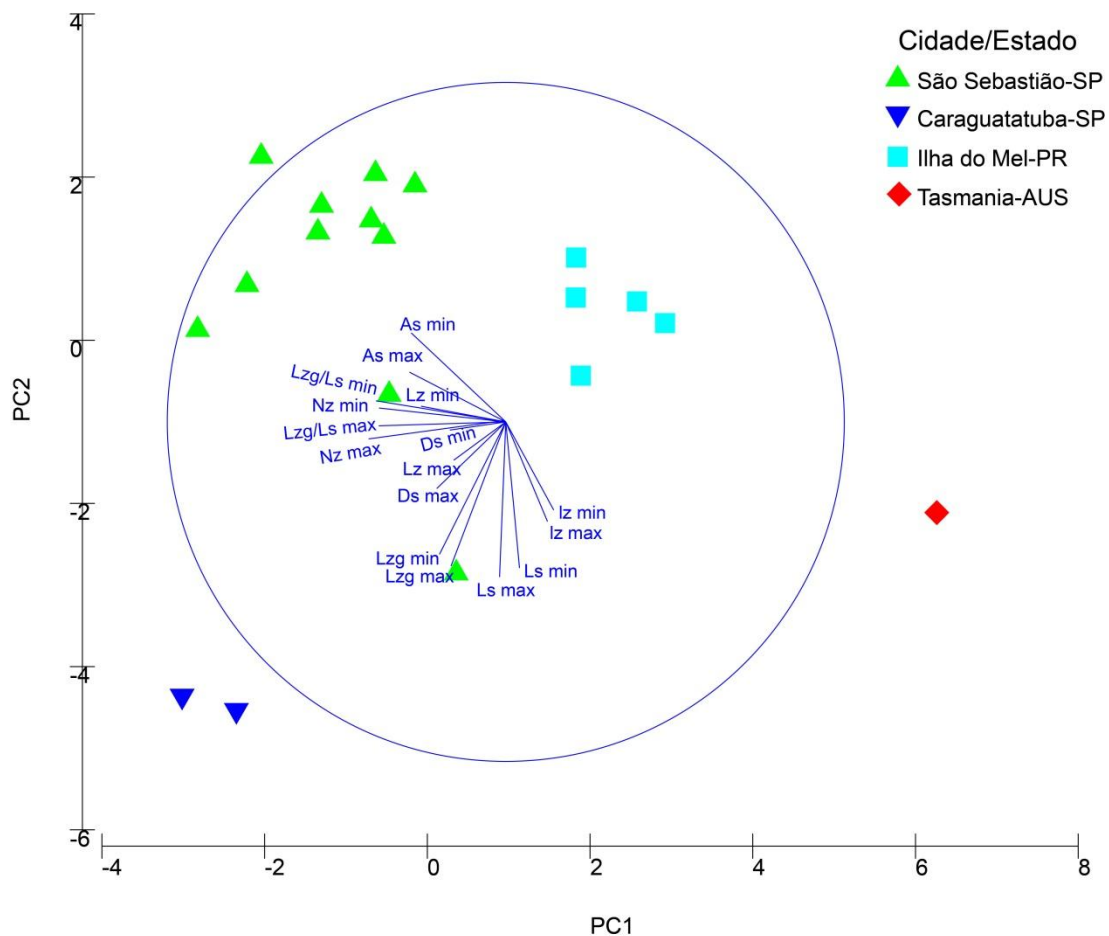


Figura 20 - Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando os valores Min-Máx das características de *Amathia cf. crispa* por localidade: São Sebastião-SP; Caraguatatuba-SP; Ilha do Mel-PR. *Amathia convoluta* foi utilizada na análise como grupo externo. O PC1 revela o deslocamento das amostras de São Sebastião-SP e Caraguatatuba para a esquerda devido ao Nz - Número de pares de zooides (Min-Máx) e Lzg/Ls - Proporção Linear de ocupação dos zooides (Min-Máx). PC2 revela o deslocamento das amostras de Caraguatatuba-SP para baixo devido ao Ls - Comprimento do estolão (Min-Máx) e do Lzg - agrupamento de zooide (Min-Máx).

### Análises filogenéticas

16S

O grupo interno foi composto por sete sequências, das quais cinco foram obtidas para este estudo e duas foram retiradas de um trabalho prévio (Apêndice: Tabela V). O comprimento das sequências sem gap do grupo interno variou entre 505 e 540 pb, e quatro haplótipos foram encontrados. O Gblocks removeu 3% do alinhamento original (552 pb), deixando 537 pb; destes, 168 (31,3%) foram variáveis.

Este gene gerou uma topologia com pouca resolução, com a formação de dois cladogramas, um com apenas uma sequência (Grupo 1: Praia Grande, São Sebastião-SP); e um segundo (Grupo 2) com seis sequências, duas da localidade Porto Novo (Caraguatatuba-SP), uma do Araçá (São Sebastião-SP) e três do Morro do Sabão (Ilha do Mel-PR) (Figura 21).

#### *COI-5P*

O grupo interno totalizou oito sequências, das quais seis foram obtidas neste estudo e duas de um estudo prévio (Apêndice: Tabela V). O comprimento das sequências sem gap do grupo interno variou entre 610 e 672 pb, e cinco haplótipos foram encontrados (Apêndice: Tabela V). O comprimento do alinhamento final, incluindo o grupo externo, foi de 672 pb; neste alinhamento, 439 (65,3%) foram sítios idênticos e 233 (34,7%) foram sítios variáveis.

A análise filogenética do gene evidências dois grupos monofiléticos, sugerindo que *A. cf. crispera* pode ser um complexo de ao menos duas espécies (Figura 22).

#### *COI-3P*

O grupo interno foi composto por apenas três sequências, todas obtidas para este estudo e o comprimento das sequências sem gap do grupo interno variou entre 550 e 574 pb, e dois haplótipos foram encontrados (Apêndice: Tabela V). O comprimento do alinhamento final, incluindo o grupo externo, foi de 574 pb; neste alinhamento, 378 (65,9%) foram sítios idênticos e 196 (34,1%) foram sítios variáveis.

Esta análise filogenética apesar das poucas sequências sugere duas espécies para *A. cf. crispera*, as sequências em questão se portam como grupo irmão das espécies do mesmo gênero *A. distans* e *A. vidovici* além de *Zoobotryon verticillatum*, um terminal possui duas sequências da localidade Porto Novo (Caraguatatuba-SP) e um terminal da localidade Morro do Sabão (Ilha do Mel-PR) (Figura 23).

#### *COI*

A análise concatenada dos genes *COI-5P* e *COI-3P* incluiu oito terminais de *A. cf. crispera* no grupo interno, dos quais ao menos uma partição de gene foi sequenciada.

O comprimento do alinhamento final foi de 1246 pb, incluindo os terminais do grupo externo.

A topologia resultante apresentou maior resolução, com a formação de um clado com dois grupos irmãos: Grupo 1, formado por quatro amostras, duas das quais geneticamente mais próximas (Morro do Sabão, Ilha do Mel-PR) e Grupo 2 com 4 amostras com 100% de similaridade genética, três de São Sebastião-SP e uma de Caraguatatuba-SP (Figura 24).

#### *16S+COI*

A análise de *16S+COI* totalizou 10 terminais no grupo interno, dos quais ao menos uma partição de gene foi sequenciada. O comprimento do alinhamento final foi de 1783 pb, incluindo os terminais do grupo externo.

Os resultados corroboram a existência de um complexo de duas espécies para *A. cf. crista*, já que as três sequências da localidade Morro do Sabão apresentam-se agrupadas (Figura 25).

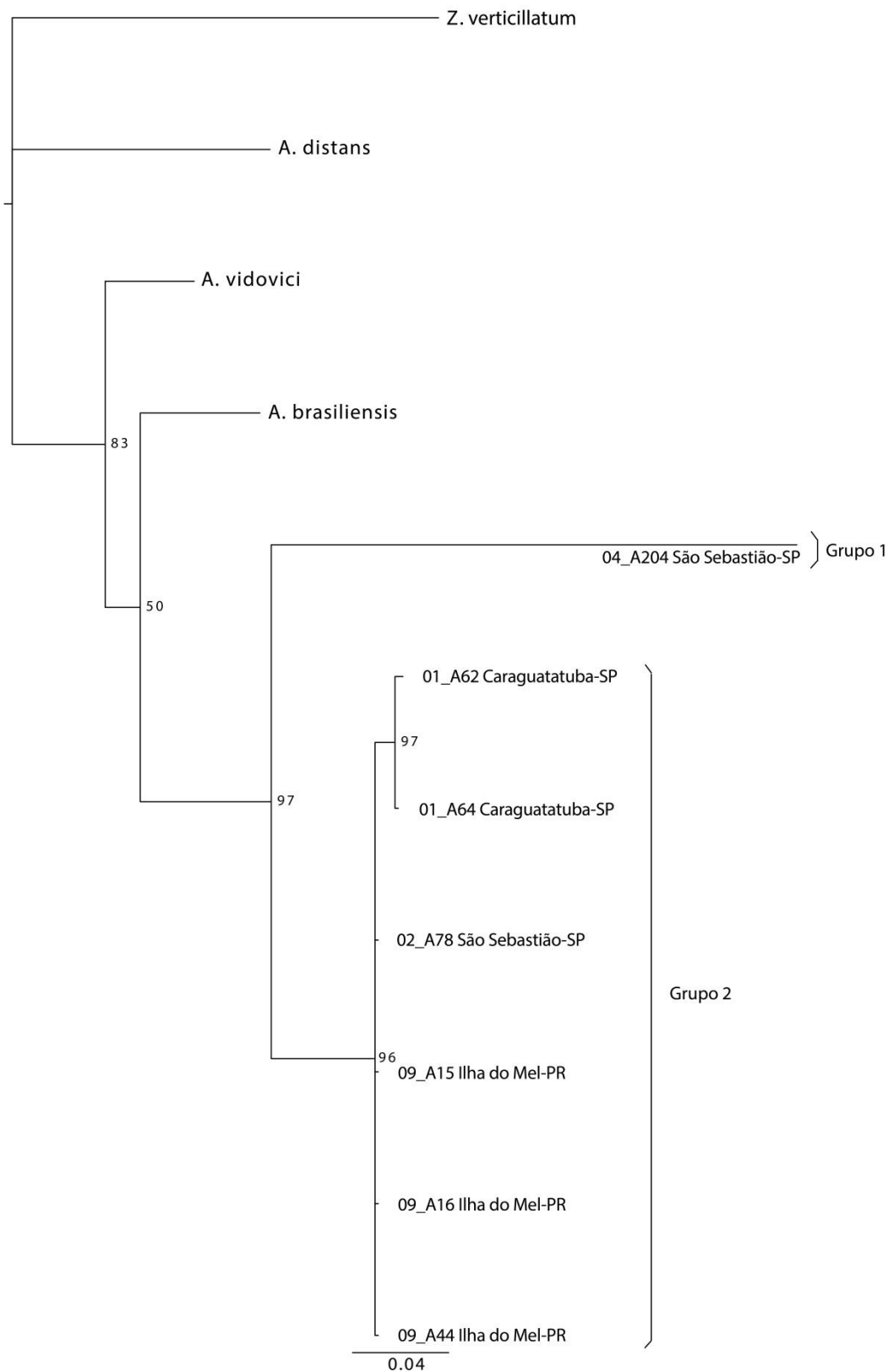


Figura 21 – Análise Filogenética do gene 16S para *A. cf. crispa*; cada sequência está representada pelo código da amostra, localidade, cidade, estado da federação. Estados: São Paulo-SP; Paraná-PR. Amostras: A204 - Praia Grande - São Sebastião-SP referem-se ao Grupo 1; A78 - Araçá - São Sebastião-SP, A62 e A64 - Porto Novo-Caraguatatuba-SP, A15, A16, A44 - Morro do Sabão - Ilha do Mel-PR.



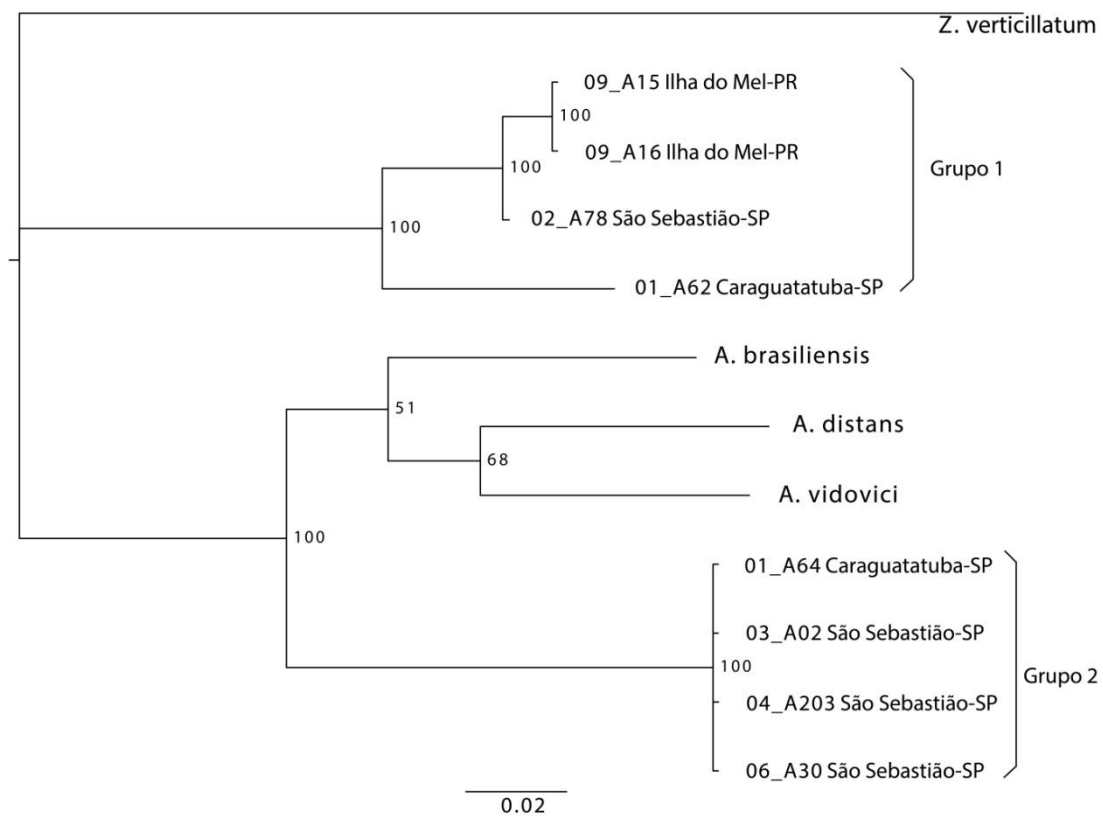


Figura 22 - Análise Filogenética do gene COI-5P para *A. cf. crispa*, para *A. cf. crispa*, cada sequência está representada pelo código da amostra, localidade, cidade, estado da federação respectivamente, e em grupos. Os Estados da federação estão representados pelas siglas, São Paulo-SP; Paraná-PR. São elas: A15, A16, Morro do Sabão - Ilha do Mel-PR, A78 - Araçá - São Sebastião-SP, A62 - Porto Novo - Caraguatatuba-SP referem-se ao Grupo 1; A64 - Porto Novo- Caraguatatuba-SP, A2 - Praia Preta, A203 - Praia Grande, A30 Canal (ambas em - São Sebastião-SP) referem-se ao Grupo 2.

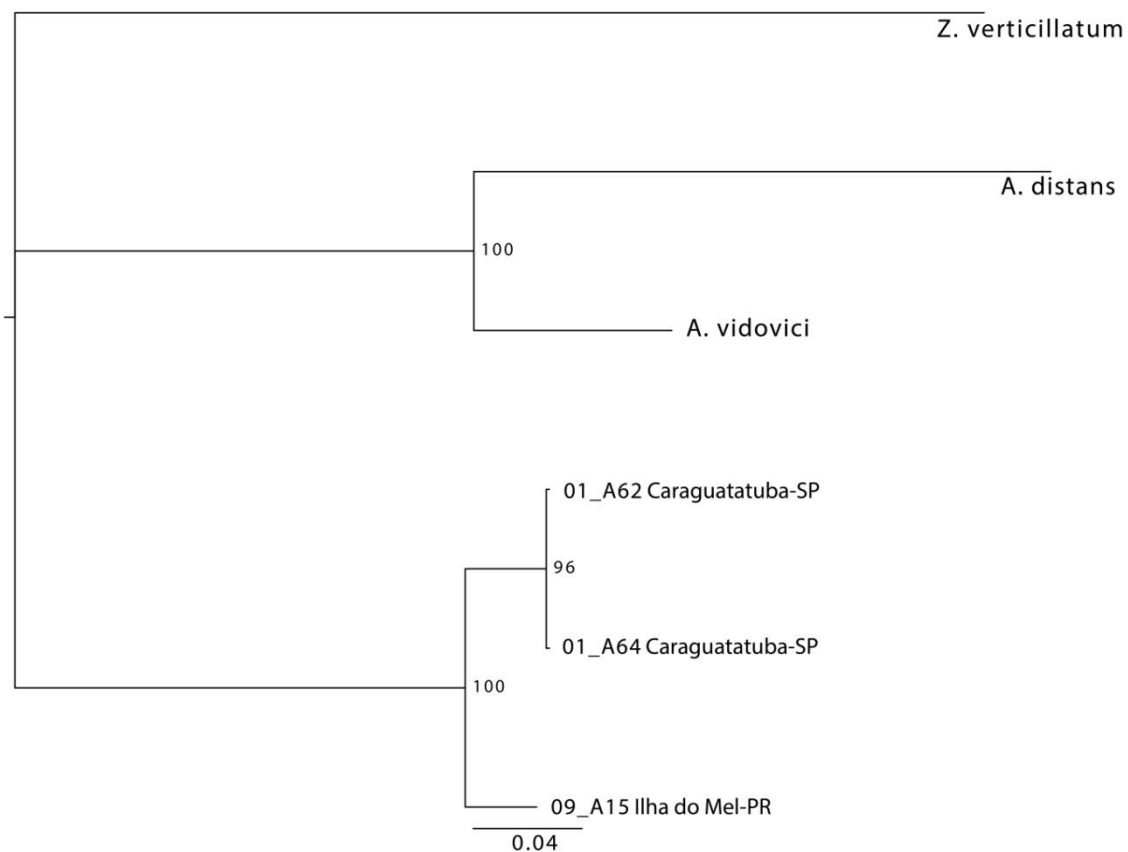


Figura 23 - Análise Filogenética do gene COI-3P *A. cf. crispa*, para *A. cf. crispa*, cada sequência está representada pelo código da amostra, localidade, cidade, estado da federação respectivamente, e em grupos. Os Estados da federação estão representados pelas siglas, São Paulo-SP; Paraná-PR. São elas: A62 e A64 - Porto Novo-Caragatatuba-SP - Grupo 1; A15 - Morro do Sabão - Ilha do Mel-PR - referem-se ao Grupo 2.

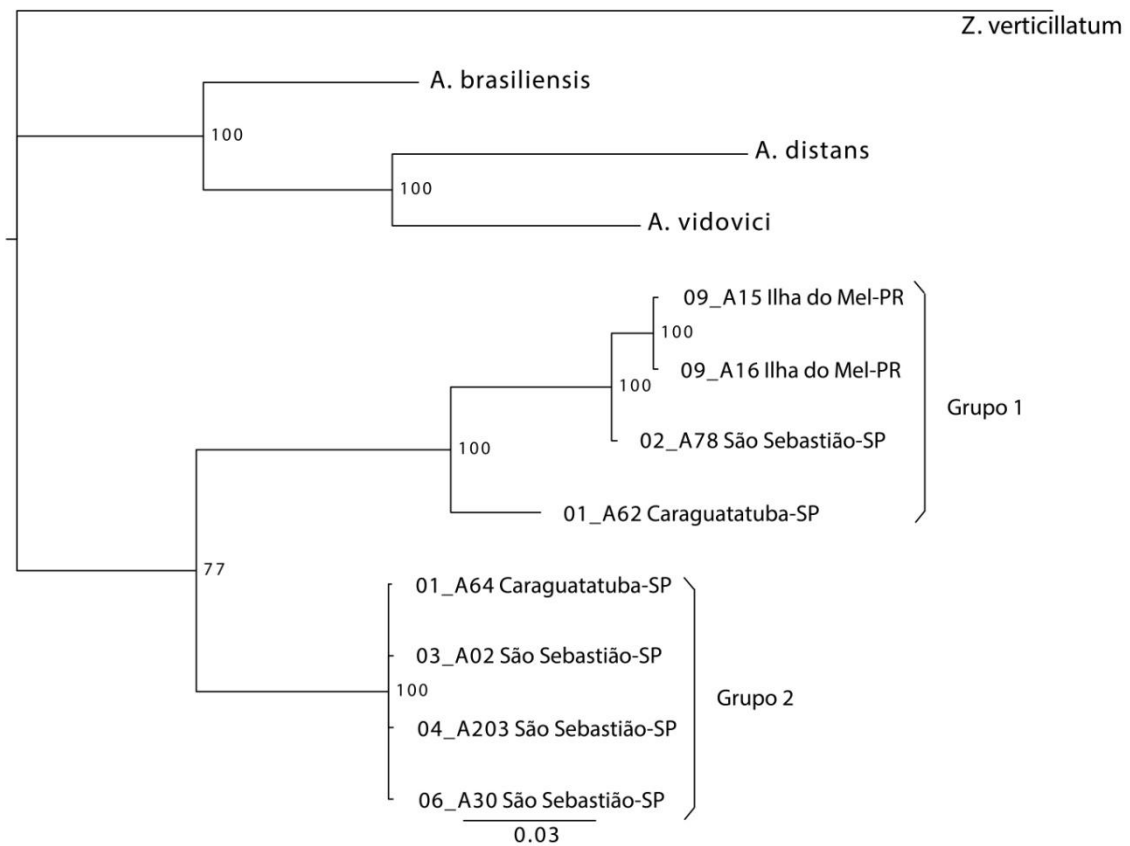


Figura 24 - Análise Filogenética concatenada do gene COI (COI-5P e COI-3P) para *A. cf. crispa*, cada sequência está representada pelo código da amostra, localidade, cidade, estado da federação respectivamente, e em grupos. Os Estados da federação estão representados pelas siglas, São Paulo-SP; Paraná-PR. São elas: A15, A16, Morro do Sabão - Ilha do Mel-PR, A78 - Araçá - São Sebastião-SP, A62 - Porto Novo - Caraguatatuba-SP referem-se ao Grupo 1; A64 - Porto Novo- Caraguatatuba-SP, A2 - Praia Preta, A203 - Praia Grande, A30 Canal (ambas em - São Sebastião-SP) referem-se ao Grupo 2.

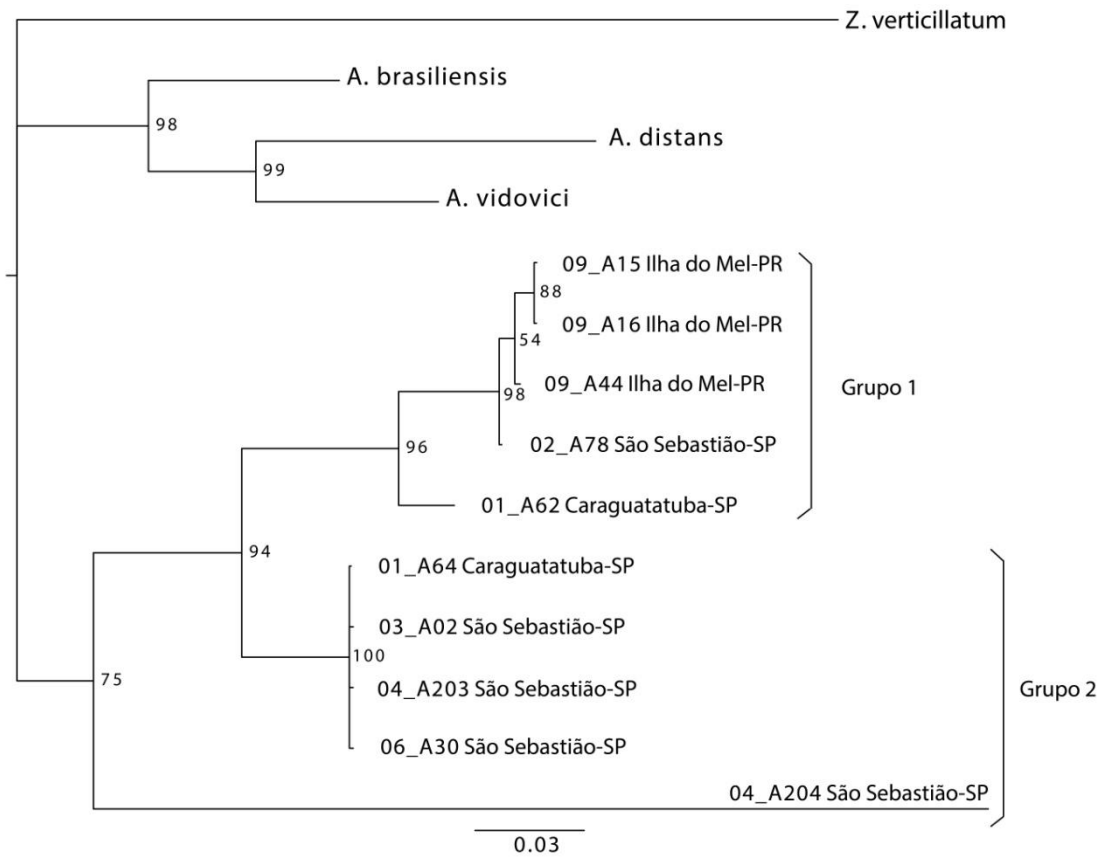


Figura 25 - Análise Filogenética concatenada do gene 16S e COI (COI-5P+COI-3P) para *A. cf. crispa*, cada sequência está representada pelo código da amostra, localidade, cidade, estado da federação respectivamente, e em grupos. Estados da federação: São Paulo-SP; Paraná-PR. Amostras: A15, A16, A44, Morro do Sabão, Ilha do Mel-PR, A78 – Araçá, São Sebastião-SP, A62 - Porto Novo, Caraguatatuba-SP referem-se ao Grupo 1; A64 - Porto Novo, Caraguatatuba-SP, A2 - Praia Preta, A203 - Praia Grande, A30 Canal de São Sebastião (ambas em São Sebastião-SP) referem-se ao Grupo 2, além de um terminal isolado A204 da localidade Praia Grande, São Sebastião-SP.

## **Taxonomia**

**Filo Bryozoa Ehrenberg, 1831**

**Classe Gymnolaemata Allman, 1856**

**Ordem Ctenostomata Busk, 1852**

**Subordem Euctenostomata Jebram, 1973**

**Superfamília Vesicularioidea Johnston, 1847**

**Família Vesiculariidae Hincks, 1880**

**Gênero Amathia Lamouroux, 1812**

***Amathia crispera* (Lamarck, 1816)**

(Figura 27 A-D, 28 A-D; Tabelas 8, Apêndice: Tabela II)

*Serialaria crispera* Lamarck, 1816: 131.

*Amathia convoluta* Lamouroux, 1816: 160; 1824: 69.

*Amathia convoluta*: Tenison-Woods, 1880: 100; Macgillivray, 1895: 133, pl. A, fig 3B; Waters, 1910: 242; Harmer, 1915: 64, pl. V, fig 1-5; Marcus, 1937: pl XXVII, fig 73; Osburn & Soule, 1953: 740, pl. 78, fig 6;

*Amathia spiralis*: Busk, 1886: 34, pl vi, fig 2B.

*Amathia. alternata*: Osburn, 1932: 444, pl I, Fig 4.

*Amathia crispera*: Pergens, 1887: 90; d'Hondt, 1983: fig 37C.

## **Material examinado**

*Amathia convoluta*, TMAG H2869 (A80 no acervo do CEBIMar) *Tasmanian Museum Art Gallery* localidade do material tipo; foto de um pequeno pedaço de *A. crispera* da coleção de Heller (1867), Instituto de Zoologia da Universidade de Innsbruck (Áustria); Material adicional coletado e acervo do CEBIMar-USP, A2, A30, A33, A78, A202, A203, A204, A205, A206, A242, A243, São Sebastião-SP; A62, A64, Caraguatatuba-SP, Apêndice: Tabela II).

## **Descrição**

Colônias quitinosas, ramificadas, eretas, arbustivas, variando de esbranquiçadas a branco pardo. Superfície frontal dos estolões e zooides espessa, com

estolão grosso e elástico, de diâmetro e comprimento variando, respectivamente, de 0,178-0,381 mm e 2,227-4,515 mm. Sem estolões com ramificações desnudas (sem zooides). Agrupamentos de zooides cobrem de mais da metade até quase todo o internódio do estolão, ocupando de 73,81 a 95,35% da extensão linear deste. Autozooides saculares, com 0,071-0,131 mm de largura e 0,464-0,714 mm de comprimento, agrupados bisserialmente ao longo do estolão, próximo à bifurcação do ramo. Grupos de zooides com 28 a 43 pares, com 1,806-3,853 mm de comprimento linear; zooides dispostos em espiral ao redor do estolão, descrevendo um ângulo que varia de 360-500° do início ao fim do grupo, em sentido horário ou anti-horário, os ramos filhos não seguindo o sentido do ramo materno. Autozooides com porção apical livre. Rizoides quase sempre presentes, frequentemente proximais e eventualmente distais ou laterais na colônia. Número de tentáculos e características dos polipídios não observados.

### **Comentários**

*Amathia crispa* difere das demais espécies do gênero principalmente pelo arranjo dos agrupamentos de zooides, formando uma espiral com até mais de 1,5 volta (Harmer, 1915), e que recobre quase toda a extensão linear do internódio em mais de 90% (até 95,35% neste estudo).

O estolão espesso e bastante maleável é outra característica diagnóstica da espécie. O espécime tipo foi coletado em Bass Straits (Austrália), sendo nomeado por Lamarck em 1816 como *Serialaria crispa* (material depositado no Museu de História Natural da França, Paris). No mesmo ano de 1816 *Amathia convoluta* foi descrita por Lamouroux, tendo sido mais tarde considerada como sinônimo de *Serialaria crispa* (veja d'Hondt 1983).

Pergen (1887) foi o primeiro a transferir a espécie para o gênero *Amathia*, sendo posteriormente considerada como sinônimo de *Amathia convoluta* (Lamarck, 1816) (e.g. Harmer, 1915). Seu status específico foi revalidado por d'Hondt (1983), opinião seguida pela maioria dos autores subsequentes.

Chimonides (1987) numa extensa revisão de várias espécies de *Amathia*, ilustra o espécime-tipo de *Amathia crispa* depositado no Natural History Museum (NHMUK 1899.7.1.6600, Chimonides 1987, Fig. 12D), porém não avalia seu *status* específico. Da

mesma forma, Gordon & Spencer Jones (2013) incluem *A. crispa* em uma chave identificação das espécies de *Amathia*, sem também tecer considerações taxonômicas sobre a espécie.

As características ângulo de rotação do agrupamento, com variação 360-500 graus (~1,5 volta) e grande extensão de cobertura dos zooides no estolão (até 95,35%) concorda com as descrições de d'Hondt (1983) e Marcus (1937). Contudo, segundo a chave de identificação de Gordon & Spencer Jones (2013), os agrupamentos de zooides em *A. crispa* devem cobrir predominantemente mais de 90% do internódio do estolão, contrastando com os valores obtidos pelo presente (73,81-95,35%).

Muitas outras características avaliadas neste trabalho estão de acordo com a descrição de d'Hondt (1983), como por exemplo ausência de estolões nus (sem zooides) e as séries de zooides terminando próximas dos nós estolonais. Contudo, outras características diferem do descrito por ele, que afirma, por exemplo, que o padrão de rotação dos agrupamentos se mantém nos ramos filhos, ao contrário do observado pelo presente e por Waters (1910) e Marcus (1937) (ramos filhos não mantêm o mesmo padrão do ramo mãe na mesma colônia). Os exemplares descritos por d'Hondt (1983) em geral apresentam o comprimento dos agrupamentos com medidas menores.

Todas as análises morfológicas realizadas são inequívocas quanto às diferenças existentes entre o exemplar examinado de *Amathia convoluta* e aqueles de *Amathia crispa* da costa brasileira.

### **Notas Biológicas**

*Amathia crispa* foi amostrada em locais abrigados, sobre diversos substratos, principalmente seixos e rochas, e, em menor proporção, na região entremarés sobre algas e outros briozoários, além de misturadas em algas e colônias arribadas em praias arenosas. Muitas colônias estavam em superfícies de inclinação positiva, embora ocorressem também em paredes verticais rochosas e com inclinação negativa.

As variações de cores encontradas ocorrem em parte devido ao acúmulo de sedimento sobre as colônias. As colônias vivas têm um tom branco-amarelado vivo (com tendência maior ao branco), mas quando armazenadas em etanol perdem a cor gradativamente, tendendo a ficarem transparentes.

A maioria das colônias foi encontrada durante o inverno, nenhuma delas tendo sido amostrada durante o verão, apesar do esforço amostral em mesmas localidades do estado ao longo de um ano (outubro 2012 – outubro 2013).

### **Distribuição**

Atlântico Sul Ocidental e oceano Pacífico (Austrália, Indonésia). No Brasil, há registro apenas para o litoral do estado de São Paulo (Santos, Marcus, 1937, como *A. convoluta*; São Sebastião, presente trabalho e Vieira *et al.*, 2008, como *A. convoluta*; Caraguatatuba, presente trabalho).

### **Taxonomia**

**Filo Bryozoa Ehrenberg, 1831**

**Classe Gymnolaemata Allman, 1856**

**Ordem Ctenostomata Busk, 1852**

**Subordem Euctenostomata Jebram, 1973**

**Superfamília Vesicularioidea Johnston, 1847**

**Família Vesiculariidae Hincks, 1880**

**Gênero *Amathia* Lamouroux, 1812**

*Amathia* sp. nov. 2

(Figura 27 E-H, 28 E-H; Tabelas 8, Apêndice: Tabela II)

### ***Material examinado***

Material coletado e acervo do CEBIMar A15, A16, A42, A43, A44, Ilha do Mel-PR, Apêndice: Tabela II).

### **Descrição**

Colônias quitinosas, ramificadas, eretas, arbustivas, variando de esbranquiçado transparente a branco pardo. Superfície frontal dos estolões e zooides espessa e elástica. Estolões sem ramificações desnudas (sem zooides); internódios com diâmetro e comprimento variando de 0,226-0,327 mm e 2,348-3,130 mm, respectivamente. Autozooides saculares, dispostos bisserialmente em grupos ao longo do estolão,



próximo a bifurcação do ramo. Agrupamentos de zooides cobrindo de mais da metade até quase todo estolão (extensão linear de ocupação de 71,11 a 90,38%). Agrupamentos com 21 a 32 pares de zooides, cobrindo de 1,806-2,829 mm de comprimento linear, dispostos em espiral ao redor do estolão, descrevendo um ângulo de 350-360°, em sentido horário ou anti-horário; ramos filhos não seguem o sentido do ramo materno. Autozooides com porção apical livre. Largura e comprimento dos autozooides variando de 0,071-0,119 mm e 0,464-0,595 mm, respectivamente. Rizoides quase sempre presentes, frequentemente proximais e eventualmente distais ou laterais na colônia. Número de tentáculos e características polípídios não observados.

### **Comentários**

*Amathia* sp. nov.2 foi encontrada somente em uma localidade no litoral do estado do Paraná. Sua morfologia é similar a de *A. convoluta* (Lamarck, 1816) e muito semelhante a de *A. crispa* (Lamarck, 1816).

*Amathia* sp. nov.2 apresenta em geral medidas menores que *A. crispa*, principalmente nas características ângulo de rotação do agrupamento e número de pares de zooides, com variação respectivamente de 350-360° (360-500° em *A. crispa*) e 21-32 (28-43 pares em *A. crispa*). Ambas assemelham-se na disposição espiral dos agrupamentos de zooides, na rotação da espiral sem um sentido único (ramos filhos não seguem o sentido de rotação do ramo materno), na extensão linear de ocupação dos zooides ao longo do estolão, e no aspecto do estolão, grosso e elástico.

*Amathia* sp. nov.2 difere de *A. convoluta* pelo número maior de pares de zooides por agrupamento (21-32 na primeira e 18-21 na segunda) e internódios menores (2,348-3,130 mm na primeira, 3,070-3,973 mm na segunda). Embora o número de zooides nos agrupamentos seja diferente entre ambas, o ângulo de rotação do agrupamento é similar (350-360 graus). Isso reflete também numa maior extensão linear de ocupação por zooides nos internódios estolonares em *Amathia* sp. nov.2.

### **Notas Biológicas**

A espécie nova foi encontrada somente em substrato rochoso. As variações de cores ocorrem não só devido à cutícula de quitina mas também pela deposição de

sedimento sobre a colônia. As cores são mais fortes nas colônias vivas, as quais gradativamente empalidecem quando mantidas em etanol, tendendo a ficarem transparentes.

### **Distribuição**

As cinco colônias analisadas foram encontradas em somente uma localidade, (de 111 visitadas), Morro do Sabão, Ilha do Mel-PR.



Figura 26: Fragmento de um espécime seco de *Amathia crispa* da coleção de Heller 1867 (Instituto de Zoologia da Universidade de Innsbruck-Áustria). (foto de Barbara Thaler-Knoflach, responsável pela coleção).

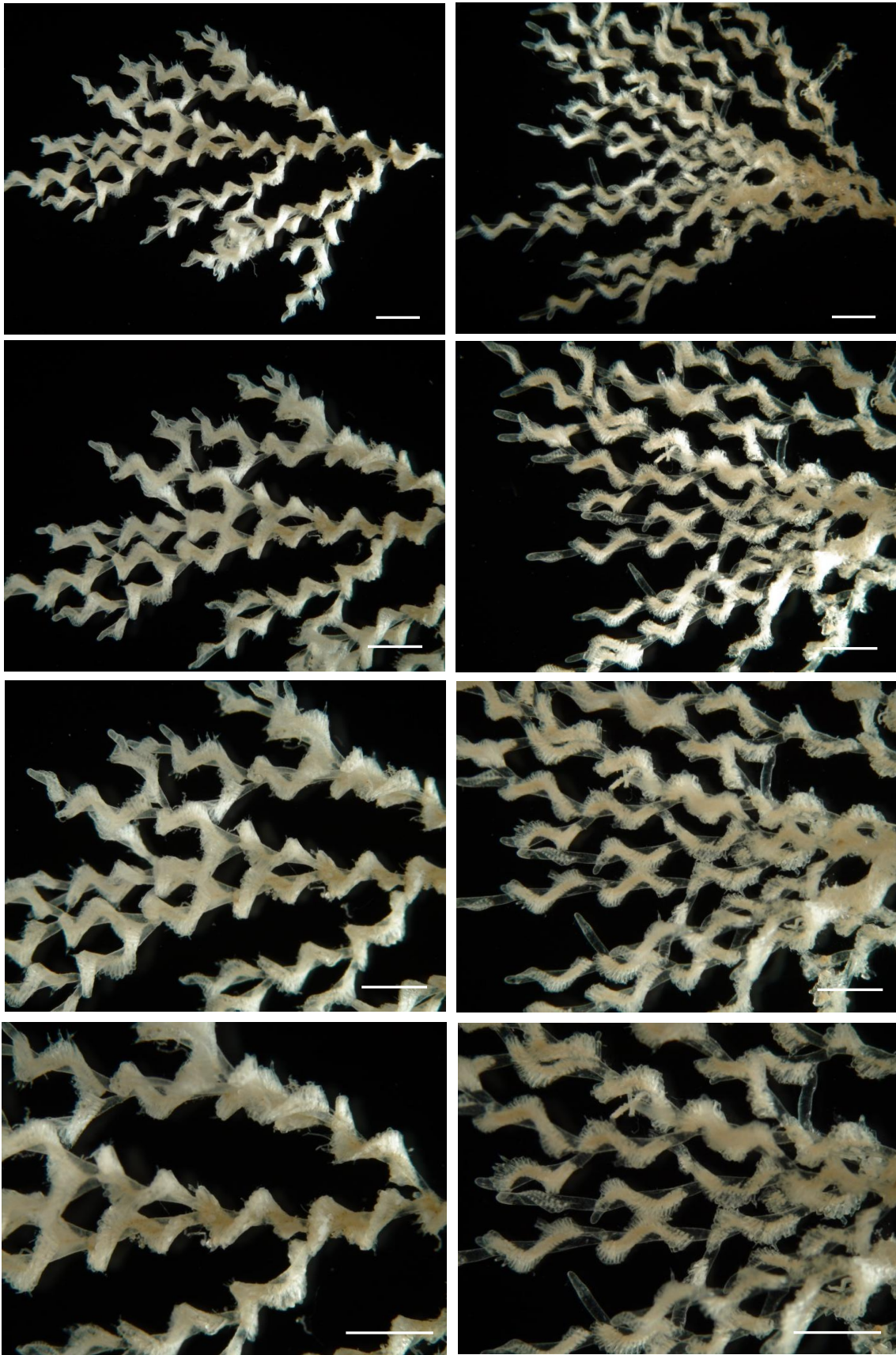


Figura 27 – A –D: *Amathia crispa*; E –H: *Amathia* sp. nov.2. Escala: 1 mm. Observe as menores dimensões gerais de *Amathia* sp. nov.2, como o comprimento do agrupamento de zooides.

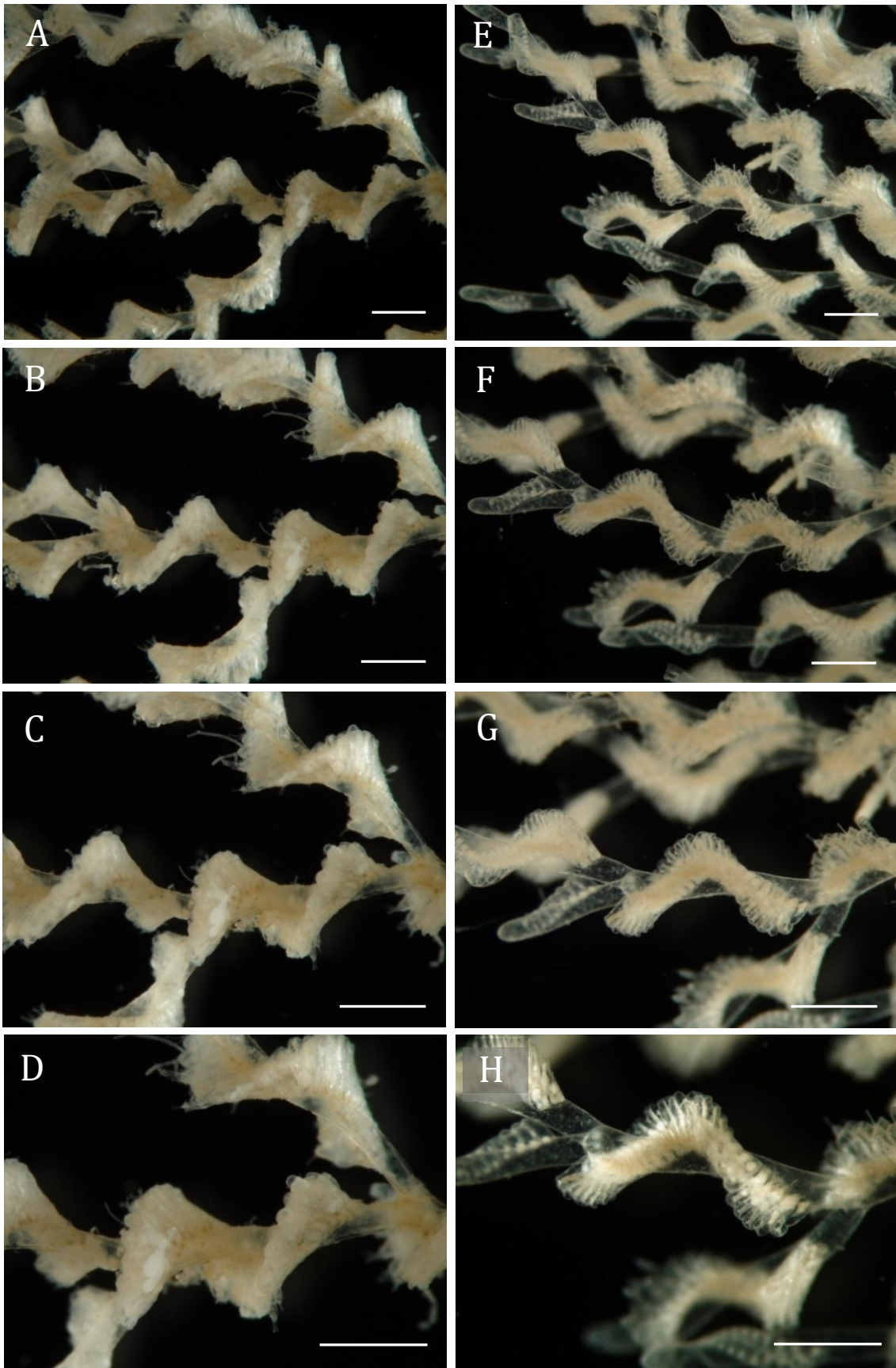


Figura 28 – A –D: *Amathia crispa*; E –H: *Amathia* sp. nov.2. Escala: 2 mm. Observe as menores dimensões gerais de *Amathia* sp. nov.2, como o comprimento do agrupamento de zooides e ângulo da espiral, completando 1 volta ao redor do estolão.

## DISCUSSÃO

O emprego conjunto de ferramentas morfológicas e moleculares se mostrou eficiente na delimitação das espécies estudadas.

As mais de 100 localidades visitadas cobriram uma grande extensão do litoral brasileiro (Ceará a Santa Catarina), onde se esperava encontrar os táxons em estudo, *A. cf. vidovici* e *A. cf. crispa*, apesar dos poucos relatos de ambas para a costa brasileira (Marcus, 1937; Rocha, 1995; Vieira *et al.* 2007, 2008; Fehlaue-Ale *et al.* 2011). As coletas revelaram a existências de duas espécies novas para a ciência para cada um dos táxons previamente considerados como *A. cf. vidovici* e *A. cf. crispa*, designadas *Amathia* sp. nov.1 e *Amathia* sp. nov.2, respectivamente. As diferenças preliminarmente notadas quando ao aspecto geral das colônias foram confirmadas pela morfologia e sequencias de DNA mitocondrial.

Medidas como comprimento do agrupamento de zooides, comprimento do estolão, ângulo de rotação do agrupamento e, em menor grau, o número de pares de zooides diferenciaram *Amathia* sp. nov.1 de *Amathia vidovici* (Tabela 2; figuras, 16 e 17). Para *Amathia vidovici* as medidas dessas característica, que estão de acordo com o descrito na literatura (Prenant & Bobin, 1953; d'Hondt, 1983; Hayward & Mckinney, 2002; Souto *et al.* 2010), foram em geral menores em comparação com as apresentadas pela espécie nova.

*Amathia* sp. nov.2 é considerada como uma nova espécie por possuir internódios menores, com um número também menor de zooides, que por sua vez possuem uma espiral mais curta, cobrindo uma extensão linear menor do internódio do estolão. Assim, o agrupamento de zooides forma uma espiral completa ao redor do estolão, diferentemente do encontrado nas colônias de *A. crispa*, tanto daquelas analisadas neste estudo quanto das descritas na literatura (1,5 volta ou mais; Harmer, 1915; Marcus, 1937; d'Hondt, 1983)

As análises moleculares corroboram a morfologia para ambos os agrupamentos *A. cf. vidovici* e *A. cf. crispa*. Os genes utilizados (16S, COI-5P, COI-3P) haviam se mostrado úteis na identificação de espécies do gênero *Amathia* (16S e COI-5P,

Fehlauer-Ale *et al.*, 2011), tendo sido importantes na diferenciação de espécies crípticas do filo Bryozoa (Gómez, *et al.* 2007; Schwaninger, 2008; Fehlauer-Ale 2014).

As cinco análises realizadas com os três genes (16S, COI-5P, COI-3P e concatenadas) destacam a existência de *Amathia* sp. nov.1, partir das sequências de Cabo Frio-RJ e Vitória-ES, como um táxon distinto de *Amathia vidovici*, representado pelas demais sequências.

Mesmo com as poucas sequências obtidas devido à pequena amostragem encontrada, as análises com os fragmentos COI-5P, COI-3P e concatenadas mostram que as sequências oriundas da ilha do Mel-PR estão altamente relacionadas e que são distintas das de São Sebastião-SP e Caraguatatuba-SP. Isso indica que as amostras da Ilha do Mel-PR referem-se a uma espécie distinta, como também indicado pelas análises morfológicas.

A distribuição das quatro espécies ao longo do litoral brasileiro se mostraram distintas. Anteriormente relatada apenas para os estados de Alagoas, São Paulo e Paraná (Rocha, 1995; Vieira *et al.* 2007, 2008; Fehlauer-Ale *et al.*, 2011), *Amathia vidovici* apresentou distribuição mais ampla, ocorrendo do Ceará a Santa Catarina, e, portanto, cobrindo três ecorregiões, Nordeste Brasil, Leste Brasil e Sudeste Brasil (Spalding *et al.*, 2007). As amostras compreendidas na ecorregião Nordeste tiveram em geral medidas menores de muitas características avaliadas, quando comparadas com as colônias das demais ecorregiões (Leste e Sudeste Brasil) e com a espécie nova (vide Tabela 2).

O agrupamento *A. cf. crispa* estava relatado no Brasil para os estados de São Paulo e Paraná (Marcus, 1937 e Vieira *et al.* 2008, como *Amathia convoluta*; Fehlauer-Ale, *et al.* 2011), SP e PR, a mesma distribuição observada neste estudo. O exame do material estudado por Vieira *et al.* (2008), identificado como *A. convoluta*, proveniente de São Sebastião-SP, mostrou-se tratar de *Amathia crispa* (Lamarck, 1816), e as análises realizadas e informações obtidas permitem também inferir que a descrição de Marcus (1937) seja de *A. crispa*. Segundo os resultados do presente trabalho, *Amathia crispa* está restrita ao litoral de São Paulo, enquanto *Amathia* sp. nov.2 ao litoral do Paraná.

Os resultados indicam que *Amathia crispa* é de ocorrência sazonal (outono e inverno) na região Sudeste do Brasil. Para as demais espécies estudadas não se tem

dados de ocorrência temporal, uma vez que as coletas nas demais regiões foram pontuais. Da mesma forma, as distribuições geográficas das quatro espécies de *Amathia* abordadas têm de ser confirmadas com novas amostragens, preferencialmente sazonais, ao longo do litoral brasileiro, sobretudo em locais rasos e abrigados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, A.C.S.; F.B.C. Souza; C.M.S. Menegola; J. Sanner & L.M. Vieira. 2014. Taxonomic review of the family Colatooeciidae Winston, 2005. (Bryozoa, Cheilostomata), with description of seven new species. *Zootaxa* 3868 (1): 001–061.
- Almeida, A.C.S. & F.B.C. SOUZA. 2014. Two new species of cheilostome bryozoans from the South Atlantic Ocean. *Zootaxa* 3753(3): 283–290.
- Alves, D.F.R.; S.P. Barros-Alves; D.J.M. Lima; V.J. Cobo & M.L. Negreiros-Fransozo. 2013. Brachyuran and anomuran crabs associated with *Schizoporella unicornis* (Ectoprocta, Cheilostomata) from southeastern Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 85(1): 245-256.
- Barroso M.G. 1922. Notas sobre Briozoos marinos españoles. XII. *Boletín de la Real Sociedad española de Historia Natural (Biología)* 23: 188-191.
- Bock, P. 2013. Bryozoan Home Page: Recent and Fossil Bryozoa. Philip Bock, Mount Waverley (VIC). Disponível em: <http://bryozoa.net/> [08/05/2013].
- Bradstock, M. & D. Gordon. 1983. Coral-like bryozoan growths in Tasman Bay, and their protection to conserve commercial fish stocks. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 17: 159–163.
- Brusca, R.C. & G.J. Brusca. 2007. Lofoforados, 805-835p. Guanabara Koogan (Ed.) *Invertebrados*, 2ª edição, 922p.
- Bucklin, A.; B.W. Frost; J. Bradford-Grieve; L.D. Allen & N.J. Copley. 2003. Molecular systematic and phylogenetic assessment of 34 calanoid copepod species of the Calanidae and Clausocalanidae. *Marine Biology* 142: 333-343.

- Busk, G. 1886. Report on the Polyzoa collected by H.M.S. Challenger during the years 1873–1876. Part. 2. The Cyclostomata, Ctenostomata and Pedicellinea. *Zoology* 17(3): 1-47.
- Carroll, A.R.; S. Duffy; M. Sykes & V.M. Avery. 2011. Wilsoniamines A and B: novel alkaloids from the temperate Australian bryozoan, *Amathia wilsoni*<sup>†</sup>. *Organic & Biomolecular Chemistry* 9: 604-609.
- Clarke, K.R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* 18: 117-143.
- Clarke, K.R. & R.M. Warwick. 2001. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd edition. PRIMER-E, Plymouth.
- Clarke, K.R. & R.N. Gorley. 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth.
- Castresana, J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* 17: 540-552.
- Chimonides, P.J. 1987. Notes on some species of the genus *Amathia* (Bryozoa, Ctenostomata). *Bulletin of the British Museum (Natural History), Zoology* 52: 307-358.
- Cocito, S. 2004. Bioconstruction and biodiversity: Their mutual influence. *Scientia Marina* 68(1): 137-144.
- Curini-Galletti, M.; B.L. Webster; T. Huyse; M. Casu; E. Schockaert; T.J. Artois & D.T.J. Littlewood. 2010. New insights on the phylogenetic relationships of the *Proseriata* (Platyhelminthes), with proposal of a new genus of the family Coelogynoporidae. *Zootaxa* 2537: 1-18.
- Delle Chiaje, S. 1822. Memorie sulla Storia e Notomia degli Animali senza Vertebræ del Regno di Napoli. Fratelli Fernandes, Napoli, 109p.
- d'Hondt, J.L. 1983. Tabular keys for the identification of the Recent Ctenostomatous Bryozoa. *Mémoires de l'Institut Océanographique* 14: 1-134.
- Drummond A.J.; B. Ashton; S. Buxton; M. Cheung; A. Cooper; C. Duran; M. Field; J. Heled; M. Kearse; S. Markowitz; R. Moir; S. Stones-Havas; S. Sturrock; T. Thierer & A. Wilson. 2011. Geneious v5.5.7, Available from <http://www.geneious.com/>.
- Fehlauer-Ale, K.H.; L.M. Vieira & J.E. Winston. 2011. Molecular and morphological characterization of *Amathia distans* Busk and *Amathia brasiliensis* Busk



- (Bryozoa: Ctenostomata) from the tropical and subtropical Western Atlantic. *Zootaxa* 2962: 49-62.
- Fehlauer-Ale, K.H.; J.A. Mackie; G.E. Lim-Fong; E. Ale; M.R. Pie & A. Waeschenbach. 2014. Cryptic species in the cosmopolitan *Bugula neritina* complex (Bryozoa, Cheilostomata). *Zoologica Scripta* 43:193-205.
- Fernández-Pulpeiro E. & O. Reverter-Gil. 1995. Les Bryozoaires Cténostomes de la Ría de Ferrol (Espagne nordoccidentale). *Cahiers de Biologie Marine* 36: 47-55.
- Folmer, O.; M. Black; W. Hoeh; R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Funch, P. & R.M. Kristensen. 1995. Cyclophora is a new phylum with affinities to Entoprocta and Ectoprocta. *Nature* 378: 711-714.
- Green, A.P.; S. Hardy; A.T.L. Lee & E.J. Thomas. 2010. Approaches to the total synthesis of biologically active natural products: studies directed towards bryostatins. 2010. *Phytochem Reviews* 9:501-513.
- Gómez, A.; P.J. Wright; D.H. Lunt; J.M. Cancino; G.R. Carvalho & R.N. Hughes. 2007. Mating trials validate the use of DNA barcoding to reveal cryptic speciation of marine bryozoan taxon. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences* 274: 199-207.
- Gordon, D. P. 2009. New bryozoan taxa from a new marine conservation area in New Zealand, with a checklist of Bryozoa from Greater Cook Strait. *Zootaxa* 1987: 39-60.
- Gordon, D.P. & M. Spencer-Jones. 2013. The amathiiiform Ctenostomata (phylum Bryozoa) of New Zealand including four new species, two of them of probable alien origin. *Zootaxa* 3647(1): 75-95.
- Guindon, S. & O. Gascuel. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52:696–704.
- Hajibabaei, M.; G.A.C Singer; P.D.N. Hebert & D.A. Hickey. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics* 23: 167-172.

- Handschumacher, L.; M.B. Steinarsdóttir; S. Edmands & A. Ingólfsson. 2010. Phylogeography of the rock-pool copepod *Tigriopus brevicornis* (Harpacticoida) in the northern North Atlantic and its relationship to other species of the genus. *Marine Biology* 157: 1357-1366.
- Harmer, S.F. 1915. The Polyzoa of the Siboga Expedition. Part I. Entoprocta, Ctenostomata and Cyclostomata. Siboga- Expeditie 1–180.
- Hayward, P.J. 1985. Ctenostome bryozoans. In: Kermack, D.M., Barnes, R.S.K. (Eds.), *Synopses of the British Fauna (New Series)*, E.J. Brill for the Linnean Society, London vol. 33.
- Hayward, P.J. & F.K. McKinney 2002. Northern Adriatic Bryozoa from the vicinity of Rovinj, Croatia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 270: 139p
- Hejnol, A.; M. Obst; A. Stamatakis; M. Ott; G.W. Rouse; G.D. Edgecombe; P. Martinez; J. Baguña; X. Bailly; U. Jondelius; M. Wiens; W.E.G. Muller; E. Seaver; W.C. Wheeler; M.Q. Martindale; G. Giribet & C.W. Dunn. 2009. Assessing the root of bilaterian animals with scalable phylogenomic methods. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 276: 4261-4270.
- Heller, C. 1867. Die Bryozoen des adriatischen Meeres. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien* 17: 77-136.
- Herbet, P.D.N.; S. Ratnasingham & J.R. de Waard. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences* 270: 96-99.
- Hebert, P.D.N.; M.Y. Stoeckle; T.S. Zemlak & C.M. Francis. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology* 2: 1657-1663.
- Hebert, P.D.N. & T.R. Gregory. 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology* 54: 852-859.
- Hoare, K.; A.J. Goldson; N. Giannasi & R.N. Hughes. 2001. Molecular phylogeography of the cosmopolitan bryozoan *Celleporella hyalina*: Cryptic speciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18: 488-492.
- Hogg, I.D. & P.D.N. Hebert. 2004. Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes. *Canadian Journal Zoology* 82: 749-754.

- Hutchins, L.W. 1945. An annotated check-list of the salt-water Bryozoa of Long Island Sound. *Trans, Connect Academic Science* 36: 533-551.
- Johnson, N.K. & C. Cicero. 2004. New mitochondrial DNA data affirm the importance of Pleistocene speciation in North American birds. *Evolution* 58: 1122-1130.
- Joliet, L. 1888. Bryozoaires nouveaux de Roscoff et Bryozoaires de Menton. *Ibid.* 2(6): 103-109.
- Katoh, K.; K. Kuma; H. Toh; & T. Miyata. 2005. MAFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research* 33: 511-518.
- Lamarck, J.B. 1816. *Histoire naturelle des Animaux sans Vertèbres. Tome Second*, Paris: 568p.
- Lamouroux, J.V.F. 1812. Extrait d'un mémoire sur la classification des Polypiers coralligènes non entièrement pierreux. *Nouveau Bulletin des Sciences par la Société Philomatique de Paris* 3: 181-188.
- Lamouroux, J.V.F. 1816. *Histoire des polypiers coralligens flexibes, vulgairement nommés Zoophytes*. F. Poisson Caen, 559p.
- Lamouroux, J.V.F. 1824. Amathie. In: *Encyclopédie Méthodique d'Histoire Naturelle des Zoophytes ou Animaux Rayonnés*. Agasse: Paris 95: 42-45.
- Lee, H.J.; Y.S Kwan; S.R. Kong; B.S. Min; Seo, J.E. & Y.J. Won. 2011. Dna barcode examination of Bryozoa (class: Gymnolaemata) in Korea Seawater. *Korean Journal of Systematic Zoology* 27(2): 159-163.
- Lidgard, S. 2008. Predation on marine bryozoan colonies: taxa, traits and trophic groups. *Marine Ecology Progress Series* 359: 117–131.
- Linnaeus, C. 1758. *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, locis*. 10th edition. Tomus I. Stockholm: Laurentii Salvii, 824p.
- Linnaeus, C. 1767. *Systema naturae*. 12th edition. Tomus I Regnum Animale. Stockholm: Laurentii Salvii, 1327p.
- Lorenz, J.G.; W.E. Jackson; J.C. Beck & R. Hanner. 2005. The problems and promise of DNA barcodes for species diagnosis of primate biomaterials. *Philosophical Transactions of The Royal Society B* 360: 1869-1877.
- Marcus, E. 1937. Briozoários marinhos brasileiros I. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Zoologia* 1: 5-224.

- MacGillivray, P.H. 1895. On the Australian species of Amathia. Proceedings of the Royal Society of Victoria 7: 131–140.
- Moura, C.J.; M.R. Cunha; F.M. Porteiro & A.D. Rogers. 2011. The use of the DNA barcode gene 16S mRNA for the clarification of taxonomic problems within the family Sertulariidae (Cnidaria, Hydrozoa). Zoologica Scripta 40: 520-537.
- Nelson C.S.; S.L. Keane & P.S. Head. 1988. Non-tropical carbonate deposits on the modern New Zealand shelf. Sedimentary Geology 60: 71–94.
- Nesnidal, M.P.; M. Helmkampf; A. Meyer; A. Witek; I. Bruchhaus; I. Ebersberger; T. Hankeln; B. Lieb; T.H. Struck & B. Hausdorf. 2013. New phylogenomic data support the monophyly of Lophophorata and an Ectoproct-Phoronid clade and indicate that Polyzoa and Kryptrochozoa are caused by systematic bias. BMC Evolutionary Biology. 13(253): 1-13.
- Nikulina, E.A.; R. Hanel & P. Schäfer. 2007. Cryptic speciation and paraphyly in the cosmopolitan bryozoans *Electra pilosa* — Impact of the Tethys closing on species evolution. Molecular Phylogenetics and Evolution 45: 765-776.
- Osburn, R.C. 1912. The Bryozoa of the Woods Hole region. Bulletin of the United States Bureau of Fisheries 30: 201–266.
- Osburn, R.C. 1932. Bryozoa from Chesapeake Bay. Ohio journal of science 32(5): 441-446.
- Osburn, R.C. 1940. Scientific survey of Porto Rico and the Virgin islands. The New York Academy of Sciences vol16, part 3.
- Osburn, R.C. 1944. A survey of the Bryozoa of Chesapeake Bay. Publications - Cheseapeake biological laboratory, 63: 59p
- Posada, D. 2008. JModelTest: phylogenetic model averaging. Molecular Biological Evolution 25: 1253–1256.
- Pergens, E. 1887. Contributions a l'histoire des Bryozoaires et des Hydrozoaires récents. Annales de la Société royale malacologique de Belgique 22: 85-90.
- Prenant, M. & Bobin, G. 1956. Bryozoaires. Première partie: Entoproctes, Phylactolèmes, Cténostomes. Faune de France 60: 1–398.
- Ramalho, L.V.; G. Muricy & P.D. Taylor. 2009. Cyclostomata (Bryozoa, Stenolaemata) from Rio de Janeiro State, Brazil. Zootaxa 2057: 32-52.

- Ramalho, L.V.; G. Muricy & P.D. Taylor. 2010. Taxonomy of *Beania* Johnston, 1840 (Bryozoa, Flustrina) from Arraial do Cabo, Rio de Janeiro State, Brazil. *Arquivo do Museu Nacional, Rio Janeiro* 66(3-4): 499-508.
- Ramalho, L.V.; G. Muricy & P.D. Taylor. 2011. Taxonomic revision of some lepraliomorph cheilostome bryozoans (Bryozoa: Lepraliomorpha) from Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of Natural History* 45(13): 767-798.
- Ratnasingham, S. & P.D.N. Hebert. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). *Molecular Ecology Notes* 7: 355-364.
- Reverter-Gil, O. & E.E. Fernández-Pulpeiro. 2001. Inventario y cartografía de los Briozoos marinos de Galicia (N.O. de España). *Monografías de Nova Acta Científica Compostelana, Serie Biología* 1: 1-243.
- Rocha, R.M. 1995. Abundance and distribution of sessile invertebrates under intertidal boulders São Paulo, Brazil. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 43(1): 71–88.
- Roe, A.D. & F.A.H. Sperling. 2007. Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 325-345.
- Ronquist, F. & J.P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Santana, F.T.; L.V. Ramalho & C.P. Guimarães. 2009. A new species of *Metrarabdotos* (Bryozoa, Ascophora) from Brazil. *Zootaxa* 2222: 57-65.
- Schwaninger, H.R. 1999. Population structure of the widely-dispersing marine bryozoans *Membranipora membranacea* (Cheilostomata): implications for population history, biogeography, and taxonomy. *Marine Biology* 135: 411-423.
- Schwaninger, H.R. 2008. Global mitochondrial DNA phylogeography and biogeographic history of the antitropically and longitudinally disjunct marine bryozoan *Membranipora membranacea* (Cheilostomata): Another cryptic marine sibling species complex? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 893-908.
- Sharp, J.H.; M.K. Winson & J.S. Porter. 2007. Bryozoan metabolites: an ecological perspective. *Natural Products Reports* 24: 659–673.
- Souto, J.; E. Fernández-Pulpeiro & O. Reverter-Gil. 2010. The genus *Amathia* Lamouroux (Bryozoa: Ctenostomata) in Iberian waters. *Cahiers de Biologie Marine* 51: 181-195.

- Spalding, M.D.; H.E. Fox; G.R. Allen; N. Davidson; Z.A. Ferdaña; M. Finlayson; B.S. Halpern; M.A. Jorge; A.L. Lombana; S.A. Lourie; K.D. Martin; E. McManus; J. Molnar; C.A. Recchia & J. Robertson. 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience* 57(7): 573-583.
- Stoeckle, M. 2003. Taxonomy, DNA, and the barcode of life. *BioScience* 53: 796-797.
- Tenison-Woods, J.E. 1880. On the genus *Amathia* of Lamouroux, with a description of a new species. *Transactions of the Royal Society of Victoria* 16: 89–118.
- Verrill, A.E. 1873. Report on the invertebrates of Vineyard Sound and the adjacent waters, with an account of the physical characters of the region. Report of the US Fish Commission 1: 295–778.
- Vieira, L.M.; D.P. Gordon & M.D. Correia. 2007. First record of a living ditaxiporine catenicellid in the Atlantic, with a description of *Vasignyella ovicellata* n. sp. (Bryozoa). *Zootaxa* 1582: 49-58.
- Vieira, L.M.; A.E. Migotto & J.E. Winston. 2008. Synopsis and annotated checklist of recent marine Bryozoa from Brazil. *Zootaxa* 1810: 1-39.
- Vieira, L.M. & D.P. Gordon. 2010. *Eutaleola*, a replacement name for the homonym *Euteleia* (Bryozoa: Pasytheidae). *Zoologia* 27 (4): 646-648.
- Vieira, L.M.; A.E. Migotto & J.E. Winston. 2010a. *Marcusadoreia*, a new genus of lepralioid bryozoan from warm waters. *Zootaxa* 2348: 57-68.
- Vieira, L.M.; A.E. Migotto & J.E. Winston. 2010b. Shallow-water species of *Beania* Johnston, 1840 (Bryozoa, Cheilostomata) from the tropical and subtropical Western Atlantic. *Zootaxa* 2550: 1-20.
- Vieira, L.M.; D.P. Gordon; F.B.C. Souza & M.A. Hadda. 2010c. New and little-known cheilostomatous Bryozoa from the south and southeastern Brazilian continental shelf and slope. *Zootaxa* 2722: 1-53.
- Vieira, L.M.; J. E. Winston & K.H. Fehlaue-Ale. 2012. Nine New Species of *Bugula* Oken (Bryozoa: Cheilostomata) in Brazilian Shallow Waters. *PLoS One*, (7):7 e40492.
- Vieira, L.M. & S.N. Stampar. 2014. A new *Fenestrulina* (Bryozoa, Cheilostomata) commensal with tube-dwelling anemones (Cnidaria, Ceriantharia) in the tropical southwestern Atlantic. *Zootaxa* 3780(8): 365-374.

- Waeschenbach, A.; P.D. Taylor & D.T.J. Littlewood. 2012. A molecular phylogeny of bryozoans. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 718-735.
- Waeschenbach, A.; Vieira, L.M.; Souto-Derings, J.; Nascimento, K. B.; O. Reverter-Gil & K.H. Fehlaue-Ale. (em preparação). A molecular phylogeny of Vesiculariidae (Bryozoa; Ctenostomata) contests the reciprocal monophyly of the genera *Amathia* and *Bowerbankia*.
- Waters, A.W. 1910. Reports on the marine biology of the Sudanese Red Sea from collections made by Cyril Crossland, M.A., B.Sc., F.Z.S.: together with Collection made in the Red Sea by Dr. R. Hartmeyer - XV, The Bryozoa, Pt. 2, Cyclostomata, Ctenostomata and Endoprocta. *Journal of the Linnean Society London (Zoology)* 31: 231–256.
- Waters, A.W. 1914. The marine fauna of British East, Africa and Zanzibar from collections made by Cyril Crossland, M.A., B.Sc., F.Z.S., in the years 1901-1902. Bryozoa - Cyclostomata, Ctenostomata and Endoprocta. *Proceedings of the Zoological Society of London* 3: 831-858.
- Winston, J.E. 1982. Marine bryozoans (Ectoprocta) of the Indian River area, Florida. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 173: 99-176.
- Wood, A.C.L.; P.K. Probert; A.A. Rowden & A.M. Smith. 2012. Complex habitat generated by marine bryozoans: a review of its distribution, structure, diversity, threats and conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 22: 547-563.

## Resumo

Este trabalho visa esclarecer a identidade taxonômica de duas espécies de briozoários reportadas para o litoral brasileiro como *Amathia* cf. *vidovici* e *Amathia* cf. *crispa*, baseando-se em análises morfológicas e moleculares, utilizando os genes COI e 16S, que haviam se mostrado eficientes na diferenciação genética de outras espécies do gênero *Amathia*. Colônias foram amostradas em diversas localidades ao longo da costa brasileira, de Fortaleza, CE, a Palhoça, SC, tendo sido obtidas 107 amostras de *A.* cf. *vidovici* e 18 de *A.* cf. *crispa*. Uma espécie nova foi detectada para cada grupo avaliado: *Amathia* sp. nov.1 e *Amathia* sp. nov.2. *Amathia* sp. nov.1 é oriunda somente de localidades situadas em Cabo Frio, RJ e Vitória, ES, sendo distinta de *A.* cf. *vidovici* pelas medidas de maiores valores das seguintes características: 1) comprimento do agrupamento de zooides, 2) comprimento do internódio do estolão e 3) ângulo do agrupamento de zooides. *Amathia* sp. nov.2 foi encontrada exclusivamente na Ilha do Mel, PR revelando-se distinta de *A.* cf. *crispa* devido a medidas de menores valores das características: 1) ângulo da espiral, 2) número de pares de zooides, 3) comprimento do agrupamento de zooides e 4) comprimento do estolão. As análises moleculares corroboraram os resultados da morfologia, que conjuntamente revelaram também uma estrutura geográfica para *A.* *vidovici*. Esta foi encontrada em todo litoral do Brasil (CE, PB, PE, AL, BA, RJ, SP, PR, SC) sendo as colônias amostradas na ecorregião Nordeste, as que tiveram os menores valores mensurados das características analisadas quando comparadas com as das demais ecorregiões (maiores medidas). *Amathia vidovici* havia sido reportada anteriormente para localidades nos estados do Paraná, São Paulo e Alagoas, e *Amathia crispa* apenas para São Paulo.



## Abstract

This work aims to clarify the taxonomic identity of two species of bryozoans reported on the Brazilian coast as *Amathia* cf. *vidovici* and *Amathia* cf. *crispa* based on morphological and molecular analysis using the mitochondrial genes 16S rRNA and COI, which had proved useful in the genetic differentiation at the species level of other species of genus *Amathia*. Colonies were collected in different localities along the Brazilian coast, from Fortaleza, Ceará state, up to Palhoça, Santa Catarina state, including 107 samples of *A.* cf. *vidovici* and 18 of *A.* cf. *crispa*. A new species was detected for each evaluated group: *Amathia* sp. nov.1 e *Amathia* sp. nov.2. *Amathia* sp. nov.1 was found only on sites situated in Cabo Frio, state of Rio de Janeiro, and Vitória, state of Espírito Santo, being distinct of *A.* cf. *vidovici* by having: 1) longer clusters of zooids, 2) longer stolon internodes, and 3) spiral of zooid clusters describing a greater angle. *Amathia* sp. nov.2 was exclusively found in Ilha do Mel, state of Paraná; it is distinct from *A.* cf. *crispa* by the following: 1) spiral of zooid clusters describing a smaller angle, 2) fewer pairs of zooids per cluster, 3) shorter clusters of zooids, and 4) shorter stolon internodes. The molecular analyses corroborate the morphological results, both also revealing a geographical structure for *A. vidovici*. This specie was found throughout the coast of Brazil (CE, PB, PE, AL, BA, RJ, SP, PR, SC), the ones from the Northeast Ecoregion with the lower values of all measured characteristics when compared with those from other ecoregions. *Amathia vidovici* was reported previously to localities in the states of Paraná, São Paulo, and Alagoas, and *Amathia crispa* was reported only to São Paulo.

## APÊNDICE

Tabela I – Principais medidas de *Amathia cf. vidovici* (mínimo-máximo ; média±erro padrão), por amostras (número de coleção, seguido pela ecorregião: Nordeste Brasil - NB, Leste Brasil - LB, Sudeste Brasil – SB, e sigla do estado da Federação. *Amathia* sp. nov.1 está representada por um asterisco (\*).

Medidas (mm)	Amostras							
	A57/NB/CE	A185/NB/PB	A186/NB/PB	A182/NB/PB	A189/NB/PB	A188/NB/PB	A177/NB/PE	A179/NB/PE
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,445-1,806	1,204-1,625	1,144-1,746	1,204-1,625	1,204-1,625	1,264-1,746	1,023-1,505	1,385-1,926
Mean (SD)	1,597 (0,106)	1,401 (0,098)	1,356 (0,017)	1,393 (0,126)	1,416 (0,124)	1,529 (0,147)	1,256 (0,173)	1,569 (0,155)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,542-0,783	0,602-0,783	0,602-0,843	0,542-0,783	0,542-0,722	0,482-0,783	0,542-0,783	0,722-1,023
Mean (SD)	0,626 (0,067)	0,698 (0,063)	0,678 (0,080)	0,618 (0,066)	0,618 (0,070)	0,610 (0,088)	0,646 (0,070)	0,847 (0,083)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	30,00-46,15	43,48-59,09	45,83-54,55	38,46-54,17	36,00-57,14	28,57-61,90	41,67-64,71	46,43-60,00
Mean (SD)	39,28 (4,10)	50,01 (4,99)	50,10 (2,77)	44,50 (4,10)	43,79 (5,04)	40,36 (7,88)	51,93 (5,95)	54,09 (3,96)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,119-0,166	0,143-0,190	0,167-0,214	0,130-0,178	0,130-0,167	0,131-0,178	0,143-0,202	0,155-0,214
Mean (SD)	0,148 (0,014)	0,163 (0,013)	0,186 (0,017)	0,158 (0,013)	0,151 (0,010)	0,159 (0,126)	0,170 (0,019)	0,186 (0,017)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,357-0,571	0,357-0,476	0,357-0,476	0,345-0,488	0,369-0,524	0,357-0,500	0,321-0,476	0,345-0,416
Mean (SD)	0,454 (0,049)	0,412 (0,034)	0,419 (0,033)	0,405 (0,037)	0,432 (0,049)	0,412 (0,044)	0,409 (0,034)	0,389 (0,025)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,071-0,095	0,071-0,095	0,071-0,092	0,083-0,107	0,071-0,107	0,071-0,095	0,083-0,095
Mean (SD)	0,091 (0,010)	0,088 (0,009)	0,085 (0,008)	0,085 (0,006)	0,090 (0,007)	0,086 (0,010)	0,082 (0,009)	0,090 (0,006)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	9-11	10-11	9-11	9-12	8-12	9-12	7-10	9-12
<b>Embríões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max							0,012-0,059	
Mean (SD)							0,032 (0,012)	
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	340-360º	340-360º	340-360º	350-360º	350-360º	350-370º	340-360º	340-370º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A178/NB/PE	A175/NB/PE	A176/NB/PE	A174/NB/PE	A140/NB/AL	A35/NB/AL	A137/NB/AL	A138/NB/AL
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,204-1,565	1,204-1,746	1,084-1,565	1,204-1,806	1,505-1,926	1,324-1,565	1,445-1,926	1,505-1,866
Mean (SD)	1,328 (0,110)	1,473 (0,188)	1,240 (0,147)	1,597 (0,159)	1,686 (0,116)	1,429 (0,077)	1,633 (0,164)	1,637 (0,112)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,542-0,843	0,542-0,843	0,482-0,783	0,421-0,662	0,602-0,783	0,602-0,722	0,602-0,903	0,602-0,903
Mean (SD)	0,658 (0,083)	0,654 (0,099)	0,566 (0,093)	0,502 (0,074)	0,702 (0,054)	0,638 (0,050)	0,766 (0,089)	0,682 (0,090)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	40,00-65,00	33,33-60,00	38,46-61,90	25,00-40,74	37,04-46,15	40,00-54,55	43,75-53,70	35,71-48,39
Mean (SD)	49,72 (6,44)	44,48 (6,63)	45,69 (5,70)	31,43 (3,53)	41,75 (3,20)	44,77 (4,13)	47,51 (2,83)	41,61 (3,83)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,143-0,178	0,119-0,178	0,119-0,178	0,119-0,178	0,131-0,202	0,107-0,167	0,143-0,202	0,131-0,178
Mean (SD)	0,161 (0,013)	0,150 (0,017)	0,147 (0,017)	0,148 (0,018)	0,178 (0,023)	0,136 (0,018)	0,175 (0,014)	0,159 (0,012)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,369-0,512	0,345-0,464	0,357-0,428	0,357-0,583	0,428-0,524	0,381-0,524	0,381-0,476	0,381-0,500
Mean (SD)	0,417 (0,047)	0,382 (0,033)	0,382 (0,025)	0,435 (0,063)	0,472 (0,029)	0,453 (0,042)	0,415 (0,029)	0,428 (0,050)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,071-0,095	0,071-0,095	0,071-0,107	0,077-0,107	0,071-0,107	0,071-0,107	0,071-0,095
Mean (SD)	0,093 (0,008)	0,086 (0,009)	0,086 (0,009)	0,090 (0,011)	0,093 (0,011)	0,086 (0,011)	0,086 (0,011)	0,086 (0,007)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	9-12	8-11	8-11	8-11	9-12	9-12	10-12	9-12
<b>Embriões (E)</b>	presente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max	0,024-0,048							
Mean (SD)	0,036 (0,010)							
<b>Rizóide (R)</b>	presente	ausente	ausente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	ausente	ausente	presente	presente	presente	ausente	presente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = anti-horário	Padrão = horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-370º	340-360º	340-360º	340-360º	350-360º	340-360º	340-360º	340-360º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A142/NB/AL	A232/LB/BA	A231/LB/BA	A233/LB/BA	A240/LB/BA	A236/LB/BA	A237/LB/BA	A238/LB/BA
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,385-1,926	1,686-2,107	1,385-1,987	1,505-2,107	1,204-1,444	1,204-1,806	1,144-1,505	1,204-1,505
Mean (SD)	1,573 (0,154)	1,854 (0,12,91)	1,754 (0,177)	1,930 (0,168)	1,284 (0,078)	1,417 (0,178)	1,272 (0,087)	1,344 (0,090)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,602-0,903	0,602-0,903	0,602-0,843	0,783-1,204	0,482-0,602	0,482-0,662	0,482-0,662	0,482-0,602
Mean (SD)	0,702 (0,009)	0,730 (0,088)	0,674 (0,079)	1,019 (0,134)	0,526 (0,042)	0,578 (0,059)	0,550 (0,050)	0,562 (0,037)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	35,71-50,00	33,33-46,43	33,33-50,00	44,12-61,29	34,78-45,45	30,00-47,62	36,00-52,38	38,10-47,62
Mean (SD)	44,63 (3,58)	39,38 (3,75)	38,67 (4,96)	52,79 (4,91)	41,01 (3,29)	41,17 (4,84)	43,42 (4,98)	41,88 (2,92)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,131-0,190	0,155-0,202	0,131-0,190	0,143-0,178	0,119-0,178	0,119-0,167	0,131-0,167	0,131-0,178
Mean (SD)	0,166 (0,019)	0,181 (0,014)	0,156 (0,017)	0,160 (1,18)	0,139 (0,015)	0,143 (0,013)	0,147 (0,012)	0,160 (0,013)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,357-0,488	0,416-0,512	0,393-0,488	0,476-0,631	0,357-0,464	0,357-0,500	0,381-0,476	0,405-0,488
Mean (SD)	0,412 (0,040)	0,448 (0,030)	0,454 (0,034)	0,527 (0,047)	0,409 (0,030)	0,406 (0,038)	0,426 (0,029)	0,436 (0,027)
<b>Largura dos zoóides (lz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,119	0,095-0,119	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,107
Mean (SD)	0,091 (0,008)	0,095 (0,010)	0,098 (0,009)	0,112 (0,009)	0,091 (0,009)	0,092 (0,009)	0,090 (0,029)	0,090 (0,007)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	9-12	10-12	8-11	9-11	8-10	8-11	8-10	8-10
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	ausente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	ausente	ausente	presente	presente	presente	presente	ausente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = / alternado, horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	340-360º	340-360º	340-360º	340-360º	350-370º	350-380º	350-360º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A241/LB/BA	A108/LB/ES*	A109/LB/ES*	A110/LB/ES*	A111/LB/ES*	A113/LB/ES*	A114/LB/ES*	A115/LB/ES*
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,144-1,505	1,806-2,227	1,686-2,167	1,806-2,167	1,867-2,589	1,806-2,408	2,107-2,589	2,227-2,709
Mean (SD)	1,280 (0,092)	1,975 (0,114)	1,942 (0,177)	1,987 (0,116)	2,167 (0,196)	2,067 (0,173)	2,312 (0,116)	2,420 (0,116)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,421-0,602	0,963-1,204	0,903-1,204	0,843-1,023	0,843-1,505	0,783-1,144	1,023-1,385	1,324-1,746
Mean (SD)	0,518 (0,055)	1,063 (0,074)	1,096 (0,102)	0,931 (0,060)	1,092 (0,203)	0,911 (0,104)	1,224 (0,087)	1,473 (0,101)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	33,33-50,00	50,00-60,00	45,45-67,86	40,00-50,00	38,89-64,10	37,50-55,88	48,57-62,16	56,10-64,44
Mean (SD)	40,59 (4,90)	54,02 (3,27)	56,94 (6,41)	47,25 (2,60)	50,20 (6,71)	43,74 (4,98)	53,08 (3,58)	60,85 (2,58)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,119-0,167	0,131-0,178	0,131-0,178	0,131-0,178	0,143-0,202	0,131-0,202	0,155-0,190	0,143-0,202
Mean (SD)	0,132 (0,014)	0,155 (0,011)	0,152 (0,015)	0,154 (0,015)	0,170 (0,015)	0,176 (0,021)	0,174 (0,013)	0,173 (0,017)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,369-0,512	0,464-0,547	0,428-0,571	0,381-0,500	0,393-0,488	0,393-0,488	0,381-0,547	0,416-0,559
Mean (SD)	0,444 (0,039)	0,499 (0,030)	0,487 (0,041)	0,454 (0,032)	0,454 (0,032)	0,443 (0,031)	0,465 (0,050)	0,480 (0,039)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,107	0,095-0,119	0,083-0,107
Mean (SD)	0,091 (0,010)	0,097 (0,010)	0,099 (0,012)	0,098 (0,011)	0,099 (0,010)	0,098 (0,008)	0,103 (0,009)	0,097 (0,008)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	8-10	10-12	10-12	10-12	10-15	10-14	10-12	12-14
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	ausente	ausente	presente	ausente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-380º	360-420º	350-400º	350-400º	360-400º	360-420º	350-400º	350-420º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A116/LB/ES*	A117/LB/ES*	A118/LB/ES*	A120/LB/RJ*	A121/LB/RJ*	A122/LB/RJ*	A123/LB/RJ*	A126/LB/RJ*
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,866-2,288	1,806-2,348	1,806-2,167	1,625-2,107	1,746-2,107	1,806-2,288	1,746-0,211	1,866-2,348
Mean (SD)	2,059 (0,119)	2,031 (0,168)	2,003 (0,123)	1,902 (0,164)	1,878 (0,123)	0,203 (0,019)	1,890 (0,111)	2,079 (0,140)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,903-1,204	0,963-1,324	0,903-0,120	0,903-0,120	0,783-1,264	0,903-1,264	0,903-1,445	0,843-1,204
Mean (SD)	1,076 (0,096)	1,072 (0,100)	1,015 (0,099)	1,039 (0,098)	1,088 (0,121)	1,084 (0,109)	1,100 (0,139)	1,027 (0,121)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	39,47-61,29	44,74-61,29	44,12-59,38	45,71-63,33	43,33-67,74	45,71-60,00	48,39-72,73	40,00-55,88
Mean (SD)	52,44 (5,75)	52,91 (4,59)	50,90 (4,95)	54,85 (5,25)	58,06 (6,82)	53,65 (4,96)	58,15 (6,22)	49,50 (5,65)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,143-0,178	0,131-0,178	0,143-0,190	0,143-0,202	0,143-0,214	0,143-0,190	0,143-0,202	0,143-0,202
Mean (SD)	0,159 (0,012)	0,152 (0,016)	0,163 (0,013)	0,175 (0,016)	0,174 (0,021)	0,163 (0,018)	0,177 (0,014)	0,171 (0,017)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,416-0,547	0,416-0,583	0,381-0,488	0,464-0,607	0,369-0,500	0,416-0,547	0,428-0,631	0,405-0,559
Mean (SD)	0,484 (0,040)	0,483 (0,042)	0,445 (0,037)	0,50 (0,037)	0,443 (0,041)	0,470 (0,037)	0,505 (0,050)	0,468 (0,043)
<b>Largura dos zoóides (lz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,083-0,119	0,083-0,119	0,095-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119
Mean (SD)	0,097 (0,009)	0,098 (0,009)	0,104 (0,012)	0,106 (0,009)	0,099 (0,010)	0,099 (0,011)	0,102 (0,009)	0,100 (0,009)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	10-12	11-13	10-13	10-13	10-12	9-12	10-13	9-12
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	ausente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-380º	350-380º	350-380º	350-420º	360-420º	350-380º	360-400º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A45/LB/RJ	A131/LB/RJ	A133/LB/RJ	A132/LB/RJ	A128/LB/RJ	A129/LB/RJ	A134/LB/RJ	A135/LB/RJ
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,505-1,926	1,745-2,227	1,505-2,348	1,686-1,926	1,565-2,167	1,565-2,107	1,686-2,288	1,625-2,227
Mean (SD)	1,669 (0,123)	1,918 (0,142)	1,882 (0,240)	1,782 (0,084)	1,806 (0,172)	1,822 (0,150)	1,882 (0,148)	1,866 (0,201)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,483-0,783	0,783-1,144	0,602-0,963	0,602-1,084	0,662-1,204	0,542-0,963	0,602-1,023	0,542-0,903
Mean (SD)	0,630 (0,096)	0,911 (0,085)	0,758 (0,108)	0,847 (0,148)	0,9431 (0,141)	0,714 (0,116)	0,839 (0,115)	0,742 (0,124)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	27,59-50,00	42,86-55,17	31,25-48,00	34,48-56,67	42,31-59,26	33,33-46,67	35,71-61,29	32,43-55,56
Mean (SD)	37,85 (5,95)	47,69 (4,06)	40,49 (4,78)	47,38 (6,92)	52,04 (4,33)	39,24 (5,74)	44,95 (6,01)	39,95 (6,61)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,119-0,167	0,119-0,178	0,131-0,190	0,142-0,190	0,143-0,202	0,131-0,190	0,131-0,202	0,131-0,190
Mean (SD)	0,147 (0,016)	0,143 (0,015)	0,169 (0,018)	0,168 (0,015)	0,163 (0,018)	0,153 (0,019)	0,178 (0,018)	0,168 (0,016)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,416-0,488	0,428-0,583	0,393-0,524	0,381-0,512	0,428-0,512	0,393-0,512	0,416-0,583	0,440-0,559
Mean (SD)	0,447 (0,023)	0,486 (0,048)	0,452 (0,036)	0,446 (0,035)	0,462 (0,025)	0,446 (0,037)	0,491 (0,053)	0,510 (0,032)
<b>Largura dos zoóides (lz)</b>								
Min-Max	0,071-0,107	0,083-0,119	0,071-0,107	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,119	0,083-0,119	0,095-0,119
Mean (SD)	0,089 (0,009)	0,100 (0,010)	0,095 (0,011)	0,094 (0,009)	0,095 (0,009)	0,094 (0,011)	0,097 (0,011)	0,101 (0,007)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	8-11	9-11	9-12	9-12	10-12	8-11	9-12	9-12
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	presente	presente	ausente	presente	presente	presente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max			0,036-0,071	0,071-0,036		0,048-0,083	0,036-0,071	0,036-0,071
Mean (SD)			0,057 (0,011)	0,055 (0,011)		0,062 (0,012)	0,060 (0,010)	0,061 (0,010)
<b>Rizóide (R)</b>	ausente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	ausente	presente	presente	presente	presente	ausente	presente	presente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-380º	350-380º	350-370º	350-380º	350-380º	350-360º	360-380º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A136/LB/RJ	A47/SB/RJ	A48/SB/RJ	A49/SB/RJ	A99/SB/RJ	A101/SB/RJ	A104/SB/RJ	A97/SB/RJ
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,805-2,167	1,505-1,806	1,866-2,408	1,685-2,468	1,685-2,167	1,685-2,167	1,806-2,408	1,746-2,408
Mean (SD)	2,031 (0,115)	1,665 (0,106)	2,271 (0,153)	2,067 (0,258)	1,882 (0,141)	1,806 (0,114)	2,123 (0,199)	1,934 (0,182)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,783-1,144	0,482-0,662	0,722-1,204	0,602-1,084	0,602-0,903	0,662-1,264	0,602-1,264	0,662-0,963
Mean (SD)	0,943 (0,113)	0,594 (0,050)	0,955 (0,130)	0,831 (0,141)	0,779 (0,083)	0,799 (0,139)	0,967 (0,163)	0,790 (0,091)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	37,14-54,29	31,03-44,00	34,21-50,00	30,00-48,57	33,33-46,88	33,33-54,84	33,33-55,56	32,35-51,72
Mean (SD)	46,49 (5,14)	35,83 (4,22)	42,02 (4,65)	40,35 (5,64)	41,40 (3,80)	44,11 (6,54)	45,47 (5,73)	41,15 (5,77)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,155-0,190	0,131-0,178	0,155-0,202	0,155-0,202	0,143-0,202	0,143-0,214	0,119-0,202	0,155-0,202
Mean (SD)	0,178 (0,010)	0,146 (0,016)	0,180 (0,013)	0,178 (0,015)	0,174 (0,017)	0,176 (0,021)	0,164 (0,023)	0,176 (0,014)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,428-0,595	0,369-0,488	0,416-0,512	0,440-0,512	0,428-0,559	0,428-0,571	0,405-0,547	0,405-0,547
Mean (SD)	0,493 (0,037)	0,438 (0,039)	0,466 (0,031)	0,480 (0,024)	0,466 (0,036)	0,498 (0,039)	0,475 (0,041)	0,461 (0,040)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,095-0,119	0,083-0,107	0,095-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119
Mean (SD)	0,110 (0,008)	0,090 (0,008)	0,103 (0,008)	0,103 (0,012)	0,104 (0,011)	0,106 (0,010)	0,107 (0,011)	0,105 (0,011)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	10-12	7-10	9-10	8-11	9-12	8-10	9-12	9-12
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-380º	340-360º	340-360º	340-360º	340-370º	340-370º	350-380º	350-380º



Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A95/SB/RJ	A96/SB/RJ	A107/SB/RJ	A105/SB/RJ	A106/SB/RJ	A153/SB/SP	A146/SB/SP	A147/SB/SP
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,806-2,347	1,505-2,468	1,565-1,866	1,385-1,625	1,384-1,625	1,265-1,926	1,204-1,625	1,084-1,505
Mean (SD)	2,047 (0,159)	2,071 (0,341)	1,742 (0,080)	1,497 (0,075)	1,485 (0,075)	1,765 (0,090)	1,449 (0,145)	1,352 (0,134)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,602-0,963	0,662-1,204	0,482-0,722	0,542-0,722	0,482-0,843	0,542-0,903	0,662-1,023	0,542-0,903
Mean (SD)	0,819 (0,116)	0,943 (0,160)	0,606 (0,066)	0,602 (0,060)	0,642 (0,113)	0,722 (0,090)	0,843 (0,104)	0,650 (0,114)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	30,30-50,00	38,46-56,00	26,67-42,86	33,33-52,17	33,33-54,17	30,00-53,57	51,85-68,18	37,50-60,00
Mean (SD)	40,04 (5,08)	45,82 (5,38)	34,85 (4,09)	40,36 (5,07)	43,27 (7,26)	40,95 (6,47)	58,21 (4,87)	48,07 (6,47)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,154-0,214	0,130-0,202	0,119-0,190	0,119-0,155	0,107-0,178	0,119-0,190	0,143-0,190	0,119-0,167
Mean (SD)	0,181 (0,015)	0,174 (0,016)	0,156 (0,019)	0,131 (0,012)	0,141 (0,022)	0,153 (0,019)	0,165 (0,014)	0,147 (0,012)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,428-0,595	0,381-0,535	0,405-0,547	0,357-0,428	0,357-0,476	0,357-0,476	0,357-0,440	0,345-0,416
Mean (SD)	0,485 (0,051)	0,468 (0,045)	0,463 (0,048)	0,393 (0,022)	0,411 (0,040)	0,397 (0,038)	0,400 (0,024)	0,376 (0,022)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,095-0,119	0,095-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,107	0,083-0,107	0,071-0,107
Mean (SD)	0,107 (0,009)	0,107 (0,009)	0,100 (0,012)	0,094 (0,013)	0,097 (0,009)	0,098 (0,009)	0,091 (0,010)	0,090 (0,010)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	8-11	9-12	9-11	8-12	9-11	8-11	11-14	9-12
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	340-380º	340-380º	350-380º	350-380º	350-380º	350-370º	360-380º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A148/SB/SP	A149/SB/SP	A60/SB/SP	A65/SB/SP	A63/SB/SP	A82/SB/SP	A83/SB/SP	A77/SB/SP
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,204-1,565	1,505-2,047	1,264-1,987	1,144-1,746	1,144-1,806	1,686-2,227	1,686-2,348	1,866-2,408
Mean (SD)	1,360 (0,093)	1,766 (0,159)	1,464 (0,192)	1,308 (0,146)	1,384 (0,201)	1,914 (0,139)	2,059 (0,202)	2,159 (0,179)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,602-0,903	0,722-1,204	0,542-1,084	0,542-1,023	0,542-1,023	0,662-1,204	0,662-1,204	0,662-1,204
Mean (SD)	0,710 (0,097)	0,967 (0,162)	0,678 (0,139)	0,706 (0,146)	0,674 (0,131)	0,927 (0,153)	0,991 (0,144)	0,907 (0,196)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	41,67-66,67	43,33-66,67	37,50-56,00	45,00-61,90	36,00-57,14	34,38-58,06	39,29-56,25	29,41-61,29
Mean (SD)	52,25 (6,57)	54,73 (7,49)	46,22 (5,95)	53,75 (5,43)	48,73 (5,98)	48,41 (7,04)	48,11 (4,88)	42,22 (9,81)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,143-0,178	0,119-0,178	0,107-0,190	0,119-0,178	0,131-0,190	0,107-0,226	0,167-0,202	0,131-0,202
Mean (SD)	0,164 (0,012)	0,153 (0,017)	0,154 (0,023)	0,153 (0,020)	0,155 (0,017)	0,173 (0,029)	0,182 (0,010)	0,173 (0,021)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,345-0,428	0,345-0,476	0,345-0,452	0,345-0,452	0,357-0,464	0,392-0,524	0,428-0,583	0,381-0,500
Mean (SD)	0,384 (0,026)	0,432 (0,044)	0,392 (0,029)	0,413 (0,036)	0,398 (0,033)	0,463 (0,043)	0,505 (0,051)	0,432 (0,040)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,071-0,107	0,083-0,119	0,083-0,119	0,071-0,107	0,083-0,119	0,095-0,119	0,095-0,119	0,095-0,119
Mean (SD)	0,091 (0,011)	0,108 (0,010)	0,094 (0,011)	0,089 (0,010)	0,095 (0,009)	0,114 (0,007)	0,108 (0,009)	0,111 (0,009)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	10-13	9-13	9-13	9-14	9-13	9-14	9-12	8-11
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-380º	350-380º	350-370º	340-370º	350-370º	340-360º	340-370º	340-360º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A171/SB/SP	A173/SB/SP	A13/SB/SP	A21/SB/SP	A150/SB/SP	A151/SB/SP	A152/SB/SP	A10/SB/PR
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,926-2,408	1,986-2,587	1,204-1,806	1,505-1,926	1,264-1,806	1,204-1,746	1,204-1,625	1,204-1,806
Mean (SD)	2,127 (0,137)	2,375 (0,165)	1,465 (0,171)	1,686 (0,169)	1,521 (0,148)	1,457 (0,155)	1,412 (0,099)	1,545 (0,153)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,662-1,023	0,722-1,204	0,542-0,783	0,542-0,903	0,602-0,903	0,542-0,783	0,542-0,903	0,542-0,903
Mean (SD)	0,867 (0,111)	1,003 (0,162)	0,658 (0,077)	0,710 (0,123)	0,718 (0,121)	0,634 (0,075)	0,610 (0,096)	0,734 (0,091)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	31,43-48,57	33,33-52,63	36,67-59,09	30,00-60,00	40,00-60,00	34,48-55,00	36,00-68,18	33,33-55,00
Mean (SD)	40,81 (5,04)	42,28 (6,47)	45,38 (6,76)	42,35 (7,47)	47,14 (5,74)	43,87 (6,10)	43,81 (7,98)	47,79 (5,96)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,107-0,202	0,155-0,202	0,107-0,154	0,131-0,190	0,131-0,178	0,119-0,178	0,143-0,178	0,143-0,178
Mean (SD)	0,174 (0,027)	0,184 (0,015)	0,138 (0,016)	0,155 (0,016)	0,162 (0,014)	0,146 (0,014)	0,164 (0,013)	0,158 (0,010)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,416-0,583	0,405-0,607	0,286-0,452	0,357-0,488	0,345-0,464	0,333-0,464	0,321-0,476	0,369-0,452
Mean (SD)	0,480 (0,049)	0,512 (0,060)	0,362 (0,054)	0,416 (0,036)	0,395 (0,034)	0,386 (0,033)	0,374 (0,083)	0,401 (0,030)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,095-0,119	0,095-0,119	0,083-0,107	0,083-0,107	0,071-0,107	0,083-0,119	0,071-0,107	0,071-0,107
Mean (SD)	0,108 (0,009)	0,108 (0,010)	0,098 (0,009)	0,100 (0,007)	0,084 (0,011)	0,094 (0,011)	0,088 (0,011)	0,090 (0,009)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	9-11	9-12	10-12	9-11	10-13	9-13	10-14	10-12
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-360º	340-360º	350-380º	350-370º	350-380º	350-380º	350-380º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A14/SB/PR	A37/SB/PR	A41/SB/PR	A38/SB/PR	A11/SB/PR	A230/SB/PR	A209/SB/SC	A210/SB/SC
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,264-1,685	1,385-1,806	1,324-1,685	1,264-1,745	1,204-1,625	1,144-1,505	2,047-2,468	1,565-1,926
Mean (SD)	1,453 (0,122)	1,513 (0,093)	1,497 (0,099)	1,473 (0,145)	1,360 (0,128)	1,292 (0,122)	2,207 (0,132)	1,714 (0,109)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,602-0,903	0,542-0,843	0,602-0,843	0,602-0,903	0,542-0,963	0,482-0,843	1,204-1,505	0,783-0,903
Mean (SD)	0,754 (0,099)	0,658 (0,074)	0,682 (0,078)	0,658 (0,080)	0,714 (0,122)	0,638 (0,090)	1,312 (0,089)	0,827 (0,042)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	40,00-62,50	38,46-58,33	38,46-58,33	37,93-52,17	40,91-63,64	40,00-70,00	52,50-67,65	43,33-57,69
Mean (SD)	52,12 (6,87)	43,59 (5,22)	45,74 (5,90)	44,84 (4,73)	52,45 (6,81)	49,70 (8,16)	59,55 (3,98)	48,41 (3,84)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,131-0,178	0,119-0,178	0,119-0,155	0,131-0,178	0,131-0,178	0,142-0,178	0,155-0,190	0,131-0,190
Mean (SD)	0,157 (0,017)	0,143 (0,017)	0,138 (0,012)	0,157 (0,017)	0,148 (0,013)	0,160 (0,015)	0,174 (0,012)	0,168 (0,020)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,357-0,500	0,357-0,428	0,369-0,464	0,369-0,476	0,381-0,464	0,357-0,476	0,476-0,607	0,404-0,535
Mean (SD)	0,408 (0,045)	0,385 (0,023)	0,417 (0,028)	0,411 (0,030)	0,425 (0,024)	0,400 (0,032)	0,535 (0,388)	0,469 (0,028)
<b>Largura dos zoóides (lz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,095	0,083-0,107	0,095-0,119	0,095-0,119
Mean (SD)	0,093 (0,010)	0,095 (0,010)	0,098 (0,010)	0,094 (0,011)	0,091 (0,006)	0,095 (0,009)	0,113 (0,008)	0,103 (0,009)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	10-13	10-13	9-12	11-12	9-12	10-13	10-13	10-12
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	ausente	presente	presente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = anti-horário	Padrão = anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	360-380º	350-360º	350-370º	360-380º	360-380º	360-380º	350-380º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A211/SB/SC	A212/SB/SC	A213/SB/SC	A214/SB/SC	A221/SB/SC	A220/SB/SC	A223/SB/SC	A224/SB/SC
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,204-1,686	1,385-1,806	1,565-2,107	1,505-1,926	1,505-1,986	1,385-1,926	1,987-2,589	1,866-2,408
Mean (SD)	1,501 (0,145)	1,573 (0,134)	1,774 (0,144)	1,698 (0,148)	1,661 (0,145)	1,677 (0,161)	2,372 (0,179)	2,131 (0,168)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,542-0,843	0,542-0,782	0,482-0,903	0,542-1,023	0,602-0,843	0,602-0,903	1,144-1,505	1,144-1,565
Mean (SD)	0,658 (0,115)	0,674 (0,073)	0,682 (0,126)	0,702 (0,130)	0,762 (0,081)	0,722 (0,091)	1,260 (0,098)	1,284 (0,126)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	33,33-56,00	33,33-52,17	29,63-51,85	33,33-58,62	38,46-53,85	36,67-56,52	47,62-60,61	50,00-74,29
Mean (SD)	43,95 (6,79)	43,14 (5,87)	38,46 (6,60)	41,26 (6,01)	45,99 (4,42)	43,38 (6,61)	53,27 (3,89)	60,47 (6,22)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,143-0,178	0,131-0,190	0,131-0,190	0,131-0,178	0,155-0,202	0,155-0,190	0,155-0,190	0,167-0,202
Mean (SD)	0,166 (0,012)	0,164 (0,018)	0,167 (0,017)	0,155 (0,018)	0,182 (0,016)	0,173 (0,013)	0,179 (0,010)	0,190 (0,013)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,416-0,595	0,393-0,547	0,416-0,547	0,416-0,500	0,357-0,488	0,357-0,488	0,405-0,547	0,440-0,535
Mean (SD)	0,467 (0,048)	0,466 (0,045)	0,479 (0,042)	0,469 (0,026)	0,437 (0,036)	0,413 (0,044)	0,471 (0,033)	0,485 (0,031)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,083-0,119	0,083-0,107	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,119	0,083-0,107	0,083-0,131	0,083-0,119
Mean (SD)	0,094 (0,012)	0,094 (0,008)	0,101 (0,010)	0,100 (0,012)	0,100 (0,011)	0,094 (0,008)	0,110 (0,012)	0,104 (0,012)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	10-13	10-12	10-12	10-12	9-12	9-13	10-13	11-13
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	ausente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	ausente	presente	presente	presente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	360-380º	350-380º	350-360º	360-380º	360-380º	350-370º	350-380º	360-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A222/SB/SC	A226/SB/SC	A227/SB/SC	A215/SB/SC	A216/SB/SC	A228/SB/SC	A217/SB/SC	A218/SB/SC
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	1,806-2,167	1,625-2,348	1,950-2,528	1,264-1,806	1,505-2,047	1,324-1,866	1,204-1,505	1,264-1,745
Mean (SD)	1,987 (0,129)	1,983 (0,198)	1,950 (0,385)	1,617 (0,154)	1,722 (0,179)	1,553 (0,164)	1,397 (0,119)	1,473 (0,136)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	0,602-1,023	0,722-0,963	0,602-1,444	0,542-0,783	0,542-0,783	0,482-0,843	0,482-0,662	0,482-0,843
Mean (SD)	0,863 (0,115)	0,891 (0,076)	0,959 (0,293)	0,622 (0,063)	0,646 (0,077)	0,666 (0,117)	0,554 (0,061)	0,682 (0,111)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	33,33-48,39	37,50-50,00	33,33-60,00	33,33-47,62	32,35-50,00	35,71-56,52	32,00-47,83	32,14-59,09
Mean (SD)	43,34 (4,27)	45,19 (4,41)	46,48 (8,72)	38,65 (4,05)	37,72 (4,69)	43,05 (7,35)	39,78 (4,13)	46,78 (9,18)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,143-0,202	0,178-0,214	0,155-0,214	0,143-0,190	0,131-0,190	0,143-0,190	0,143-0,178	0,131-0,190
Mean (SD)	0,176 (0,021)	0,196 (0,014)	0,181 (0,015)	0,167 (0,014)	0,165 (0,016)	0,163 (0,015)	0,163 (0,012)	0,167 (0,019)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,357-0,476	0,393-0,476	0,428-0,500	0,369-0,476	0,357-0,500	0,428-0,488	0,369-0,464	0,381-0,512
Mean (SD)	0,421 (0,034)	0,439 (0,027)	0,474 (0,020)	0,435 (0,031)	0,435 (0,042)	0,457 (0,020)	0,399 (0,024)	0,435 (0,038)
<b>Largura dos zoóides (lz)</b>								
Min-Max	0,083-0,119	0,083-0,107	0,095-0,119	0,083-0,119	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,107	0,083-0,107
Mean (SD)	0,098 (0,011)	0,101 (0,008)	0,107 (0,009)	0,100 (0,010)	0,094 (0,008)	0,099 (0,010)	0,095 (0,008)	0,095 (0,008)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	10-13	10-14	10-14	9-12	9-12	10-11	9-12	9-13
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	ausente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	ausente	presente	presente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário	Padrão = horário e anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	360-380º	360-380º	360-380º	360-380º	350-380º	350-380º	360-380º	350-380º

Tabela I – continuação

Medidas (mm)	Amostras		
	A219/SB/SC	A229/SB/SC	MZUSP 483/EUA
<b>Comp do estolão (Ls)</b>			
Min-Max	1,204-1,625	1,565-2,408	1,385-1,746
Mean (SD)	1,421 (0,140)	1,862 (0,195)	1,573 (0,096)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>			
Min-Max	0,602-0,963	0,783-1,264	0,783-1,023
Mean (SD)	0,791 (0,104)	0,943 (0,195)	0,887 (0,058)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>			
Min-Max	47,62-65,00	42,42-56,67	48,28-62,50
Mean (SD)	55,71 (5,83)	50,62 (4,20)	56,47 (3,47)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>			
Min-Max	0,143-0,190	0,119-0,167	0,119-0,167
Mean (SD)	0,175 (0,012)	0,149 (0,017)	0,145 (0,015)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>			
Min-Max	0,357-0,476	0,440-0,595	0,393-0,500
Mean (SD)	0,413 (0,033)	0,524 (0,044)	0,488 (0,031)
<b>Largura dos zoóides (lz)</b>			
Min-Max	0,083-0,107	0,071-0,119	0,083-0,119
Mean (SD)	0,094 (0,009)	0,094 (0,016)	0,100 (0,011)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>			
Min-Max	10-12	10-13	10-11
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>			
Min-Max			
Mean (SD)			
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	ausente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	ausente	ausente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	Padrão = horário e anti-horário	sem padrão	Padrão = anti-horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-380º	350-370º	360º

Tabela II – Principais medidas de *Amathia* cf. *crispa* (mínimo-máximo; média±erro padrão), por amostras (número de coleção, seguido da sigla do estado da Federação). *Amathia* sp. nov.2 está representada por um asterisco (\*).

Medidas (mm)	Amostras							
	A202/SP	A203/SP	A205/SP	A206/SP	A204/SP	A62/SP	A64/SP	A78/SP
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	2,468-3,010	2,408-2,769	2,288-2,890	2,408-2,890	2,408-3,070	3,010-4,455	2,950-4,515	2,950-3,492
Mean (SD)	2,669 (0,167)	2,589 (0,102)	2,552 (0,194)	2,601 (0,151)	2,685 (0,203)	3,475 (0,477)	3,572 (0,443)	3,199 (0,167)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	2,047-2,588	2,107-2,348	1,926-2,468	1,987-2,408	1,806-2,528	2,589-3,732	2,528-3,853	2,348-3,010
Mean (SD)	2,348 (0,158)	2,231 (0,058)	2,151 (0,195)	2,139 (0,111)	2,159 (0,208)	2,998 (0,387)	3,110 (0,431)	2,657 (0,173)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	82-95,35	80,43-90,00	77,27-90,91	75,00-87,80	73,81-88,89	81,08-90,91	80,70-94,12	75,47-91,84
Mean (SD)	88,01 (3,61)	86,42 (2,37)	84,26 (3,80)	82,36 (3,68)	80,39 (4,50)	86,36 (2,49)	87,00 (3,82)	83,12 (4,58)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,238-0,357	0,226-0,321	0,226-0,321	0,226-0,297	0,226-0,297	0,274-0,369	0,286-0,381	0,190-0,357
Mean (SD)	0,317 (0,039)	0,270 (0,027)	0,264 (0,030)	0,252 (0,025)	0,270 (0,022)	0,325 (0,032)	0,327 (0,030)	0,281 (0,057)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,488-0,619	0,476-0,583	0,512-0,666	0,512-0,571	0,488-0,714	0,500-0,631	0,488-0,654	0,464-0,619
Mean (SD)	0,543 (0,039)	0,518 (0,031)	0,569 (0,038)	0,546 (0,018)	0,571 (0,062)	0,554 (0,038)	0,536 (0,047)	0,521 (0,050)
<b>Largura dos zoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,071-0,107	0,071-0,107	0,083-0,107	0,071-0,095	0,071-0,107	0,083-0,119	0,083-0,107	0,095-0,119
Mean (SD)	0,091 (0,010)	0,089 (0,009)	0,093 (0,010)	0,086 (0,010)	0,090 (0,009)	0,099 (0,011)	0,095 (0,007)	0,102 (0,007)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	31-38	29-34	30-34	29-34	30-33	28-39	30-40	29-33
<b>Embriões (E)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max	0,036-0,083	0,048-0,071	0,036-0,071	0,024-0,059	0,036-0,071			
Mean (SD)	0,060 (0,011)	0,056 (0,008)	0,054 (0,010)	0,046 (0,011)	0,055(0,010)			
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	ausente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	ausente	presente	presente	presente	ausente	presente	presente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	mesmo padrão, anti-horário	mesmo padrão, horário	mesmo padrão, horário	mesmo padrão, horário e anti-horário	mesmo padrão, anti-horário	diferente padrão, alternado	mesmo padrão, anti-horário	diferente padrão, alternado
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	380-400°	380-420°	380-420°	380-420°	380-420°	360-420°	360-420°	360-370°



Tabela II continuação

Medidas (mm)	Amostras							
	A30/SP	A2/SP	A33/SP	A242/SP	A243/SP	A16/PR*	A15/PR*	A42/PR*
<b>Comp do estolão (Ls)</b>								
Min-Max	2,528-3,072	2,408-3,070	2,408-2,709	2,227-2,890	2,348-2,890	2,408-2,950	2,528-3,070	2,348-2,890
Mean (SD)	2,789 (0,187)	2,745 (0,203)	2,508 (0,115)	2,593 (0,205)	2,630 (0,147)	2,649 (0,203)	2,761 (0,190)	2,593 (0,166)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>								
Min-Max	2,227-2,769	2,107-2,528	1,987-2,408	1,866-2,468	2,047-2,408	1,806-2,288	1,806-2,589	1,866-2,348
Mean (SD)	2,476 (0,185)	2,279 (0,120)	2,187 (0,124)	2,211 (0,187)	2,269 (0,124)	2,063 (0,177)	2,235 (0,244)	2,079 (0,138)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>								
Min-Max	83,67 (93,75)	76,60-93,18	82,50-90,91	80,00-90,00	81,82-90,70	72,73-83,33	71,43-86,00	74,47-85,37
Mean (SD)	88,77 (2,68)	83,34 (5,80)	87,19 (2,51)	85,30 (2,84)	86,31 (2,85)	77,88 (3,14)	80,80 (4,36)	80,24 (3,26)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>								
Min-Max	0,202-0,333	0,178-0,357	0,238-0,309	0,226-0,297	0,226-0,297	0,226-0,345	0,250-0,333	0,286-0,357
Mean (SD)	0,268 (0,040)	0,261 (0,059)	0,274 (0,021)	0,251 (0,025)	0,257 (0,021)	0,270 (0,034)	0,284 (0,026)	0,311 (0,020)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>								
Min-Max	0,476-0,595	0,476-0,607	0,488-0,631	0,476-0,547	0,476-0,595	0,476-0,595	0,464-0,559	0,464-0,595
Mean (SD)	0,533 (0,036)	0,537 (0,043)	0,532 (0,038)	0,506 (0,025)	0,519 (0,035)	0,531 (0,038)	0,508 (0,026)	0,518 (0,033)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>								
Min-Max	0,083-0,107	0,107-0,131	0,071-0,095	0,083-0,107	0,083-0,107	0,095-0,119	0,071-0,107	0,071-0,095
Mean (SD)	0,092 (0,007)	0,115 (0,009)	0,082 (0,008)	0,094 (0,009)	0,090(0,009)	0,105 (0,010)	0,084 (0,74)	0,082 (0,010)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>								
Min-Max	37-43	31-36	29-35	28-35	29-35	21-26	25-32	22-28
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>								
Min-Max								
Mean (SD)								
<b>Rizóide (R)</b>	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	presente	presente	presente	presente	ausente	presente	ausente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	diferente padrão, alternado	mesmo padrão, anti-horário	diferente padrão, alternado	mesmo padrão, horário	mesmo padrão, horário	diferente padrão, alternado	diferente padrão, alternado	diferente padrão, alternado
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	380-440º	380-420º	380-500º	380-420º	380-500º	360º	360º	350-360º

Tabela II continuação

Medidas (mm)	Amostras		
	A43/PR*	A44/PR*	A80 convoluta/AUS
<b>Comp do estolão (Ls)</b>			
Min-Max	2,408-2,950	2,348-3,130	3,070-3,973
Mean (SD)	2,657 (0,185)	2,813 (0,241)	3,548 (0,277)
<b>Comp do agrupamento (Lzg)</b>			
Min-Max	1,806-2,528	1,926-2,829	2,107-2,528
Mean (SD)	2,139 (0,203)	2,356 (0,297)	2,331 (0,126)
<b>Proporção linear (%) (Lzg/Ls)</b>			
Min-Max	75,00-86,67	71,11-90,38	61,54-74,54
Mean (SD)	80,46 (4,21)	83,49 (5,62)	65,93 (4,03)
<b>Diâmetro do estolão (Ds)</b>			
Min-Max	0,238-0,309	0,238-0,345	0,143-0,226
Mean (SD)	0,271 (0,019)	0,298 (0,032)	0,190 (0,024)
<b>Comp autozoóides (Lz)</b>			
Min-Max	0,464-0,583	0,595-0,464	0,464-0,595
Mean (SD)	0,508-0,033	0,531 (0,046)	0,532 (0,041)
<b>Largura dos zoóides (Iz)</b>			
Min-Max	0,071-0,119	0,083-0,119	0,095-0,119
Mean (SD)	0,091(0,012)	0,095(0,014)	0,107 (0,008)
<b>N pares de zoóides (Nz)</b>			
Min-Max	22-28	21-30	18-21
<b>Embriões (E)</b>	ausente	ausente	ausente
<b>Comp do embrião (Ce)</b>			
Min-Max			
Mean (SD)			
<b>Rizóide (R)</b>	presente	ausente	presente
<b>Rizóide distal (Rd)</b>	ausente	ausente	ausente
<b>Sentido da espiral no estolão filho (Ss)</b>	diferente padrão, alternado	diferente padrão, alternado	mesmo padrão, horário
<b>Rotação do agrup ao longo do estolão (Ângulo da espiral) (Ae)</b>	350-360º	360º	350-360º

Tabela III: Detalhamento dos *primers*, polaridade, segmento utilizado, tamanho aproximado dos segmentos obtidos e condições das reações de PCR.

Nome do <i>primer</i>	Polaridade do <i>primer</i>	Sequência do <i>primer</i> (5' - 3')	Segmento sequenciado	Produto (bp)	Condições de PCR	Referência dos primers
LCO1490	<i>Forward</i>	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	COI-5P	~708pb	94°C, 5' 35x: 94°C, 30"; 50°C, 30"; 72°C, 45"	Folmer <i>et al.</i> (1994)
HCO2198	<i>Reverse</i>	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA			72°C, 3'	
Cox1F_prifi	<i>Forward</i>	TTGRTTYTTTGGWCAYCCHGAAG	COI-3P	~620pb	94°C, 3' 35x: 94°C, 30"; 53°C, 30"; 72°C, 1'	Waeschenbach <i>et al.</i> (2012)
Cox1R_prifi	<i>Reverse</i>	TCHGARTAHCGNCGNGGTATHCC			72°C, 10'	
primer 1	<i>Forward</i>	TCGACTGTTTACCAAAAACATAGC	16S	~641pb	94°C, 5' 35x: 94°C, 30"; 54°C, 30"; 72°C, 45"	Cunningham & Buss (1993)
primer 2	<i>Reverse</i>	ACGGAATGAACTCAAATCATGTAAG			72°C, 3'	
Bryozoa_16SF	<i>Forward</i>	TSKWCCYGTGTATSATGG	16S	~927pb	94°C, 3' 40x: 94°C, 30"; 43°C, 30";	Waeschenbach <i>et al.</i> (2012)
Bryozoa_16SR	<i>Reverse</i>	ARTCCAACATCGAGGT			72°C, 1' 72°C, 10'	

Tabela IV – *Amathia cf vidovici* – Sequências obtidas para os fragmentos de gene 16S, COI-5P e COI-3P a partir das colônias amostradas por estados da federação ao longo do litoral do Brasil; grupo externos foram utilizados para comparação; um (\*) e dois (\*\*) asteriscos representam dados previamente publicados (Fehlauer-Ale *et al.*, 2011 e Waeschenbach *et al.*, em preparação, respectivamente).

Grupo interno	Process ID	Field ID	COI-5P GB	COI-5P hap	COI-3P GB	COI-3P hap	16S GB	16S hap	Local	Setor	Região	Estado	País
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY220-14	A179	KM373359	h16			KM373445	h9	Praia de Boa Viagem		Recife	Pernambuco	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY219-14	A177	KM373360	h5			KM373446	h3	Praia de Boa Viagem		Recife	Pernambuco	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY218-14	A186	KM373361	h5	KM373526	h1	KM373447	h8	Praia do Cabo Branco		Joao Pessoa	Paraíba	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY217-14	A185	KM373362	h5	KM373527	h1	KM373448	h7	Praia do Cabo Branco		Joao Pessoa	Paraíba	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY216-14	A57	KM373363	h13	KM373528	h6	KM373449	h6	Marina Park		Fortaleza	Ceara	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY257-14	A82	KM373364	h4	KM373529	h20	KM373450	h4	late Clube Ilhabela		Ilhabela	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY256-14	A77	KM373365	h4	KM373530	h5			late Clube Ilhabela		Ilhabela	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY255-14	A65	KM373366	h1					Praia do Porto Novo		Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY254-14	A63	KM373367	h1	KM373531	h2	KM373451	h1	Praia do Porto Novo		Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY253-14	A60	KM373368	h1	KM373532	h2	KM373452	h1	Praia do Porto Novo		Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY252-14	A147	KM373369	h18			KM373453	h26	Praia Martin de Sa		Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY251-14	A146	KM373370	h17	KM373533	h2	KM373454	h25	Praia Martin de Sa		Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY250-14	A153	KM373371	h1	KM373534	h12	KM373455	h1	Marina Kauai	Saco da Ribeira	Ubatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY249-14	A106	KM373372	h1	KM373535	h2	KM373456	h24	Praia Ubatubinha	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY248-14	A105	KM373373	h1	KM373536	h2	KM373457	h23	Praia Ubatubinha	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY247-14	A107	KM373374	h1	KM373537	h2	KM373458	h1	Pier Matariz	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY246-14	A97			KM373538	h3			Pier Matariz	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY245-14	A96	KM373375	h3	KM373539	h4	KM373459	h22	Pier Matariz	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY244-14	A95	KM373376	h3	KM373540	h4	KM373460	h21	Pier Matariz	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY243-14	A99	KM373377	h11	KM373541	h18			marine/shipwreck Penguino	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY242-14	A101	KM373378	h2	KM373542	h5	KM373461	h20	marine/shipwreck Penguino	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY241-14	A100			KM373543	h19			marine/shipwreck Penguino	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY240-14	A48			KM373544	h17			Laje Branca	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil

Tabela IV continuação

Grupo interno	Process ID	Field ID	COI-5P GB	COI-5P hap	COI-3P GB	COI-3P hap	16S GB	16S hap	Local	Setor	Região	Estado	País
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY239-14	A47	KM373379	h1	KM373545	h2	KM373462	h1	Laje Branca	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY238-14	A49	KM373380	h3	KM373546	h4	KM373463	h19	Laje Branca	Ilha Grande	Angra do Reis	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY237-14	A136	KM373381	h2	KM373547	h5	KM373464	h18	Porto do Forno		Arraial do Cabo	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY236-14	A134	KM373382	h2	KM373548	h16	KM373465	h17	Porto do Forno		Arraial do Cabo	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY235-14	A133	KM373383	h12	KM373549	h15	KM373466	h16	Enseada do Forno		Arraial do Cabo	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY234-14	A131	KM373384	h10	KM373550	h14			Enseada do Forno		Arraial do Cabo	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY233-14	A121	KM373385	h22	KM373551	h22	KM373467	h15	Canal de Cabo Frio		Cabo Frio	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY232-14	A120	KM373386	h23	KM373552	h21	KM373468	h14	Canal de Cabo Frio		Cabo Frio	Rio de Janeiro	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY231-14	A115	KM373387	h21			KM373469	h13	late Clube Espirito Santo		Vitoria	Espirito Santo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY230-14	A114	KM373388	h8			KM373470	h2	Santo		Vitoria	Espirito Santo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY229-14	A109	KM373389	h8			KM373471	h2	Praia da Curva da Jurema		Vitoria	Espirito Santo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY228-14	A108	KM373390	h8			KM373472	h2	Praia da Curva da Jurema		Vitoria	Espirito Santo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY227-14	A232	KM373391	h5	KM373553	h1	KM373473	h3	Pier Ferry Boat		Ilha de Itaparica	Bahia	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY226-14	A233	KM373392	h20			KM373474	h12	Praia da Ribeira		Salvador	Bahia	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY225-14	A240	KM373393	h15	KM373554	h9	KM373475	h3	Marina Sol Victoria		Salvador	Bahia	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY224-14	A238	KM373394	h14	KM373555	h7	KM373476	h11	Marina Sol Victoria		Salvador	Bahia	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY223-14	A35	KM373395	h5	KM373556	h8	KM373477	h10	Praia do Frances		Maceio	Alagoas	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY222-14	A140	KM373396	h5	KM373557	h1	KM373478	h3	Praia do Frances		Maceio	Alagoas	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY221-14	A174	KM373397	h5	KM373558 KM373559	h1	KM373479	h34	Praia Buraco da Velha		Recife	Pernambuco	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY287-14	A13 MZUSP	JF490059*	h1	**	h2	KM373480	h1	Pontal da Cruz		Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY286-14	483	KM373398	h9							Fort Pierce	Florida	EUA
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY281-14	A229					KM373481	h33	Praia Ponta do Papagaio		Palhoça	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY280-14	A219	KM373399	h1			KM373482	h32	Praia do Poa		Penha	Santa Catarina	Brasil

Tabela IV continuação

Grupo interno	Process ID	Field ID	COI-5P GB	COI-5P hap	COI-3P GB	COI-3P hap	16S GB	16S hap	Local	Setor	Região	Estado	País
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY279-14	A218	KM373400	h6	KM373560	h10	KM373483	h1	Praia do Poa		Penha	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY278-14	A216	KM373401	h1	KM373561	h2	KM373484	h1	Armacao de Itapocoroi	Baía	Penha	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY277-14	A215	KM373402	h6			KM373485	h1	Armacao de Itapocoroi	Baía	Penha	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY276-14	A223	KM373403	h24			KM373486	h3	Praia do Trapiche		Penha	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY275-14	A222	KM373404	h1	KM373562	h11	KM373487	h31	Praia do Trapiche		Penha	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY274-14	A221	KM373405	h1			KM373488	h30	Praia da Paciencia		Penha	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY273-14	A211	KM373406	h1	KM373563	h2	KM373489	h29	Praia da Figueira		S. Francisco do Sul	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY272-14	A210	KM373407	h1	KM373564	h2	KM373490	h1	Praia da Figueira		S. Francisco do Sul	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY271-14	A209	KM373408	h25			KM373491	h28	Pier Centro Historico		S. Francisco do Sul	Santa Catarina	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY270-14	A11	KM373409	h6	KM373565	h2		h1	Farol das Encantadas		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY269-14	A10	KM373410	h1			KM373492	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY268-14	A09	KM373411	h1			KM373493	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY267-14	A18	KM373412	h1	KM373566	h2	KM373494	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY266-14	A17	KM373413	h1			KM373495	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY265-14	A14	KM373414	h1			KM373496	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY264-14	A08	KM373415	h1	KM373567	h2	KM373497	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY263-14	A07	KM373416	h6					Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY262-14	A151	KM373417	h1	KM373568	h2	KM373498	h1	R. de Sao Lourenco		Bertioga	São Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY261-14	A150	KM373418	h19			KM373499	h27	R. de Sao Lourenco		Bertioga	São Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY260-14	A19	KM373419	h1	KM373569	h13			Praia Preta		Sao Sebastiao	São Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY259-14	A21	KM373420	h1	KM373570	h2			Pier Pontal da Cruz		Sao Sebastiao	São Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY258-14	A83	KM373421	h3	KM373571	h4	KM373500	h4	late Clube Ilhabela		Ilhabela	São Paulo	Brasil
Grupo externo	Process ID	Field ID	COI-5P GB	COI-5P hap	COI-3P GB	COI-3P hap	16S GB	16S hap	Local	Setor	Região	Estado	País
<i>Amathia cf. crispera</i>	BRBRY284-14	A15	JF490057*	h1	KM373521 **	h2	JF490052*	h1	Morro do Sabao		Ilha do Mel	Paraná	Brasil
<i>Amathia brasiliensis</i>		A22	JF490055*				JF490051*		Pajuçara		Maceió	Alagoas	Brasil
<i>Amathia distans</i>	BRBRY289-14	A28	JF490058*	h1	KM373524 **	h1	JF490053*	h1	Praia Grande		Sao Sebastiao	São Paulo	Brasil
<i>Zoobotryon verticillatum</i>	BRBRY283-14	Z01	JF490060*	h1	KM373584 **	h1	JF490050*	h1	Praia do Araca		Sao Sebastiao	São Paulo	Brasil

Tabela V - *Amathia cf. crispa* - Sequências obtidas para os fragmentos de gene 16S, COI-5P e COI-3P a partir das colônias amostradas nos estados de São Paulo e Paraná; grupo externos foram utilizados para comparação; um (\*) e dois (\*\*) asteriscos representam dados previamente publicados (Fehlauer-Ale *et al.*, 2011 e Waeschenbach *et al.*, em preparação, respectivamente).

Grupo interno	Process ID	Field ID	COI-5P GB	COI-5P hap	COI-3P GB	COI-3P hap	16S GB	16S hap	Local	Região	Estado	País
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY284-14	A15	JF490057*	h1	KM373521	h2	JF490052*	h1	Morro do Sabao	Ilha do Mel	Parana	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY208-14	A78	KM373351	h2			KM373439	h1	Praia do Araca	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY207-14	A62	KM373352	h3	KM373522	h1	KM373440	h2	Praia do Porto Novo	Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY285-14	A64	KM373353	h4	KM373523	h1	KM373441	h3	Praia do Porto Novo	Caraguatatuba	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY215-14	A44					KM373442	h1	Morro do Sabao	Ilha do Mel	Parana	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY214-14	A16							Morro do Sabao	Ilha do Mel	Parana	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY212-14	A30	KM373354	h5					Canal de S. Sebastiao	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY213-14	A244							Praia do Guaeca	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY211-14	A204					KM373443	h4	Praia Grande	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY210-14	A203	KM373355	h4					Praia Grande	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Amathia cf. crispa</i>	BRBRY209-14	A02	KM373356	h4					Praia Preta	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
Grupo externo	Process ID	Field ID	COI-5P GB	COI-5P hap	COI-3P GB	COI-3P hap	16S GB	16S hap	Local	Região	Estado	País
<i>Amathia</i>												
<i>brasiliensis</i>												
<i>Amathia distans</i>	BRBRY289-14	A28	JF490058*	h1	KM373524	h1	JF490053*	h1	Praia Grande	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil
<i>Zoobotryon</i>												
<i>verticillatum</i>												
<i>Amathia cf. vidovici</i>	BRBRY287-14	A13	JF490059*	h1	KM373559	h2	KM373480	h1	Pontal da Cruz	Sao Sebastiao	Sao Paulo	Brasil