

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Campus MACAÉ - PROFESSOR ALOÍSIO TEIXEIRA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E CONSERVAÇÃO

Rannyele Passos Ribeiro

**Diversidade Morfológica e Molecular de Polychaeta
do Arquipélago de São Pedro e São Paulo**

MACAÉ

2015

Rannyele Passos Ribeiro

**Diversidade Morfológica e Molecular de Polychaeta
do Arquipélago de São Pedro e São Paulo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Universidade Federal do Rio de Janeiro, *Campus* Professor Aloísio Teixeira-Macaé, em cumprimento das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Orientadora: Profa. Christine Ruta

Co-orientadores: Profa. Joana Zanol
e Prof. Paulo Paiva

MACAÉ

2015

P484d Ribeiro, Rannyele Passos.
Diversidade morfológica e molecular de Polychaeta o Arquipélago de São Pedro e São Paulo / Rannyele Passos Ribeiro. – Macaé, 2015.
95 f.

Orientador: Prof. Christine Ruta
Coorientadores: Profa. Joana Zanol
Prof. Paulo Paiva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, 2015.

1. Polychaeta. 2. DNA *barcoding*. 3. Arquipélago de São Pedro e São Paulo. I. Ruta, Christine, orient. II. Zanol, Joana, coorient. IV. Paiva, Paulo, coorient. V. Título.

RANNYELE PASSOS RIBEIRO

**Diversidade Morfológica e Molecular de Polychaeta
do Arquipélago de São Pedro e São Paulo**

Dissertação aprovada em cumprimento das exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação, Universidade Federal do Rio de Janeiro *Campus Macaé* - Professor Aloísio Teixeira, pela seguinte banca examinadora:

Profa. Dra. Christine Ruta
Presidente

Prof. Rodrigo Nunes da Fonseca
Titular Interno

Prof. Carlos Alberto de Moura Barboza
Titular Externo

Prof. Natália Martins Feitosa
Suplente Interno

Prof. José Luciano Nepomuceno da Silva
Suplente Externo

Macaé, ____ de _____ de 2015

NOTA

Segundo os critérios do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (artigos 8º e 9º) essa dissertação não constitui publicação e, portanto, quaisquer atos nomenclaturais são inválidos.

Aos meus pais, os gigantes no qual finco meus pés
para olhar mais além.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Christine Ruta, Joana Zanol e Paulo Paiva, por todo o suporte proporcionado para a realização dessa pesquisa. Agradeço pela paciência e dedicação a mim prestada. Guardo forte admiração por vocês e reconheço o excelente trabalho que desenvolvem com os poliquetas, com o ambiente, e por consequência, com o desenvolvimento da ciência e da humanidade. Confesso que faço questão de reproduzir os ensinamentos obtidos com vocês e contem comigo para qualquer parceria no futuro, pois desde já me comprometo em contribuir para o desenvolvimento da nossa área de pesquisa. Agradeço evidentemente pela oportunidade de participar do Projeto Polychaeta de Ilhas Oceânicas, que me proporcionou a execução desta dissertação e a experiência de campo na Reserva Biológica do Atol das Rocas/ ICMBio, um dos lugares mais cobiçados pelos biólogos. Ter a oportunidade de conhecer o Atol foi enormemente gratificante profissionalmente e uma realização pessoal inesquecível! Muito grata mesmo!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo fomento da bolsa de mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento do projeto maior ao qual o desta dissertação está inserido, no âmbito do Programa Arquipélago e Ilhas Oceânicas (PROARQUIPÉLAGO), Chamada Nº 39/2012.

À Maruzélia de Brito Silva, em respeito à oportunidade de ter ido à Reserva Biológica do Atol das Rocas/ ICMBio, que também faz parte do projeto maior e que me possibilitou a prática de coleta apesar de eu não ter ido ao Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

À equipe do Laboratório de Invertebrados – LABIN, Unidade de Sistemática e Ecologia de Organismos Bentônicos – SIEOB do Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé – NUPEM, pela companhia no ambiente de trabalho, pela ajuda técnica e intelectual, pelo compartilhamento de saberes. Vocês foram imprescindíveis para meu aprimoramento no mestrado: Alana Leitão, Aline Barbosa, Marco Antônio Gomes, Roberta Freitas, Nayara Araújo, Ingrid Cabral, Henrique Stuart, Andréa Santos e Jairo Aramis. Um agradecimento especial ao Marco pela ajuda com os Syllidae, imensamente grata, é realmente muito difícil trabalhar com essa família de poliquetas.

À equipe do Laboratório de Biologia Molecular Professora Yocie Yoneshigue Valentin de Biologia Molecular da UFRJ-Macaé, NUPEM (LBM) que me auxiliaram muito no desenvolvimento da parte molecular deste trabalho: os professores Laura Weber e Pablo Gonçalves pela ajuda no início das atividades nesse laboratório e os alunos Carina Azevedo, Taiane Medeiros, Taís e Carol pelo compartilhamento de experiências e conhecimentos durante as atividades laboratoriais.

À equipe do Laboratório de Poliquetas da UFRJ pelo auxílio com a coleta do material utilizado para este trabalho e com os procedimentos relacionados à parte molecular deste trabalho. Agradeço em nome de Gustavo Mattos e Carlos Barboza, Raquel Meihoub, Gisele Ochioni, Victor Seixas, Werner e Tauane.

À coordenação da Unidade de Imagem e técnica Paula Veronesi, pelo auxílio no uso dos equipamentos, imprescindíveis na obtenção das imagens desse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – PPGCiAC que contribuíram muito para meu aprimoramento profissional, obrigada pelas aulas, debates e discussões enriquecedoras que surgiram delas, palestras, dentre outras atividades. Agradeço, especialente ao Prof. José Nepomuceno (banca de defesa), Profa. Laura Weber (leitura do relatório anual e banca de qualificação), Profa. Natália Martins Feitosa (banca e pré-banca da defesa) Prof. Pablo Gonçalves (banca da qualificação), Prof. Rodrigo Nunes da Fonseca (pré-banca e suplente interno), Prof. Carlos Barboza (banca de defesa). Um agradecimento especial ao Prof. Rodrigo Nunes da Fonseca pela disciplina de Biologia Molecular que ajudou muito na consecução deste trabalho.

Aos meus amigos de turma que me receberam muito bem, apesar de não termos iniciado o mestrado juntos, recebam meus agradecimentos pela troca de experiências, pelos risos, discussões, pela companhia nas horas difíceis e nas horas de descontração, em especial, Laíssa (Flor), Laíla, Dani, Arthur(s), Glenda e toda a turma.

A minha recente amiga Larissa que conviveu comigo os últimos meses e presenciou a finalização deste trabalho, obrigada por fazer meus dias menos solitários estando tão longe de casa.

A minha amiga que mesmo distante representa imenso incentivo pra mim, Débora Batista, obrigada pela amizade. Vamos juntas, porém distantes alcançar nossos objetivos!

Às minhas fiéis amigas Aline e Rita, obrigada pelo suporte nos momentos mais difíceis.

Finalmente e mais importante, agradeço muitíssimo a meus pais, meus irmãos e toda a minha família, dentre tias e tios, primas e primos. Em especial, meus pais Josinete e Josinete, devo tudo de mim a vocês... tia Cristina e meus padrinhos Onete e Gildemar, vocês foram imprescindíveis durante a minha jornada acadêmica rumo ao mestrado. Obrigada por apoiarem meus anseios, minha luta e o caminho que decidi trilhar.

Desculpem se esqueci do nome de alguém, mas agradeço a todos que de alguma forma, mesmo que indiretamente, tenham participado em alguma etapa deste trabalho.

Muito obrigada!

Eu não quero saber de nenhum atalho... eu quero é
saber trilhar pelo caminho mais íngrime”

Naruto por Masashi Kishimoto

RESUMO

O presente trabalho tem o objetivo de conhecer a biodiversidade de anelídeos poliquetas do Arquipélago de São Pedro e São Paulo utilizando dados morfológicos e moleculares. Os espécimes foram coletados em uma enseada do ASPSP, através de mergulho entre as profundidades de 6-12 m. As amostras foram fixadas em etanol 92 a 96% e os poliquetas foram identificados morfológicamente e molecularmente. Dois diferentes marcadores moleculares mitocondriais foram comparados: COI e 16S. A identificação molecular foi realizada através da análise de MOTUs a partir do método de agrupamento neighbor-joining utilizando modelo Kimura-2-parâmetros para o cálculo de distâncias, tanto para as sequências de COI quanto para o 16S. Um total de 1012 indivíduos foi identificado em 35 morfoespécies, 28 gêneros e 13 famílias. Uma espécie nova foi descrita (*Syllis* sp. nov.) A amplificação do 16S foi mais eficiente (61%) em relação ao COI (51%), sendo obtidas 88 sequências originais (49 de 16S e 39 de COI), a partir de 30 morfoespécies. As análises moleculares mostraram que a média das distâncias intraespecíficas foi de 1,2% para o COI e 24,4% para o 16S. Comparando o número de MOTUs, foi possível detectar 16 MOTUs com o COI e 24 MOTUs com o 16S. A análise do ABGD indicou que as distâncias intra- e interespecíficas K2P foram bem delimitadas para o COI, evidenciando *barcode gap* e consequentemente o melhor desempenho desse marcador. O uso de dados morfológicos e moleculares permitiu a detecção de espécies crípticas e cosmopolitas.

Palavras-chave: anelídeos, DNA *barcoding*, taxonomia.

ABSTRACT

This study aims to know the biodiversity of polychaete annelids of Saint Peter and Saint Paul Archipelago using morphological and molecular data. The specimens were collected by scuba diving between the depths of 6-12 m. The samples were fixed in ethanol 92 to 96% and the polychaetes were identified morphologically and molecularly. Two different mitochondrial molecular markers were compared: COI and 16S. The molecular identification was performed through analysis MOTUs from the neighbor-joining clustering using Kimura-2-parameter model to calculate distances, in both the sequences of COI and 16S. A total of 1.012 individuals was identified in 35 morphospecies, 28 genus and 13 families. A new species has been described (*Syllis* sp. nov.). Amplification of 16S was more efficient (61%) compared to the COI (51%) being obtained 88 unique sequences (49 sequences of 16S and 39 of COI) from 30 Morphospecies. Molecular analysis showed that the average intraspecific distances was 1.2% for the COI and 24.4% for the 16S. Comparing the number of MOTUs, it was possible to detect 16 MOTUs with the COI and 24 MOTUs with 16S. Analysis of ABGD indicates intra- and interspecific distances K2P were clearly defined for the COI, showing barcode gap and consequently the best performance of this marker. The use of morphological and molecular allowed the detection of cryptic and cosmopolitan species.

Keywords: annelids, DNA barcoding, taxonomy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. (A) Árvore filogenética de Annelida (Weigert *et al.*, 2014). Diversidade de formas corporais dos grupos basais: (B) Sipuncula; (C) Amphinomidae; (D) Chaetopteridae; (E) Magelonidae; (F) Owenidae. Fotos: B, C, F (Weigert *et al.*, 2014); D, E Carlos Sanchez Ortiz. 17
- Figura 2. Principais caracteres morfológicos de Polychaeta. (A) Nereididae, vista ântero-dorsal; (B) Sabelidae, vista lateral; (C) Capitellidae, vista ântero-lateral; (D) Polynoidae, parapódio, vista transversal (copyright©LabPoly). 19
- Figure 3. Morfologia de poliquetas. (A) Nereididae, corpo, vista dorsal; (B) Parapódio de poliqueta errante; (C) Parapódio de poliqueta sedentário; (D) Hesionidae, vista ântero-dorsal; (E) Arenicolidae, vista ântero-dorsal; (F) Sabellidae, vista ântero-dorsal; (G) Nereididae, vista ântero-dorsal; (H) Nereididae, probóscide eversível com mandíbula, vista ântero-dorsal; (I) Capitellidae, probóscide globosa ou sacular, vista ântero-lateral; (J) Lumbrineridae, maxila; (K) Dorvilleidae, maxila; (M) Serpullidae, cerca capilar; (M) Lumbrineridae, cerca capilar; (N) Scalibregmatidae, cerca em forma de lira; (O), Eunicidae, cerca pectinada; (P) Aphroditoidea, em forma de arpão; (Q) Capitellidae, gancho encapuzado; (R) Serpullidae, gancho avicular ou uncini; (S) Terebellidae, gancho avicular ou uncini; (T) Nereididae, cerca composta falcígera. Esquemas: A (Thomson, 1916); B, G, T (Glasby, 1999), C-F e L-S (Rouse & Pleijel, 2001); H (Taylor, 1984); I (Glasby *et al.*, 2004); J (Carrera-Parra, 2001); K (Paxton & Åkesson, 2010). 21
- Figura 4. Esquema de genoma mitocondrial animal com indicação da localização do COI e demais genes. Fonte: Adaptado de Schindel (2007). 23
- Figura 5. Área de estudo. (A) Localização geográfica do ASPSP; (B) Vista aérea do ASPSP; (C) Vista subaquática do ASPSP, costão rochoso; (D) Amostragem Polychaeta. Esquema A: Adaptado de Gustavo Mattos, 2013; Fotografias: B (Adaptada de Google Images, 2014), C e D (©Gustavo Mattos, 2013). 28
- Figura 6. *Eurythoe complanata*. (A) prostômio, vista dorsal; (B) pigídio, vista dorsal. (C) *Hermodice carunculata*. (C) corpo, vista dorsal. *Linopherus canariensis*. (D) prostômio, vista dorsal; (E) pigídio, vista dorsal. 37
- Figura 7. *Chaetopterus capensis*: corpo inteiro, vista dorso-lateral (A); região anterior, vista dorso-lateral, seta indicando as cerdas truncadas no setífero quatro (B). *Phyllochaetopterus gracilis*: região anterior de indivíduo dentro de tubo, vista dorsal (C); região anterior, vista dorsal (D); região anterior, vista lateral, seta indicando as cerdas truncadas do setífero quatro (E); pigídio, vista dorso-lateral (F). *Timarete punctata*: região anterior, vista lateral (G); pigídio, vista lateral (H). 41
- Figura 8. *Eunice gagzoi*. (A) região anterior, vista dorsal; (B) aparato maxilar, vista ventral; (C) pigídio, vista lateral (D). *Lumbrineris perkinsi*. corpo inteiro, vista lateral; (E) aparato maxilar, vista ventral (F). *Proscoplos cygnochaetus*. região anterior, vista dorso-lateral; (G) pigídio, vista dorsal. 45
- Figura 9. *Opisthosyllis brunnea*: região anterior, vista dorsal, seta indicando o capuz nucal (A); pigídio, vista ventral (B). *Opisthosyllis viridis*: região anterior, vista dorsal (C); região anterior de indivíduo regenerando parte anterior, vista dorsal (D). *Syllis alternata*: região anterior, vista dorsal (E); pigídio, vista ventral (F). 49

- Figura 10. *Syllis garciai*. (A) região anterior, vista dorsal; (B) pigídio, vista dorsal. *Syllis gracilis*.(C) região anterior, vista dorsal; (D) região mediana, vista dorsal, seta indicando o parapódio onde surgem as cerdas ypsilóides. *Syllis variegata*. (E) região anterior, vista lateral, seta indicando faixa de coloração “tipo-variegata”; pigídio, vista dorsal. 52
- Figura 11. *Syllis* sp1. nov. (A) corpo inteiro, vista dorsal, (B) região anterior, vista dorsal; (C) pigídio, vista dorsal; (D) pigídio, vista ventral; (E) parapódios da região mediana, vista dorsal, seta indicando a coloração dos cirros consequente das intrusões fibrilares nos artículos; (F) região anterior, vista ventral; (G) proventrículo, vista dorsal. 56
- Figure 12. Esquema das cerdas de *Syllis* sp. nov. (A) cerda falcígera dorsal, segundo setífero; (B) cerda falcígera ventral, região anterior, segundo setífero; (C) cerda falcígera ventral, terceiro setífero; (D) cerda falcígera ventral, 22º setífero; (E) cerda falcígera dorsal, 22º setífero;(F) cerdas falcígeras dorsais, antepenúltimo setífero; (G) cerda falcígera ventral, antepenúltimo setífero; (H) cerda simples ventral, antepenúltimo setífero; (I) cerda simples dorsal, quinto setífero anterior ao pigídio; (J) acícula da região posterior ; (K) acículas, região anterior. Escala: 10 µm. 57
- Figura 13. Árvore filogenética NJ baseada em sequências de COI de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank e BIN/BOLD. Os números entre os nós interramais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os colchetes indicam as famílias de poliquetas. 60
- Figura 14. Continuação da árvore filogenética NJ baseada em sequências de COI de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank e BIN/BOLD. Os números entre os nós interramais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os colchetes laterais indicam as famílias de poliquetas. 61
- Figura 15. Árvore filogenética NJ baseada em sequências de 16S de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank. Os números entre os nós interramais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os retângulos colchetes laterais indicam as famílias de poliquetas. 67
- Figura 16. Continuação da árvore filogenética NJ baseada em sequências de 16S de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank. Os números entre os nós interramais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os colchetes laterais indicam as famílias de poliquetas. 68
- Figura 17. Resultado do ABGD distribuição das frequências *pairwise* observadas na análise do ABGD com as sequências de COI dos poliquetas do ASPSP (A), gráfico de dispersão das divergências (B). 73
- Figura 18. Distribuição das frequências *pairwise* observadas na análise do ABGD com as sequências de COI dos poliquetas do ASPSP (A), gráfico de dispersão das divergências (B). 73
- Figura 19. Representação gráfica da classificação dos DNA *barcodes* de COI (A) e 16S (B) dos poliquetas do ASPSP. Os níveis de fiabilidade taxonômica propostos por Costa *et al.* (2012) são: A- concordância externa; B - concordância interna; C- concordância sub-ótima; D - dados insuficientes; E - DNA *barcodes* discordantes. 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para amplificação do COI e 16S.	31
Tabela 2 - Amostragem molecular dos poliquetas do ASPSP.	58
Tabela 3 - Distâncias intra- e interespecíficas de espécies, gêneros e famílias analisadas neste estudo.	59
Tabela 4 - MOTUs dos poliquetas do ASPSP.....	63
Tabela 5 - Espécies de poliquetas do ASPSP reconhecidas pelo sistema de identificação do BOLD com o BIN em que foram agrupadas.	65
Tabela 6 - Comparação entre a diversidade morfológica e molecular considerando os dois marcadores genéticos, COI e 16S.	70
Tabela 7 - Classificação dos <i>DNA barcodes</i> das espécies de poliquetas do ASPSP, de acordo com o sistema de classificação de (Costa <i>et al.</i> , 2012).	75

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

INSTITUIÇÕES:

IBAMA – Instituto do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

NUPEM – Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé

SISBIO – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

UFRJ-Macaé – Universidade Federal do Rio de Janeiro Capus Macaé Professor Aloísio Teixeira

LABORATÓRIOS

Labin – Laboratório de Invertebrados da UFRJ-Macaé

LabPoly – Laboratório de Polychaeta da UFRJ

LBM – Laboratório Professora Yocie Yoneshigue Valentin de Biologia Molecular da UFRJ-Macaé

LOCALIDADES:

País

EUA – Estados Unidos da América

Estado

PE - Pernambuco

Ilhas Oceânicas

ASPSP – Arquipélago de São Pedro e São Paulo

MORFOLOGIA

col. – coletor

det. – determinador da identificação

ind. – Indivíduo

Mx - Maxila

MOLECULAR:

ABGD – Automatic Barcoding Gap Discovery

BOLD – Barcode of Life

bp – Pares de bases

BrBOLD – Brazilian Barcode of Life

BIN – Barcode Index Number

K2P – Kimura-2-parâmetros

NJ – Neighbor-joining

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	vii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xv
SUMÁRIO.....	xvi
INTRODUÇÃO	17
Polychaeta: Breve Caracterização	17
Taxonomia de Polychaeta: Seria A Morfologia Suficiente?	19
DNA <i>barcoding</i> : Ferramenta de Acesso à Biodiversidade.....	22
Ilhas Oceânicas e Biodiversidade.....	25
OBJETIVOS.....	26
Objetivo Geral.....	26
Objetivos Específicos	26
ÁREA DE ESTUDO.....	26
MATERIAL E MÉTODOS.....	28
Coleta.....	28
Análises morfológicas e moleculares	29
Caracterização Morfológica.....	29
Caracterização Genética	30
RESULTADOS & DISCUSSÃO	33
Estudo Taxonômico.....	33
Abordagem Molecular	57
Eficiência da Amplificação.....	57
Análise do COI	59
Análise do 16S	66
Diversidade Morfológica vs. Molecular	69
Barcode Gap	72

Desempenho do COI e 16S: Classificação de Barcodes	75
CONCLUSÕES	78
CONSIDERAÇÃO FINAL	79
REFERÊNCIAS	80
APÊNDICES	92

INTRODUÇÃO

POLYCHAETA: BREVE CARACTERIZAÇÃO

O filo Annelida Lamarck, 1809, grupo dos anélídeos (invertebrados de corpo mole segmentado), foi tradicionalmente dividido em Oligochaeta Grube, 1850 (minhocas), Hirudinea Lamarck, 1818 (sanguessugas) e Polychaeta Grube, 1850 (minhocas-do-mar) e esta classificação foi amplamente utilizada durante o século XX. Posteriormente, Oligochaeta e Hirudinea foram agrupados em Clitellata Michaelsen, 1919 e atualmente um vasto número de autapomorfias suporta sua monofilia (Purschke, 2002; Erséus, 2005). Entretanto, Polychaeta configura-se como um grupo parafilético com fortes evidências morfológicas e filogenômicas (Struck *et al.*, 2011; Weigert *et al.*, 2014; Weigert *et al.*, 2015), como pode ser observado na Figura 1.

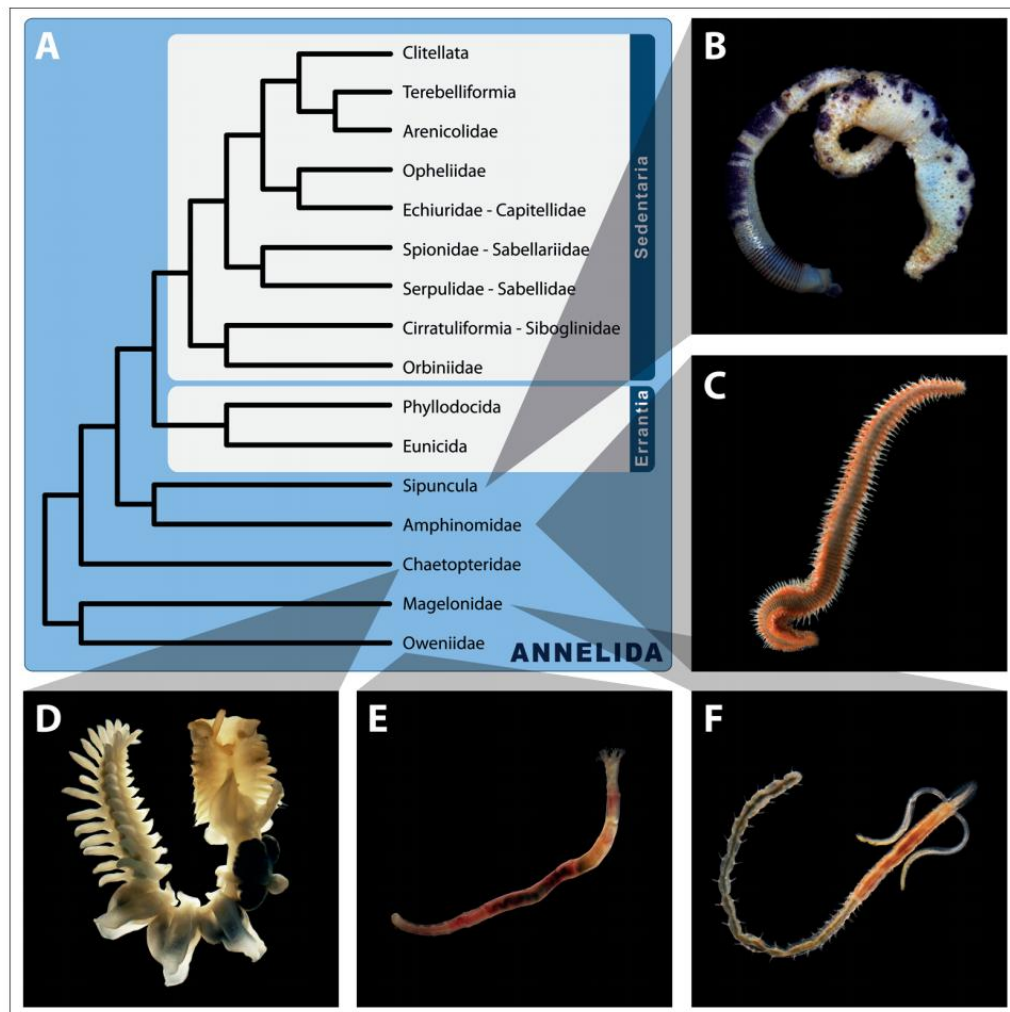


Figura 1. (A) Árvore filogenética de Annelida (Weigert *et al.*, 2014). Diversidade de formas corporais dos grupos basais: (B) Sipuncula; (C) Amphinomidae; (D) Chaetopteridae; (E) Magelonidae; (F) Oweniidae. Fotos: B, C, F (Weigert *et al.*, 2014); D, E Carlos Sanchez Ortiz.

A classe Polychaeta foi dividida tradicionalmente como Errantia e Sedentaria (Quatrefages, 1866). Posteriormente, Rouse & Fauchald (1997) dividiram Polychaeta em Scolecida e Palpata, sendo este último dividido em Canalipalpata e Aciulata. Rouse & Pleijel (2001) endossaram esta classificação, que tornou-se a mais utilizada. Devido a ausência de consenso, um consórcio de especialistas realizado por Ruggiero *et al.* (2015) reuniu recentemente a classe Polychaeta em quatro subclasses: Errantia, Sedentaria, Echiura e uma outra subclasse (ainda não nomeada) a qual pertence a família Nerillidae.

Os anelídeos poliquetas compreendem cerca de 80 famílias (Fauchald, 1977) e 12.000 espécies (Appeltans *et al.*, 2012). Os poliquetas estão presentes em substratos consolidados (fundos duros) e inconsolidados (fundos moles), podendo ser sésseis, vágeis, tubícolas ou escavadores e exibem variados hábitos reprodutivos (reprodução assexuada ou sexuada com larva bentônica ou planctônica) (Amaral & Jablonksi, 2005). Eles podem ser detritívoros (que podem ser depositívoros ou suspensívoros), carnívoros, herbívoros e onívoros quanto ao hábito ou dieta alimentar (Fauchald & Jumars, 1979). O grupo exerce papel-chave como estruturadores do ecossistema aquático, participando ativamente na bioturbação dos sedimentos ou mesmo construção de novos ambientes (através da bioincrustação, por exemplo) funcionando como espécies engenheiras (Knox, 1977; Woodin, 1981; Hutchings, 1998; François, 2002).

Poliquetas são considerados um dos principais recursos alimentares nos sistemas aquáticos (e.g. Paiva & Silva, 1998) e na aquicultura de sistemas extensivos e semi-extensivos (Junyi *et al.* 2007). Algumas espécies podem ser utilizadas como iscas na pesca esportiva e comercial, como *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776) (Costa *et al.* 2006) e *Marphysa* sp. (Kihia *et al.* 2015). No entanto, alguns poliquetas bioincrustantes podem ser economicamente prejudiciais causando problemas relacionados à obstrução de tubulações e as superfícies submersas de navios, como espécies de Serpulidae, Sabellidae e Spionidae (Wong *et al.*, 2014). Alguns reconhecidamente invasores reportados para estuários em diferentes partes do mundo são *Hydroides elegans* (Haswell, 1883) e *Ficopomatus enigmaticus* (Fauvel, 1923) (Katsanevakis *et al.*, 2014; Lojen *et al.* 2014).

Os poliquetas são ainda amplamente utilizados para indicar graus de poluição marinha, devido a sua sensibilidade às variações do meio e a sua expressiva abundância (Santi & Tavares, 2009; Omena *et al.*, 2012) e vêm sendo constantemente utilizados como bioindicadores para avaliação de toxicidade ambiental como *Platynereis dumerilli*, (Audouin & Milne Edwards, 1834) (García-Alonso *et al.*, 2014) e *Hediste diversicolor* (Cong *et al.*, 2014).

TAXONOMIA DE POLYCHAETA: SERIA A MORFOLOGIA SUFICIENTE?

A morfologia de Polychaeta é bastante heterogênea e existem diferentes formas corporais dependendo da família. Simplificadamente, pode-se caracterizar os poliquetas com um corpo dividido em três regiões: anterior - com prostômio e peristômio, mediana ou tronco - composta por segmentos homônimos ou heterônimos com expansões carnosas laterais denominadas de parapódios e posterior - com o pigídio. Esta caracterização apresenta inúmeras variações nas diferentes famílias de Polychaeta (Figuras 2-3).

A região anterior corresponde a “cabeça” do taxon Polychaeta; que é composta por duas unidades pré-segmentos: prostômio e peristômio. O prostômio é a região com maior grau de cefalização podendo apresentar apêndices sensoriais como antenas, palpos, olhos (Figura 2A). Poliquetas sedentários tubícolas apresentam menor grau de cefalização e geralmente apresentam estruturas como uma coroa radiolar (Figura 2B-C). O peristômio é a unidade que envolve a boca, em algumas famílias pode apresentar cirros (Figura 2A). Os parapódios geralmente possuem feixes de cerdas quitinosas e apresentam lobos (apêndices parapodiais), cirros (apêndices alongados que podem ser peristomiais, parapodiais e pigidiais) e brânquias (Figura 2D). O pigídio encontra-se na região posterior do corpo, uma estrutura pós-segmentar, onde se localiza o ânus e frequentemente possui um ou dois cirros pigidiais.

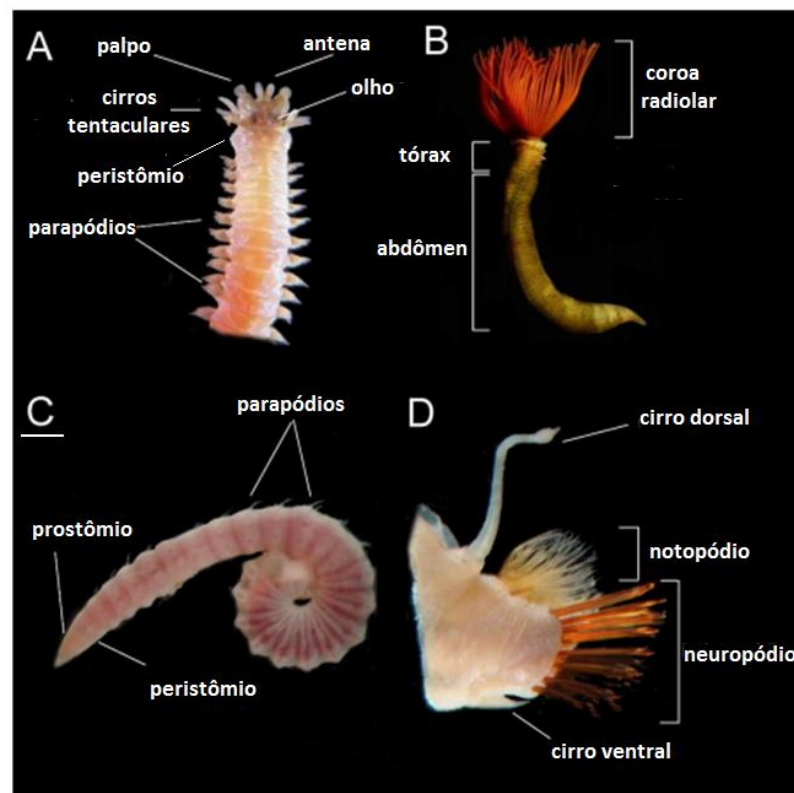


Figura 2. Principais caracteres morfológicos de Polychaeta. (A) Nereididae, vista ântero-dorsal; (B) Sabeliidae, vista lateral; (C)

Capitellidae, vista ântero-lateral; (D) Polynoidae, parapódio, vista transversal (copyright©LabPoly).

O parapódio é um caráter que em Errantia geralmente é desenvolvido, com acículas, lobos e cirros (Figura 3B) e em Sedentaria, geralmente é reduzido, pode apresentar ou não acículas e possui poucas cerdas (Figura 3C). Existe uma enorme variedade de formas de prostômio (Figura 3D-G). Dentre as características diagnósticas utilizadas em Polychaeta, pode-se citar a forma e tipo de probóscide (Figura 3H-I), a organização de aparato mandibular (Figura 3J-K) e os tipos de cerdas (Figura 3L-T).

A despeito desta diversidade de caracteres, o uso da morfologia frequentemente não é suficiente na distinção das espécies de poliquetas. Assim, em Polychaeta encontramos muitos casos de espécies crípticas. Quando duas ou mais espécies morfologicamente similares são erroneamente classificadas como uma única, são denominadas espécies crípticas (Bickford *et al.*, 2007). Nesse caso, a morfologia não é informativa o suficiente, mas dados moleculares são capazes de diferenciar as espécies (Nygren, 2013).

Muitas espécies crípticas de poliquetas têm sido reconhecidas através de dados moleculares, por exemplo, *Capitella capitata* (Fabricius, 1780) (Grassle & Grassle, 1976), *Hediste japonica* (Izuka, 1908) (Sato & Nakashima, 2003), *Perinereis nuntia* (Lamarck, 1818) (Glasby & Hsieh, 2006), *Eurythoe complanata* (Pallas, 1766) (Barroso *et al.*, 2010) e *Eulalia viridis* (Linnaeus, 1767) (Lobo *et al.*, 2015). Geralmente essas espécies exibem ampla distribuição e parecem ser cosmopolitas, um *status* que tem sido considerado insustentável, visto que muitos estudos indicam que a maioria delas correspondem a complexos de espécies (*e.g.* Bastrop *et al.*, 1998; Bleidorn *et al.*, 2006). Entretanto, também existem espécies de poliquetas que são cosmopolitas e inclusive podem apresentar diferenças morfológicas em diferentes populações, mas geneticamente representam uma única espécie coesa, como é o caso de *Hermodice carunculata* (Ahrens *et al.*, 2013).

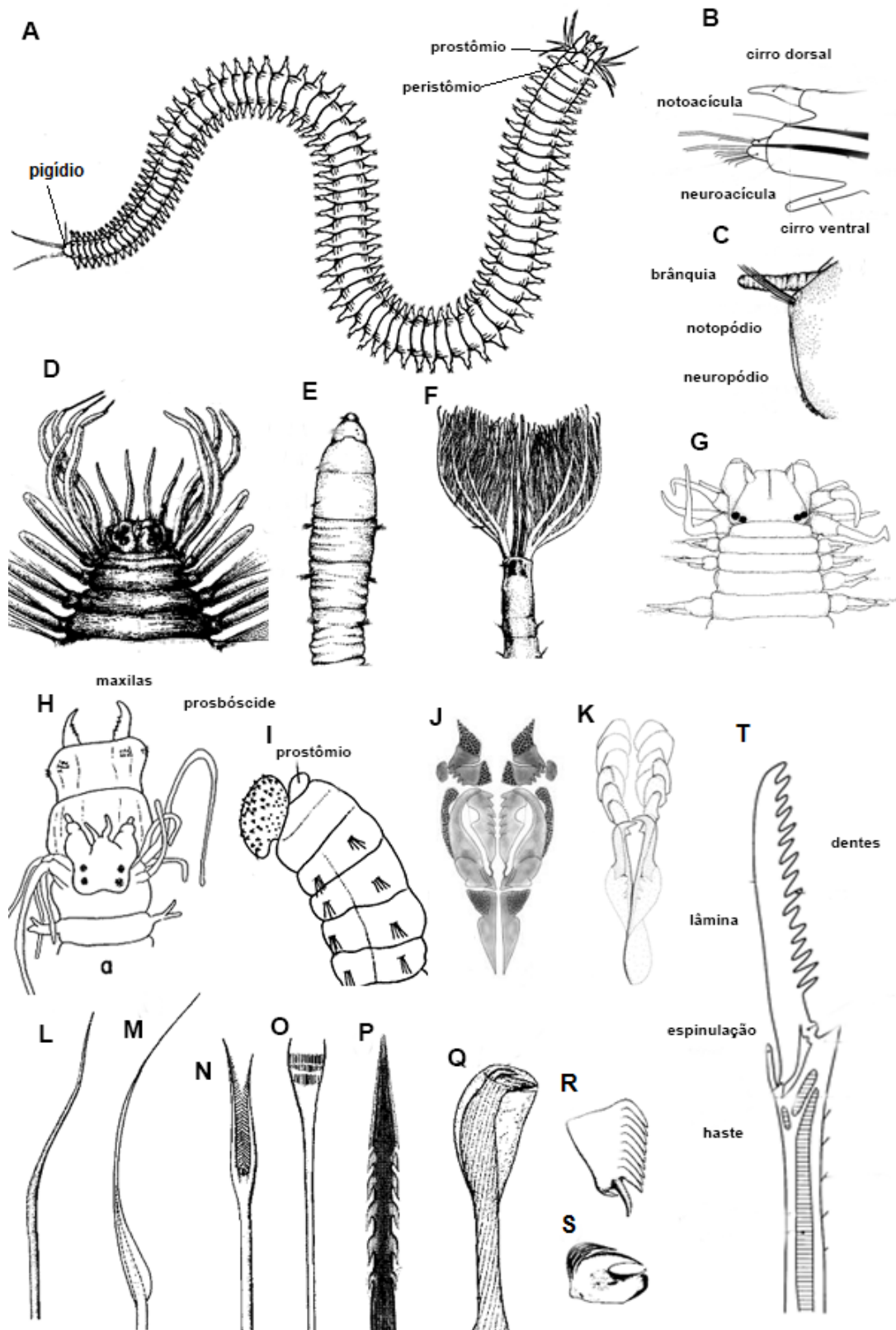


Figure 3. Morfologia de poliquetas. (A) Nereididae, corpo, vista dorsal; (B) Parapódio de poliqueta errante; (C) Parapódio de poliqueta sedentário; (D) Hesionidae, vista ântero-dorsal; (E) Arenicolidae, vista ântero-dorsal; (F) Sabellidae, vista ântero-dorsal; (G) Nereididae, vista ântero-dorsal; (H) Nereididae, probóscide eversível com mandíbula, vista ântero-dorsal; (I) Capitellidae, probóscide globosa ou sacular, vista ântero-lateral; (J) Lumbrineridae, maxila; (K) Dorvilleidae, maxila; (L) Serpullidae, cerca capilar; (M) Lumbrineridae, cerda

capilar; (N) Scalibregmatidae, cerda em forma de lira; (O), Eunicidae, cerda pectinada; (P) Aphroditoidea, em forma de arpão; (Q) Capitellidae, gancho encapuzado; (R) Serpullidae, gancho avicular ou uncini; (S) Terebellidae, gancho avicular ou uncini; (T) Nereididae, cerda composta falcígera. Esquemas: A (Thomson, 1916); B, G, T (Glasby, 1999), C-F e L-S (Rouse & Pleijel, 2001); H (Taylor, 1984); I (Glasby *et al.*, 2004); J (Carrera-Parra, 2001); K (Paxton & Åkesson, 2010).

DNA BARCODING: FERRAMENTA DE ACESSO À BIODIVERSIDADE

O termo DNA *barcoding* foi usado pela primeira vez por Arnot *et al.* (1993), porém a consagração da técnica foi dada por Hebert *et al.* (2003) ao propor o uso de uma sequência de DNA padrão como uma “etiqueta” para proporcionar a identificação das espécies e aumentar a velocidade da descoberta de novas espécies. De fato, a descrição da diversidade molecular através de “DNA *barcoding*” têm se mostrado útil e vem sendo amplamente utilizada (Stockle & Hebert, 2008; Bucklin *et al.*, 2011).

A eficiência e acurácia da identificação, com base no DNA *barcoding*, dependem do conhecimento das diferenças entre variações intraespecíficas, interespecíficas e geográficas (Lou & Golding, 2012). A combinação de métodos morfológicos e moleculares torna o *barcoding* uma poderosa ferramenta para uma identificação de espécies inequívoca (Böttger-Schnack & Machida, 2011), além disso, dados sobre comportamento, ecologia e distribuição geográfica das espécies devem ser considerados (Birky, 2007). O *barcoding* sustentaria a mesma ideia Linneana de que as espécies existem como forma ideal, com mínima variação intraespecífica (Collevatti, 2011).

A região de DNA escolhida para ser *barcodes* deve conter variabilidade e divergência genéticas significativas em nível de espécie, ser amplamente distribuída nos táxons, ser passível de sequenciamento com iniciadores universais e ser pequena o suficiente para ser sequenciada facilmente (Kress & Erickson, 2008). A sequência do gene mitocondrial COI (citocromo c oxidase subunidade I) com cerca de 658bp, que codifica uma das subunidades da enzima citocromo c oxidase da cadeia de transporte de elétrons, presumivelmente atende a estes critérios e foi designado como DNA *barcode* (Hebert *et al.*, 2003; Collevatti, 2011).

O genoma mitocondrial é um candidato melhor que o nuclear devido à ausência de íntrons, limitada recombinação e seu modo haplóide de herança (Saccone *et al.* 1999). Trabalhos filogenéticos têm usado genes mitocondriais (12S e 16S), mas seu uso para a taxonomia é limitado pela prevalência de inserções e deleções que complicam grandemente o alinhamento das sequências (Doyle, 2000).

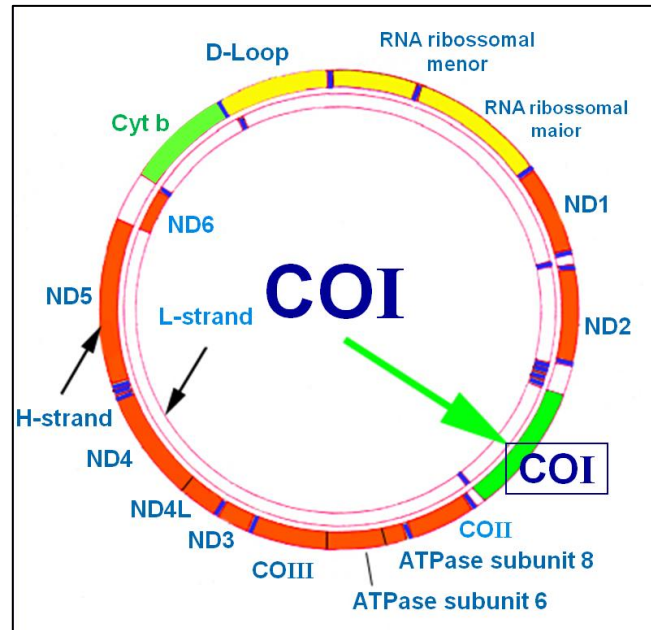


Figura 4. Esquema de genoma mitocondrial animal com indicação da localização do COI e demais genes. Fonte: Adaptado de Schindel (2007).

O COI apresenta vantagens como o fato de apresentar *primers* universais robustos e parece possuir um alcance maior de sinal filogenético (Hebert *et al.*, 2003). Além disso, a evolução do COI é rápida o suficiente para permitir não só a distinção entre espécies, mas também de grupos filogenéticos dentro da mesma espécie (Cox & Hebert, 2001; Wares & Cunningham, 2001). O COI é uma região bem conservada e para que o *barcoding* seja eficiente, a região do gene sequenciado deve ser quase idêntica entre indivíduos da mesma espécie, mas diferente entre as espécies (Carr *et al.*, 2011). Os táxons podem ser identificados através da identidade das sequências utilizando o conceito de MOTU (Molecular Operational Taxonomic Units). A identidade da sequência não precisa corresponder à identidade do OTU (Operational Taxonomic Units) que é medida por outros modelos, por exemplo, morfológicos. Esta abordagem permite a atribuição de potenciais espécies para grupos que surgem a partir de dados que indiquem divergência molecular permitindo assim testar grupos de espécies sob vários cenários (Costa *et al.*, 2009).

A aplicação de DNA *barcoding* em organismos bentônicos é uma área emergente e tem sido usada principalmente em relação à taxonomia e identificação de invertebrados (Baird & Sweeney, 2011). Em anelídeos, o DNA *barcoding* foi estudado no intuito da criação de bibliotecas locais (Lobo *et al.* 2015) para poliquetas de Portugal, como ferramenta de

biomonitoramento com oligoquetas (Vivien *et al.*, 2015) e da avaliação da qualidade dos dados disponíveis e eficiência da ferramenta para anelídeos (Kvist, 2014).

Entretanto, existem muitas fragilidades no uso dessa ferramenta. O DNA extraído de material em coleções de referência, muitas vezes está em um estado altamente degradado e não é passível de sequenciamento (Baird *et al.*, 2011). A qualidade dos dados da sequência no GenBank, EMBL (European Bioinformatics Institute), DDBJ (DNA Data Bank of Japan) nem sempre é perfeita (Harris, 2003), quer como um resultado de erros de sequenciamento, de identificações, contaminações ou problemas taxonômicos (Valentini *et al.*, 2008). Uma das principais condições para um uso eficiente do barcode é a existência de um intervalo (*barcode gap*) entre as distâncias genéticas intra e interespecíficas para uma delimitação satisfatória das espécies (Meyer, 2005). Valores de distâncias genéticas abaixo de um determinado limiar (valor de distância que varia dependendo do táxon) sugerem uniformidade taxonômica, enquanto que valores acima de um outro limiar indicariam distinção taxonômica (Wiemers & Fiedler 2007). Quando limiares se sobrepõem, a identificação por DNA *barcoding* pode gerar erros e problemas na identificação (Kvist, 2014).

As vantagens do DNA *barcoding* podem ser uma ilusão de melhoramento da identificação, sendo considerada uma “inovação chique” (Collevatti, 2011) ou uma “distração tecnológica” perante o problema do impedimento taxonômico (Ebach *et al.* 2011). A solução para esse problema seria investir em taxonomia, na capacitação profissional de especialistas, infraestrutura e laboratórios, pois se a taxonomia alfa (que tem como base de estudo a morfologia) fosse bem aplicada, esse tipo de tecnologia não seria necessária (Collevatti, 2011; Ebach *et al.*, 2011).

A finalidade do DNA *barcoding* não é criticar os esforços taxonômicos nem para substituir a taxonomia baseada na morfologia, mas potencializar a identificação da obtenção uma maior compreensão da biodiversidade (Sweeney *et al.*, 2011). Inclusive, a validade do DNA *barcoding* depende do estabelecimento de sequências a partir de espécimes taxonomicamente confirmados (Stoeckle & Hebert, 2008). Porém, para que isso seja bem estabelecido, as sequências do DNA *barcoding* de espécimes de diferentes localidades precisam ser determinadas e disponibilizadas. Isso aumentaria o número de espécies presentes nos bancos de dados, assim como a representatividade geográfica de espécies já registradas e, conseqüentemente, a precisão da identificação (Bergsten *et al.*, 2012).

Uma das propostas é a criação cuidadosa e metódica de uma biblioteca de DNA *barcoding* em escalas locais, regionais e globais, conectando nomes lineanos e informações ecológicas associadas com as sequências *barcodes* (Baird & Sweeney, 2011). Porém, para que

os dados moleculares sejam úteis na identificação é essencial que sequências de espécimes corretamente identificados estejam disponíveis em bancos de dados, como BOLD (*Barcode of Life*), “BrBOL- *Brazilian Barcode of Life*” e GenBank (NCBI). Além disso, os espécimes utilizados para determinar as sequências devem ser depositados como espécimes-testemunho em coleções zoológicas públicas. No cumprimento desses esforços, garante-se a confiabilidade das sequências, a representatividade das coleções zoológicas e as informações históricas sobre a biodiversidade.

ILHAS OCEÂNICAS E BIODIVERSIDADE

O conhecimento da biodiversidade marinha é um grande desafio, tendo em vista as dificuldades encontradas na busca (amostragem) das espécies existentes nos ecossistemas marinhos. Estima-se que aproximadamente, 91% das espécies marinhas ainda não são conhecidas (Mora, 2011). Isso dificulta a determinação de espécies ameaçadas de extinção, de padrões de distribuição das espécies endêmicas, bem como o entendimento da dinâmica e estrutura das comunidades e ecossistemas, refletindo na ausência de planos de ação para a conservação de invertebrados marinhos bentônicos (Poore & Wilson, 1993).

Dentre os ambientes marinhos, as ilhas oceânicas possuem características peculiares devido ao seu isolamento geográfico que leva a alto grau de endemismo e até a manutenção de espécies consideradas relíquias (Gillespie, 2007). Dessa maneira, estudos sobre a diversidade destes locais são imprescindíveis para um conhecimento mais abrangente da biodiversidade marinha e local, das dinâmicas ecológicas e assim subsidiar planos de conservação, manejo e exploração sustentável de recursos eficientes.

O conhecimento sobre a biodiversidade de invertebrados marinhos bentônicos na costa do Brasil, permanece insatisfatório (Amaral & Jablonski, 2005; Lana *et al.* 2009). Em relação aos poliquetas, são conhecidas cerca de 1.149 espécies, 434 gêneros e 68 famílias no Brasil (Amaral *et al.*, 2012) e a região costeira das regiões sul e sudeste possuem a melhor prospecção (Lana *et al.*, 2009). Quando se trata de ilhas oceânicas, o cenário é ainda mais preocupante. O conhecimento sobre a biodiversidade marinha do ASPSP, Arquipélago de Fernando de Noronha e Atol das Rocas, por exemplo, é escasso (Serafini *et al.*, 2010). Estudos com poliquetas provenientes do ASPSP, por exemplo, são representados apenas por Barroso *et al.* (2010), Ahrens *et al.* (2013) e Magalhães *et al.* (2014).

As ferramentas moleculares são muito úteis em sistemas marinhos onde não há uma boa compreensão dos limites da distribuição de espécies em larga escala (Carr *et al.*, 2011) o que se aplica muito bem no contexto de ilhas oceânicas. Biólogos concordam que o oceano é

conectado por correntes que carregam larvas e propágulos em longas distâncias promovendo fluxo gênico (Miglietta *et al.*, 2010). O uso de ferramentas moleculares tem auxiliado na compreensão da especiação e estrutura das populações frequentemente notando populações geneticamente distintas (Miglietta *et al.*, 2010).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Aplicar DNA *barcoding* como ferramenta de estudo da biodiversidade de anelídeos poliquetas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficiência da utilização dos fragmentos de DNA mitocondrial citocromo c oxidase subunidade 1 (COI) e 16S como sequências *barcoding*.
- Descrever a diversidade de poliquetas, através de identificação morfológica e molecular (DNA *barcoding*) no Arquipélago de São Pedro e São Paulo.
- Verificar a existência de *barcode gap* em escala local usando os marcadores COI e 16S.

ÁREA DE ESTUDO

O ASPSP é o menor arquipélago oceânico brasileiro localizado no Atlântico Norte-Equatorial (00°55'02"N; 29°20'42"W), distando 1.010 km da costa brasileira e 1.824 km da costa africana (Figura 5A, B) (Campos *et al.*, 2009). Esse arquipélago é formado por 15 pequenas ilhas de rochas plutônicas localizadas sobre a fratura tectônica de São Paulo e possui uma área total emersa de cerca de 13.000 m² (IBAMA, 2004; Motoki *et al.*, 2009).

O ASPSP está localizado na Zona de Convergência Intertropical (ZCIT), caracterizada por apresentar ventos fracos, intensa cobertura de nuvens, elevada precipitação, baixa taxa de evaporação e também sofre a ação da Corrente Sul Equatorial durante todo o ano, com velocidade aproximada de 20 cm/s e limite inferior em 200 m de profundidade (IBAMA, 2004). Essas características influenciam o regime de chuvas na costa nordestina brasileira, o que o leva a ser uma das áreas com maior índice pluviométrico em todo o Oceano Atlântico e,

consequentemente, com menor salinidade superficial (IBAMA, 2004; Campos *et al.*, 2009). Essa dinâmica exerce forte influência no ciclo de vida de várias espécies migratórias, sendo um local importante para o desenvolvimento de estudos de zoogeografia marinha (IBAMA, 2004; Campos *et al.*, 2009).

O ASPSP é um dos cinco grupos de ilhas oceânicas brasileiras e está localizado no Nordeste do país e apresenta características distintas quanto a sua distância da costa, geomorfologia e aspectos ambientais (Serafini *et al.*, 2010). Devido ao seu pequeno tamanho e isolamento, o ASPSP é de interesse histórico e biogeográfico (Edwards & Lubbock, 1983a, b). Tais fatores podem influenciar a diversidade de espécies presentes, bem como a conectividade das populações, por isso o ASPSP é um local importante para a compreensão de padrões globais da biodiversidade.

Na primeira metade do século XIX, o ASPSP foi visitado por Charles Darwin durante o Beagle Expedition e algumas décadas mais tarde pelo “HMS Challenger”, ao longo dos cem anos seguintes apenas relatos científicos eram esporadicamente notados. Alguns manuscritos foram publicados como resultado da Expedição Cambridge em 1979 (Edwards & Lubbock, 1983a, b).

Em 1986, o governo brasileiro criou uma área de proteção ambiental na qual incluía o ASPSP juntamente com o Arquipélago de Fernando de Noronha e Atol das Rocas pelo Decreto nº 92.755, de 05 de junho de 1986 (Brasil, 1986) e 12 anos depois houve a implantação de uma estação científica, o que levou à intensificação das investigações científicas. Desde então, o conhecimento da biodiversidade e ecologia do ASPSP tem aumentado (Hazin, 2009).

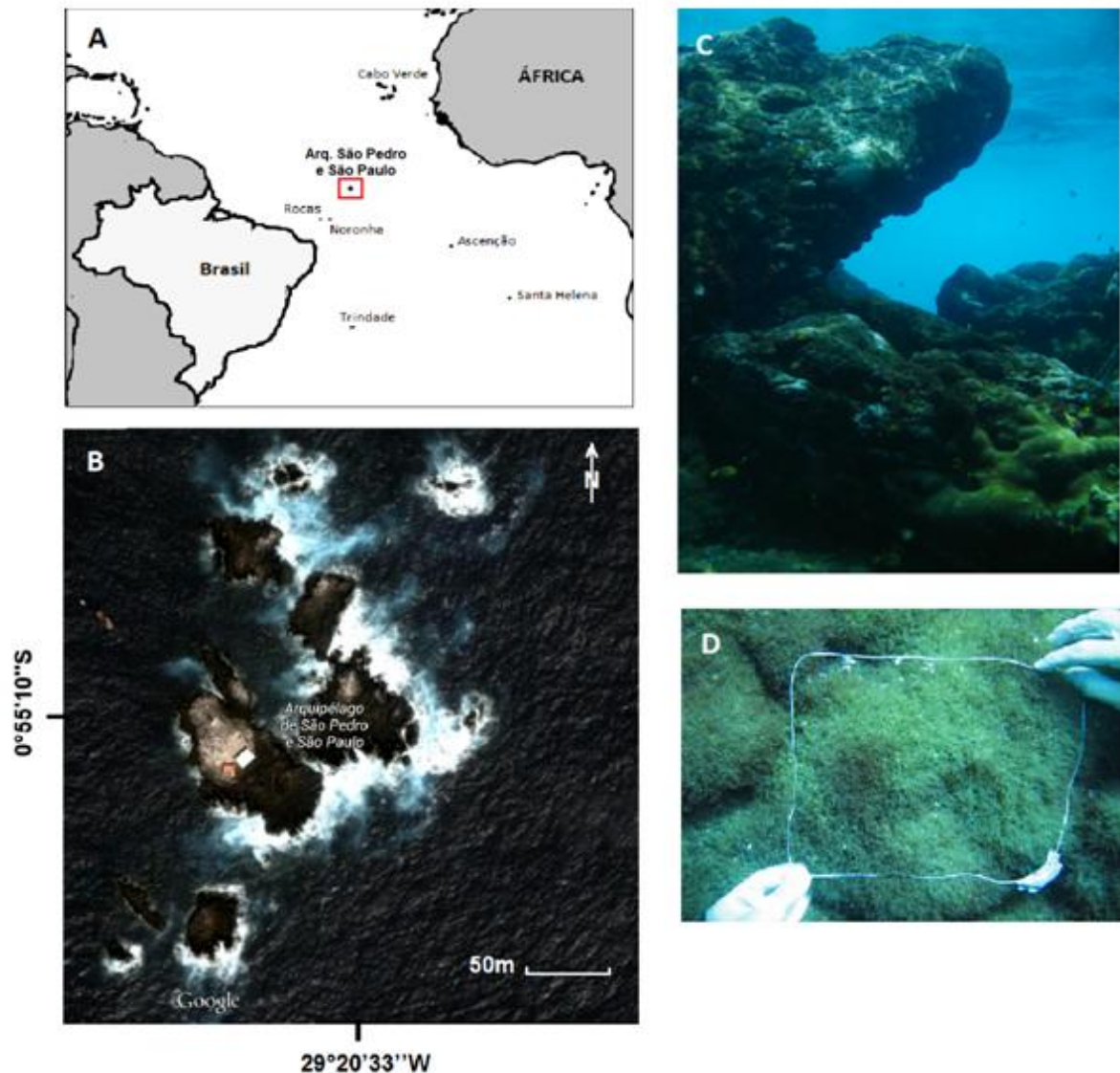


Figura 5. Área de estudo. (A) Localização geográfica do ASPSP; (B) Vista aérea do ASPSP; (C) Vista subaquática do ASPSP, costão rochoso; (D) Amostragem Polychaeta. Esquema A: Adaptado de Gustavo Mattos, 2013; Fotografias: B (Adaptada de Google Images, 2014), C e D (©Gustavo Mattos, 2013).

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA

Os poliquetas foram amostrados (SISBIO - número da licença: 23760-1) de duas formas, através de mergulho: (1) busca e coleta de sedimento na profundidade de 8 a 10 m, (18.vii.2013) e (2) raspagem na profundidade de 6 m (20.vii.2013) e 12 m (18.vii.2013) (Figura 5C, D). Foram coletados poliquetas em substrato consolidado e inconsolidado, assim

como de substratos biogênicos, como algas calcárias e corais. Esse procedimento permitiu amostrar um maior número de habitats e gerar um levantamento representativo da diversidade de poliquetas.

As amostras correspondentes ao estudo qualitativo foram triadas no campo, enquanto que as amostras obtidas para estudo quantitativo foram triadas em laboratório. Ambas foram fixadas e conservadas em etanol (92 a 96%).

ANÁLISES MORFOLOGICAS E MOLECULARES

Caracterização Morfológica

No Laboratório de Invertebrados (LABIN), Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé (NUPEM), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Professor Aloísio Teixeira (UFRJ-Macaé), os espécimes foram primeiramente identificados ao menor nível taxonômico possível com base em caracteres morfológicos (em morfoespécies¹).

Para a identificação, os espécimes foram examinados através de microscópio estereoscópico (Olympus SZX-16) e microscópio óptico (Olympus CX31) e bibliografia taxonômica especializada foi utilizada. As espécies foram fotodocumentadas com auxílio de estereomicroscópio Leica M205 A e software Leica Application Suite v.4.1.0., na Unidade Integrada de Imagem do NUPEM. Os espécimes foram depositados na Coleção Científica Regional de Invertebrados (NPM-Pol - NUPEM/UFRJ-Macaé, RJ). Alguns táxons permaneceram em morfoespécie, pois sua identificação em nível de espécie não foi possível devido ao estado de preservação do organismo (degradado). A decisão taxonômica final das espécies foi realizada após análise dos dados moleculares.

No presente manuscrito, foi elaborada uma lista taxonômica com as espécies identificadas. A lista foi organizada em ordem alfabética com as seguintes informações: localidade tipo, material examinado, distribuição geográfica e comentários. Uma espécie nova foi descrita. Os espécimes dos quais sequências foram obtidas, estão destacados com o símbolo ® indicando que se referem às sequências serão registradas no GenBank e BOLD para publicação da presente dissertação.

¹ Morfoespécie – espécies provisoriamente identificadas a partir da morfologia (em nível específico ou não).

Caracterização Genética

Extração, Amplificação e Sequenciamento do DNA

Para extração, amplificação e sequenciamento de DNA foram escolhidos no máximo três exemplares de cada espécie identificada. Uma pequena amostra de tecido muscular foi removida do lado ventral ou dorsal de um dos segmentos de cada espécime (preservado em etanol). A remoção dos tecidos foi realizada com material esterilizado (lâminas, pinças e bisturis). Antes de remover o tecido de cada espécime, os materiais eram limpos através de imersão em hipoclorito de sódio que degrada o DNA. O tecido foi separado para extração em um microtubo de 1,5 ml e o restante do corpo do espécime foi separado em outro microtubo adequado para depositar na coleção científica (NPM-Pol). O DNA genômico foi extraído através do kit de extração da Qiagen® (DNeasy *tissue kit*) seguindo as instruções do fabricante (Quiagen®, 2006).

Os marcadores moleculares utilizados foram os fragmentos mitocondriais COI e 16S. O gene COI é utilizado como sequência *barcoding* para invertebrados pelo projeto “Barcode of Life” (Hebert *et al.*, 2003). A região de 658 bp do COI foi empregada como *barcode* em poliquetas por Carr *et al.* (2011) e Lobo *et al.* (2015) e oligoquetas por Vivien *et al.* (2015). Trabalhos de filogenia geralmente usam o gene 16S por ser uma região altamente conservada, já foi empregada para analisar a filogenia de Annelida por Struck (2007) e em poliquetas por Struck *et al.* (2006), Bleidorn *et al.* (2009), Ruta *et al.* (2007) e Zanol *et al.* (2010).

A amplificação dos marcadores moleculares foi realizada por meio de técnicas de PCR (reação em cadeia da polimerase) utilizando oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) e parâmetros de reações utilizados em estudos anteriores (Folmer *et al.*, 1994; Bleidorn & Podsiadlowski, 2006; Struck, 2007; Zanol *et al.*, 2010; Geller *et al.*, 2013; Magalhães *et al.*, 2014). Foram utilizados dois conjuntos de *primers* para amplificar o fragmento de gene mitocondrial COI e um conjunto para o 16S (Tabela 1).

Para o gene COI, as reações de PCR foram realizadas em 25 µL de solução contendo 0,2 µl de Taq DNA Polymerase (5,0 U/µl) (Promega), 1,0 µL de alíquota de DNA (>), 7,05 µL de ddH₂O, 2,5 µL de tampão de reação (1X), 2,5 µL de MgCl₂ (25 mM), 2,5 µL de dNTP (2 mM), 3,75 µL de *bovine serum albumine* - BSA (10 mg/mL) 1,5 µL de cada oligonucleotídeo iniciador *forward* e *reverse* (10 pmol/µL). A ciclagem utilizada consistiu em um ciclo de 1 min a 94°C, cinco ciclos de 30 s a 94°C, 1 min e 30 s a 45°C e 1 min a 72°C, seguido de 45 ciclos de 30 s a 94°C, 1 min e 30 s a 47°C e 1 min a 72°C, com extensão final de 5 min a 72°C.

Para o gene 16S, as reações de PCR foram realizadas em 25 µL de solução contendo 0,2 µl de Taq DNA Polymerase (5,0 U/µl) (Promega), 2 µL de alíquota de DNA, 14,9 µL de ddH₂O, 2,5 µL de tampão de reação (1X), 3,0 µL de MgCl₂ (25 mM), 0,5 µL de dNTP (2 mM), 1 µL de *bovine serum albumine* - BSA (10 mg/mL) 1 µL de cada oligonucleotídeo iniciador *forward* e *reverse* (10 pmol/µL). A ciclagem utilizada consistiu em um ciclo de 3 min a 94°C, 35 ciclos de 30s a 94°C, 30s a 48°C e 1 min e 30 s a 72°C, com extensão final de 7 min a 72°C.

O resultado das reações foi verificado em géis de agarose 1%. Controles negativos e positivos foram incluídos nas reações. Os produtos de PCR foram enviados, não purificados, juntamente com os *primers* utilizados nas reações para processo de sequenciamento pela empresa MacroGen® (Seul, Coreia do Sul).

Tabela 1 - Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para amplificação do COI e 16S.

PRIMER	SEQUÊNCIA (5'-3')	DIREÇÃO	REFERÊNCIA
<u>COI</u>			
LCO1490	GG TCA ACA AAT CAT AAA GAT ATT GG	<i>forward</i>	Folmer <i>et al.</i> , 1994
HCO2198	TGA TTT TTT GGT CAC CCT GAA GTT TA	<i>reverse</i>	Folmer <i>et al.</i> , 1994
jgLCO1490	TIT CIA CIA AYC AYA ARG AYA TTG G	<i>forward</i>	Geller <i>et al.</i> 2013
jgHCO2198	TAI ACY TCI GGR TGI CCR AAR AAY CA	<i>reverse</i>	Geller <i>et al.</i> 2013
<u>16S</u>			
16SAN-R	GCT TAC GCC GGT CTG AAC TCA G	<i>reverse</i>	Zanol <i>et al.</i> , 2010
16SarL	CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT	<i>forward</i>	Palumbi <i>et al.</i> , 1991

Análise dos Dados

O número de espécies foi determinado primeiramente através da morfologia, pelo estudo das características diagnósticas dos poliquetas e molecularmente, pela análise de padrões de divergência em COI e 16S para determinar o número de grupos de sequências.

As sequências de nucleotídeos (COI e 16S) obtidas foram editadas usando Sequencher versão 4.1.4 (GeneCodes®, Ann Arbor, MI). Potenciais contaminantes bacterianos ou de outra natureza (Siddall *et al.*, 2009) foram controlados por uma busca BLASTn dos genes COI e 16S. No total duas sequências de 16S não correspondiam a Annelida (*Hypsicomus* sp. e *Polycirrus* sp) e, portanto foram removidas do conjunto de dados deste estudo. Sequências de espécies similares (a partir de 80% de semelhança) ou da correspondente espécie foram adicionadas ao conjunto de dados.

O alinhamento das sequências foi realizado usando ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) com sequências de espécies próximas disponíveis na plataforma do GenBank® (NCBI). As análises das sequências foram realizadas pelo método de agrupamento “*neighbor joining*” (NJ) no programa MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) utilizando Kimura-2-parâmetros (K2P) de Kimura (1980) para testar a eficácia de identificação das espécies sequenciadas utilizando método de monofilia, que serviu como base para reconhecimento preliminar espécies (Kimura, 1980; Tamura *et al.*, 2011). Uma representação gráfica da árvore de espécies de poliquetas foi obtida a partir dessa análise, mostrando as sequências agrupadas por unidade taxonômica operacional molecular (MOTUs) ou espécies provisórias (Blaxter *et al.*, 2005). A variabilidade das distâncias intraespecíficas não ultrapassam a divergência de 3%, de acordo os padrões de variabilidade do COI conhecidos em poliquetas (Carr *et al.*, 2011), portanto, essa foi a divergência limiar intraespecífica considerada neste trabalho.

O marcador ideal para *barcoding* deve ser capaz de mostrar uma refinada distinção taxonômica de forma que os valores limiares de divergências intra- e interespecíficas não se sobreponham. Assim, o algoritmo do *Automatic Barcode Gap Discovery* - ABGD (Puillandre *et al.*, 2012) foi utilizado para identificar o “*barcode gap*” entre as distâncias intra- e interespecíficas e verificar a delimitação de espécies pelo agrupamento das sequências nas instâncias dos dois genes (COI e 16S).

Na base de dados do BOLD, há um algoritmo que ordena as sequências em “cestos”, BIN – *Barcode Index Number* (Ratnasingham & Hebert, 2013). Essa abordagem é semelhante a das MOTUs agrupando as sequências que possuem grande probabilidade de serem da mesma espécie em BINs (Ratnasingham & Hebert, 2013). No presente estudo, essa ferramenta do BOLD foi utilizada, no âmbito das sequências de COI, para verificar congruências e incongruências entre os BINs existentes e as sequências de COI dos poliquetas do ASPSP.

Para avaliar o grau de fiabilidade das identificações dos espécimes analisados foi usado o sistema de classificação proposto por (Costa *et al.*, 2012) para peixes, com o uso das sequências compiladas em bases de dados públicas GenBank e BOLD. O método de Costa *et al.* (2012) foi adaptado por Lobo *et al.* (2015) para poliquetas assumindo uma distância patrística máxima de 3%, segundo o padrão de divergências observado para esses organismos por Carr *et al.*, (2011) e Kvist (2014). Sendo assim, a distância patrística máxima considerada no presente estudo foi de 3%. O método de Costa *et al.* (2012) classifica as sequências *barcode* em cinco níveis de fiabilidade taxonômica:

Nível A - Concordância externa: sequência agrupa com DNA barcodes da mesma espécie disponíveis em bases de dados públicas (obtidos por outros investigadores em projectos autónomos), formando um clado monofilético com divergência patrística máxima de 3%;

Nível B - Concordância interna: sequência com correspondência interna apenas na nossa biblioteca (pelo menos três sequências), formando um clado monofilético com divergência patrística máxima de 3%;

Nível C - Concordância sub-ótima: apesar de formarem um grupo monofilético, apresentam divergência intraespecífica >3% (dentro da nossa biblioteca ou comparativamente a sequências públicas);

Nível D - Dados insuficientes: baixo número de espécimes analisados (um ou dois);

Nível E - DNA *barcodes* discordantes: DNA *barcodes* da espécie sob escrutínio agrupam no mesmo clado com sequências de outras espécies disponíveis em bases de dados públicas (*e.g.* erro de morfo-identificação ou parafilia).

RESULTADOS & DISCUSSÃO

ESTUDO TAXONÔMICO

Um total de 1.012 indivíduos de poliquetas foi identificado, pertencendo a 13 famílias, 24 gêneros e 15 espécies provenientes do ASPSP, coletados em julho de 2013 (Anexo 1). Chaetopteridae foi a família mais abundante e Syllidae foi a família com maior riqueza de espécies. *Chaetopterus capensis* foi a espécie com maior abundância. Uma espécie nova e cinco novas ocorrências para o Brasil e 12 para o ASPSP. A seguir, são apresentadas as 15 espécies encontradas, incluindo a descrição da espécie nova.

AMPHINOMIDAE Lamarck, 1818

***Eurythoe* Kinberg, 1857**

***Eurythoe complanata* (Pallas, 1776)**

(Figura 6A – B)

Localidade tipo: Mar do Caribe, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSPS, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 8-10 m, 20.vii.2013, um ind., completo (NPM-Pol 922, ®); um ind., completo (NPM-Pol 923, ®); um ind., completo (NPM-Pol 924, ®); 10 inds., (NPM-Pol 1003); 12 m, 15 inds., 18.vii.2013 (NPM-Pol 1001).

Caracterização morfológica: Corpo alongado e achatado; prostômio com carúncula alongada que está ligada até o terceiro setígero, mas se sobrepõe até o quarto setígero. Brânquias a partir do setígero quatro. Notocerca de três tipos: ponta lisa, tipo arpão com serrações recurvadas em um único lado e cerdas finas com um pequeno com uma pequena proeminência e uma longa lâmina delgada com muitas serrações frágeis; neurocerca de dois tipos: furcada com garras lisas de tamanhos iguais e cerdas com pequena proeminência na base e lâmina longa. (Adaptado de Barroso & Paiva, 2007).

Distribuição: Oceano Atlântico: Bocas Del Toro, Caribe, Brasil (ASPSP, Atol das Rocas, Arquipélago de Abrolhos), Arquipélago de Açores, Gold Coast, Austrália, Atlit, Israel, Mar Vermelho, Moçambique, Quênia, Baía da Ostra, Tanzânia, Seicheles, Sri Lanka, Ilha de São Tomé – Oceano Pacífico: Ilha de Taboga (Barroso *et al.*, 2010).

Ecologia: *Eurythoe complanata* é popularmente conhecida como “verme-de-fogo” por expelir suas cerdas juntamente com uma substância urticante quando se sente ameaçada, causando assim alguns acidentes entre mergulhadores e banhistas (Amaral, 2008). *Eurythoe complanata* possui ciclos anuais de reprodução sexuada e assexuada; é encontrada em regiões tropicais e recifes de corais, ocupa o entremarés até 50 m de profundidade, tem hábitos noturnos, alimenta-se preferencialmente de organismos mortos (Amaral, 2008). A espécie foi usada como indicador de contaminação por metais pesados (Vázquez-Núñez, 2007).

Comentários: Os exemplares examinados neste estudo conferem com as descrições de Barroso & Paiva (2007) de espécimes provenientes do Atol das Rocas. Barroso *et al.* (2010) concluíram que *E. complanata* corresponde a um complexo de três espécies crípticas, duas do Atlântico e uma do Pacífico, como prováveis consequências de especiação parapátrica seguido de uma invasão secundária, ou mesmo uma especiação simpátrica nas ilhas do Oceano Atlântico. O suposto cosmopolitismo da espécie seria um artefato taxonômico (Barroso *et al.*, 2010).

Hermodice* Kinberg, 1857**Hermodice carunculata* (Pallas, 1776)**

(Figura 6C)

Localidade tipo: Mar do Caribe, Oceano Atlântico.**Material examinado:** BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, 20.vii.2013, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro, det., 8-10 m, um ind., completo (NPM-Pol 929 ®); um ind., completo (NPM-Pol 930 ®); um ind., completo (NPM-Pol 931 ®); sete inds. (NPM-Pol 995).**Caracterização morfológica:** Corpo alongado e robusto; prostômio cercado pelo primeiro setígero. Prostômio com dois pares de olhos e antena mediana alinhada com o primeiro par de olhos. Carúncula apresenta duas séries de seis a nove lobos foliáceos, cada série se estende obliquamente para trás. Brânquias ramificadas a partir do segundo setígero; cada parapódio apresenta um cirro dorsal e um cirro ventral; cirros notopodiais biarticulados. Cerdas neuropodiais com serrações e notopodiais lisas e pontiagudas (Adaptado de Barroso & Paiva, 2007).**Distribuição:** Oceano Atlântico: EUA (Sonmier Bank, Florida Keys, Flower Garden Banks, Ilhas Virgens), México (Quintana Roo), Bahamas, Belize, Panamá (Bocas del Toro), Caribe - Holanda (Curaçao, no Caribe) e Malta, Brasil (Atol das Rocas, ASPSP, Rio de Janeiro), São Tomé, Grécia (Creta) (Ahrens *et al.* 2013).**Comentários:** Os espécimes do presente estudo são idênticos aos descritos por Barroso & Paiva (2007) para o Atol das Rocas. A espécie está normalmente associada a substrato duro, quando viva possui dois padrões de coloração, vermelho e roxo, mas diferenças morfológicas não existem diferenças morfológicas entre os espécimes com esses padrões de coloração (Barroso & Paiva, 2007). As populações de *H. carunculata* são geneticamente as mais isoladas da costa brasileira, segundo Ahrens *et al.* (2013).***Linopherus* Quatrefages, 1865*****Linopherus canariensis* Langerhans, 1881**

(Figura 6D – E)

Localidade tipo: Ilhas Canárias, Espanha.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 8-10 m, 20.vii.2013, um ind., incompleto (NPM-Pol 926 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 932 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 933 ®); 18.vii.2013, 12 m, oito inds. (NPM-Pol 1007); 6 m, sete inds. (NPM-Pol 1008).

Caracterização morfológica: Prostômio com lobo anterior e posterior, sendo o posterior expandido, redondo e maior que o posterior. Lobo anterior, com antenas laterais ligeiramente bi-articuladas, localizado anteriormente e um par de palpos ligeiramente bi-articulado localizado látero-posteriormente; dois pares de olhos arredondados, par anterior maior. Antena mediana menor do que as laterais, localizadas entre o segundo par de olhos. Desprovido de carúncula. Parapódios birremes. Brânquias presentes nos setígeros 3-7, cada brânquia com 3-6 filamentos. (Adaptado de Barroso & Paiva, 2007).

Distribuição: Oceano Atlântico: Atol das Rocas, Brasil (Barroso & Paiva, 2007), Mediterrâneo (Cosentino & Giacobbe, 2011).

Ecologia: *Linopherus canariensis* é considerado um potencial invasor de ambientes impactados a partir de estudo em um lago no Mediterrâneo (Cosentino, 2011).

Comentários: Os exemplares do presente estudo conferem com a descrição original de *Linopherus canariensis* (Langerhans, 1881). Os espécimes apresentam características idênticas aos descritos por Barroso & Paiva (2007) para o Atol das Rocas e por Cosentino & Giacobbe (2011) para o Lago do Faro, Mediterrâneo. No presente estudo, as articulações do par de antenas laterais e palpos foram observados em todos os indivíduos. Em contraste, Barroso & Paiva (2007), observaram indivíduos sem essas articulações nas antenas laterais. Outros tipos de variação morfológica foram observadas em *Linopherus canariensis*, como o número de brânquias (Cosentino & Giacobbe, 2011), onde espécimes cultivados em substrato artificial apresentaram variação quanto ao número de pares de brânquias e no tamanho do corpo conforme o tipo de ambiente. O gênero *Linopherus* Quatrefages, 1866 foi considerado sinônimo júnior de *Pseudoeurhythoe* Fauvel, 1932 por Fauchald (1977) baseado no princípio da prioridade. Quatrefages (1866) não deixa clara a presença ou não da

carúncula, portanto a validade do gênero ainda é discutida. Os espécimes de *Linopherus canariensis* do ASPSP não apresentam carúncula.

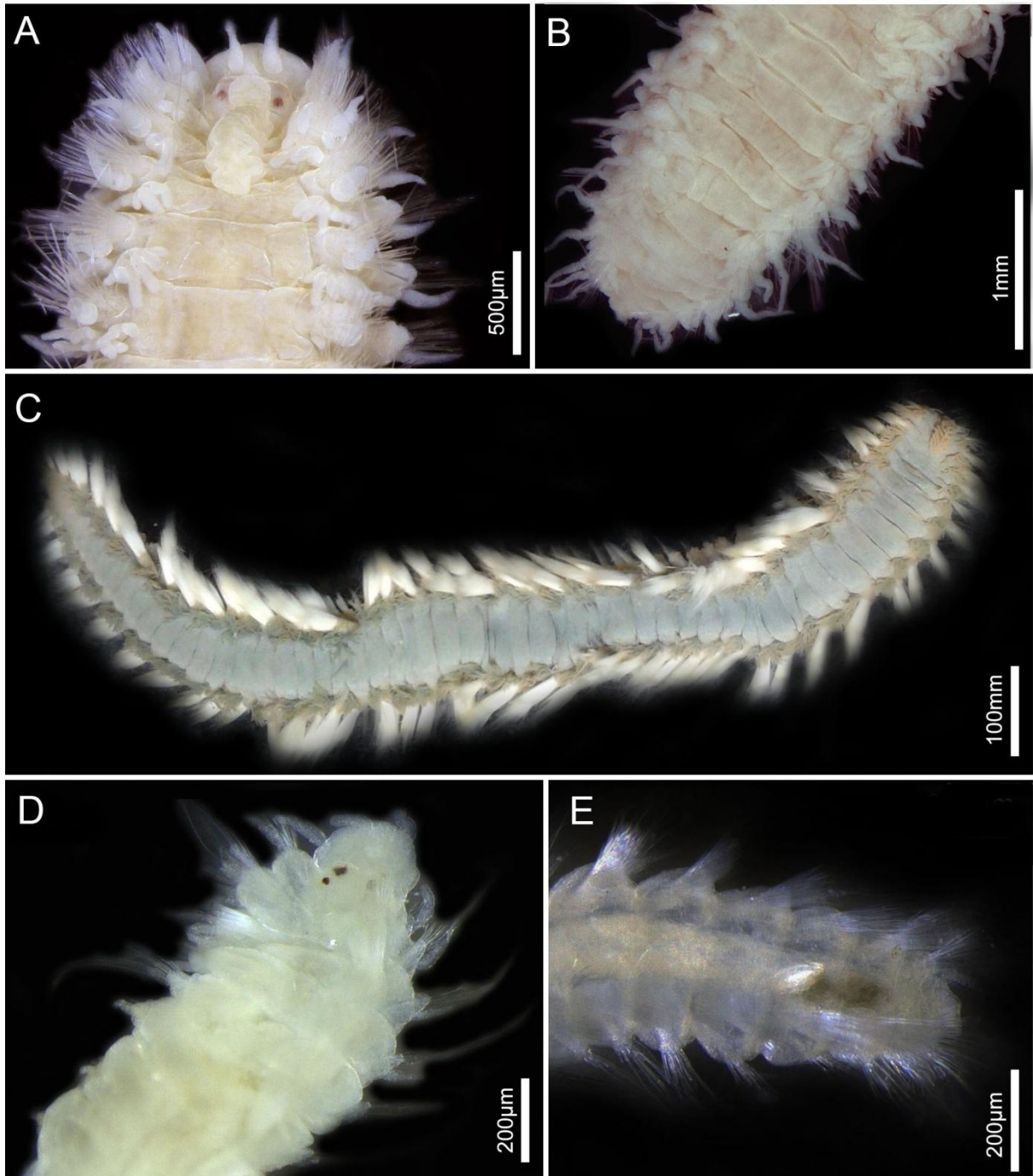


Figura 6. *Eurythoe complanata*. (A) prostômio, vista dorsal; (B) pigídio, vista dorsal. (C) *Hermodice carunculata*. (C) corpo, vista dorsal. *Linopherus canariensis*. (D) prostômio, vista dorsal ; (E) pigídio, vista dorsal.

CHAETOPTERIDAE Audouin & Milne Edwards, 1833

Chaetopterus Cuvier, 1830

Chaetopterus capensis Stimpson, 1856

(Figura 7A – B)

Localidade tipo: Cabo da Boa Esperança, Oceano Atlântico, África do Sul.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro, det., 8-10 m. 20.vii.2013, um ind., incompleto, (NPM-Pol 915 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 916 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 917 ®); 62 inds. (NPM-Pol 997); 12 m, 207 inds. (NPM-Pol 996).

Caracterização morfológica: Corpo pequeno e curto, com até 30 segmentos. Prostômio com olhos diminutos de cor marrom. Região A anterior com nove segmentos. Cerdas modificadas truncadas no setífero quatro. Primeiros oito segmentos providos de cerdas lanceoladas. Estrutura branca transversal separando setíferos e área ventral da região B ou região glandular. Região C com 10-15 segmentos, com notopódio estendido e neuropódio bilobado. Grande lobo ventral com *uncini* providos de grande número de dentes. Tubo de areia em forma de U achatado coberto de areia. (Adaptado de Stimpson, 1856; Nishi, 2001).

Distribuição: Oceano Atlântico: Cabo da Boa Esperança (Stimpson, 1856); África do Sul (Day, 1967). – Oceano Índico: África do Sul (Nishi, 2001). Primeiro registro para o Brasil.

Comentários: Os espécimes de *Chaetopterus capensis* do ASPSP conferem com a descrição original (Stimpson, 1856). Nishi (2001) descreveu que a região A de *Chaetopterus capensis* é longa e estreita, nem todos os espécimes do presente estudo se apresentaram assim, em alguns espécimes a região A possui largura semelhante ao resto do corpo e em outros exemplares até um pouco mais larga.

Phyllochaetopterus Grube, 1863

Phyllochaetopterus gracilis Grube, 1863

(Figura 7C – F)

Localidade tipo: Crivizza, Mar Adriático, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 8-10m, 20.vii.2013, um ind., incompleto (NPM-Pol 918 ®); um ind.,

incompleto (NPM-Pol 919 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 920 ®); 62 inds. (NPM-Pol 1009); 6 m, 24 inds. (NPM-Pol 1010).

Caracterização morfológica: Corpo largo e achatado anteriormente com três regiões bem distintas. Prostômio piriforme com dois pares de palpos um longo e um curto. Região A com oito a 10 setígeros, neuropódio dotado de cerdas lanceoladas ou falciformes dispostas em séries transversais. Três pares de cerdas no setígero quatro; *uncinus* com oito dentes na região posterior. (Adaptado de Grube, 1863; Fauvel, 1927).

Distribuição: Oceano Atlântico: Espanha (Ilhas Canárias, Cabo Finisterra) (Fauvel, 1927), Mar Adriático (Crivizza) (Grube, 1863).

Ecologia: *Phyllochaetopterus gracilis* possui tubo incrustado de areia e é reportado em substrato duro, esponjas e algas calcárias (Fauvel, 1927).

Comentários: Os espécimes do presente estudo são idênticos aos da descrição original de Grube (1863) e descrição de Fauvel (1927).

CIRRATULIDAE Carus, 1863

***Timarete punctata* (Grube, 1859)**

(Figura 7G – H)

Localidade tipo: Ilhas Virgens, EUA, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, um ind., 20.vii.2013, Barboza & Mattos, 8-10m, 20.vii.2013, 90 ind. (NPM-Pol 921); 6 m, 12 inds. (NPM-Pol 955); 37 inds. (NPM-Pol 1000); três inds. (NPM-Pol 1011).

Caracterização morfológica: Corpo alongado e engrossado com segmentos curtos. Prostômio triangular, pontiagudo, mais largo que longo. Cirros tentaculares nos setígeros três e quatro, formando dois grupos distintos, cada um com cinco cirros por segmento. Brânquias presentes a partir do primeiro setígero e localizadas somente na região dorsal do notopódio do primeiro ao 12º setígero, em seguida, as brânquias mudam para a linha média dorsal do notopódio. Notopódio amplamente afastado do neuropódio, mas ambos pouco desenvolvidos.

Cerdas capilares presentes no noto e neuropódio de cada setífero. *Spines* aciculares presentes no notopódio do setífero oito e no neuropódio do setífero seis. Pigídio triangular com abertura anal dorsal. (Adaptado de Çinar, 2007).

Distribuição: – Oceano Atlântico: Ilhas Virgens, EUA (Grube, 1859); Venezuela (Díaz-Díaz & Liñero-Arana, 2004); Brasil (Magalhães *et al.*, 2014); Alemanha (Weidhase *et al.*, 2015); Tobago, Turquia (Çinar, 2007) – Oceano Índico: África do Sul (Natal), Madagascar (Day, 1962). – Oceano Pacífico: Havaí (Hartman, 1966).

Comentários: A redescricao de *Timarete punctata* realizada por Çinar (2007) se enquadra aos espécimes do ASPSP. A descrição original de *Timarete punctata* é escassa em informações taxonômicas e enfatiza os padrões de coloração (Çinar, 2007). Além disso, os espécimes são similares aos descritos por Magalhães *et al.* (2014) encontrados também no ASPSP, Atol das Rocas e na costa da Bahia. Alguns espécimes do presente estudo apresentaram um par de cirros tentaculares, provavelmente, esses espécimes estavam em regeneração anterior. O estudo de Weidhase *et al.* (2015) com *Timarete punctata* mostra que quando ocorre a regeneração anterior, um primeiro par de cirros tentaculares é regenerado no terceiro setífero, e após alguns dias os demais cirros tentaculares são regenerados no terceiro e quarto setíferos. Segundo Magalhães *et al.* (2014), *T. punctata* corresponde a um complexo de espécies visto que é registrado ao longo dos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico. Análises moleculares sugerem que o material do Caribe e do Atlântico Sul correspondem a espécies distintas (Magalhães *et al.*, 2014).

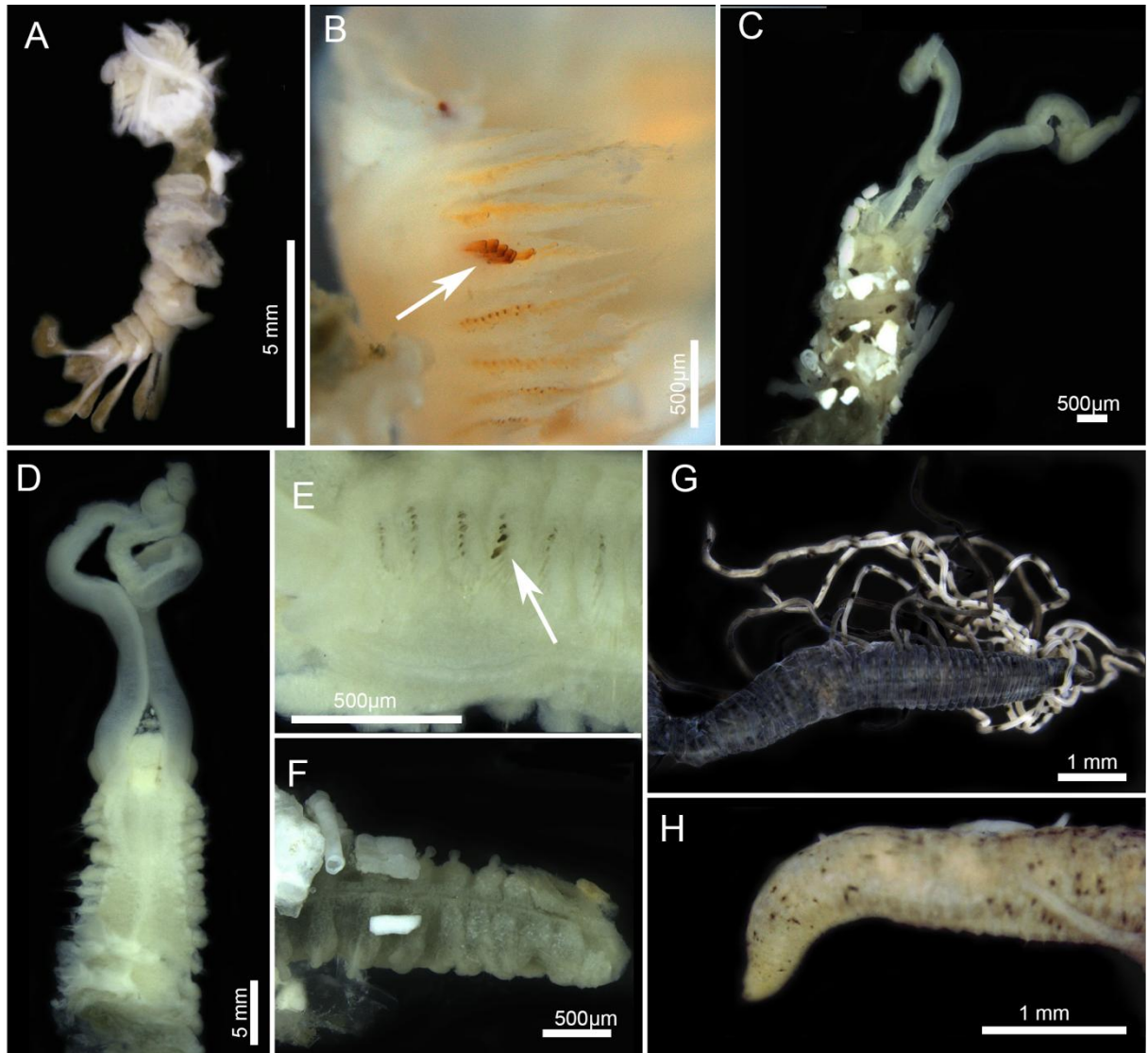


Figura 7. *Chaetopterus capensis*: corpo inteiro, vista dorso-lateral (A); região anterior, vista dorso-lateral, seta indicando as cerdas truncadas de coloração âmbar no setígero quatro (B). *Phyllochaetopterus gracilis*: região anterior de indivíduo dentro de tubo, vista dorsal (C); região anterior, vista dorsal (D); região anterior, vista lateral, seta indicando as cerdas truncadas do setígero quatro (E); pigídio, vista dorso-lateral (F). *Timarete punctata*: região anterior, vista lateral (G); pigídio, vista lateral (H).

EUNICIDAE Berthold, 1827

***Eunice* Cuvier, 1817**

***Eunice gagzoi* Augener, 1922**

(Figura 8A – C)

Localidade tipo: Ilhas Virgens, Haiti, Colômbia, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro, det., 20.vii.2013, um ind., incompleto (NPM-Pol 904 ©); um ind.,

Incompleto (NPM-Pol 905 ®); um ind., completo (NPM-Pol 911 ®); 6 m, um ind. (NPM-Pol 945).

Caracterização: Prostômio globular tão longo quanto largo; peristômio mais curto que o prostômio; todos os parapódios bem desenvolvidos, mas os anteriores são maiores que os anteriores; cerdas limbadas, dois tipo de cerdas em especializadas em ganchos: ganchos encapuzados compostos multidentados a partir do primeiro setífero até o quinto ou 16º; ganchos simples multidentados a partir dos setíferos 6-17; acícula amarela; aparato maxilar com cinco pares de maxilas; maxila III com cinco dentes, maxila MIV bidentada; pigídio com dois pares de cirros anais de tamanhos iguais. (Adaptado de Carrera-Parra, 2001).

Distribuição: Oceano Atlântico: Ilhas Virgens, Haiti, Colômbia (Augener, 1922); EUA, México (Carrera-Parra, 2015). Primeiro registro para o Brasil.

Comentários: Os espécimes do ASPSP são similares aos da descrição original de Augener (1922). Esta espécie se assemelha muito a *Nicidion cariboea* (Grube, 1856), descrita originalmente como *Eunice cariboea*, inclusive foi considerada um sinônimo júnior de *E. cariboea* por Hartman (1959). As diferenças entre as duas espécies são principalmente os ganchos subaciculares, cerdas pectinadas, acículas e formato do prostômio e peristômio e os espécimes de ASPSP conferem com as características descritas para *Eunice gagzoi*. Recentemente, com auxílio de dados moleculares (COI e 16S), Zanol *et al.* (2014), constataram que várias espécies do gênero *Eunice* foram agrupadas no gênero *Nicidion*, como *E. cariboea*, que agora tem como nome válido *Nicidion cariboea*. O gênero *Nicidion* foi originalmente descrito por Kinberg (1865) como um subgênero de *Eunice* sem brânquias.

LUMBRINERIDAE Schmarda, 1861

***Lumbrineris* Blainville, 1828**

***Lumbrineris perkinsi* Carrera-Parra, 2001**

Figura (Figura 8D – E)

Localidade tipo: Golfo do México, Caribe Mexicano, Cuba, República Dominicana, Pequenas Antilhas, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, , Barboza & Mattos col, Rannyele Ribeiro, 20.vii.2013, um ind., incompleto (NPM-Pol 909 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 962 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 967 ®).

Caracterização: Prostômio globular tão longo quanto largo. Peristômio mais curto que o prostômio. Todos os parapódios bem desenvolvidos, mas os anteriores são maiores que os anteriores. Cerdas limbadas, dois tipo de cerdas em especializadas em ganchos: ganchos encapuzados compostos multidentados a partir do primeiro setífero até o quinto ou 16°. Ganchos simples multidentados a partir dos setíferos 6-17. Acícula amarela. Aparato maxilar com cinco pares de maxilas. Maxila III com cinco dentes, maxila MIV bidentada. Pigídio com dois pares de cirros anais de tamanhos iguais. (Adaptado de Carrerra-Parra, 2001).

Distribuição: Oceano Atlântico: Golfo do México, Caribe Mexicano, Cuba, República Dominicana, Pequenas Antilhas (Carrera-Parra, 2001); Turquia, Mediterrâneo (Çinar, 2009); Grécia, Mediterrâneo (Zenetos *et al.*, 2011). Primeiro registro para o Brasil.

Comentários: Os espécimes do ASPSP conferem com a descrição original de Carrera-Parra (2001), exceto pela posição das cerdas compostas multidentadas que vão até o setífero 20, variação observada anteriormente por Çinar (2009). Além disso, nos parapódios passa a ocorrer somente cerdas simples bidentadas a partir do setífero 21.

ORBINIDAE Hartman, 1942

***Proscoloplos* Day, 1954**

***Proscoloplos cygnochaetus* Day, 1954**

(Figura 8F – G)

Localidade tipo: Arquipélago de Tristão da Cunha, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSPASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos, Rannyele Ribeiro det., 12 m, 18.vii.2013, um ind. (NPM-Pol 951 ®), 8-10 m, 20.vii.2013; um ind. (NPM-Pol 910 ®); um ind. (NPM-Pol 938 ®); três inds. (NPM-Pol 1018); 6 m, 20.vii.2013, três inds. (NPM-Pol 1017).

Caracterização: Prostômio redondo. Dois primeiros segmentos aquetos. Parapódios todos similares, cada notopódio consiste em um lobo pós-setal digitiforme com poucas capilares

crenuladas. Brânquias fusiformes robustas começando a partir do oitavo setígero. Neuropódios similares aos notopódios. Neurocerdas incluem poucas cerdas capilares. (Adaptado de Day, 1967).

Distribuição: Oceano Atlântico: Arquipélago de Tristão da Cunha (Day, 1954); África do Sul (Day, 1967); França (Meyer *et al.*, 2008). – Oceano Pacífico: Austrália (Meyer *et al.*, 2008). Primeiro registro para o Brasil.

Comentários: *Proscoloplos cygnochaetus* do ASPSP confere com a descrição original de Day (1967). Há outras duas espécies conhecidas para este gênero: *Proscoloplos bondi* Kelaher & Rouse, 2003, descrita para a Austrália e *Proscoloplos confusus* Hartmann-Schröder, 1962, para o Chile. Ambas as espécies foram caracterizadas como sinônimos júnior de *P. cygnochaetus* por Meyer *et al.* (2008). A partir da observação dos caracteres morfológicos, como cerdas, brânquias, lobos, primeiro segmento em que a brânquia surge e caracteres moleculares - genes ITS1 e ITS2, Meyer *et al.* (2008) não encontraram diferenças convincentes para dar suporte à separação entre os clados em *Proscoloplos*. Portanto, *Proscoloplos* seria um gênero monoespecífico (Meyer *et al.*, 2008). Os exemplares de ASPSP apresentam o surgimento das brânquias no sexto setígero, como descrito por Day (1954). Estudos mostraram que a posição do aparecimento das brânquias em *Proscoloplos cygnochaetus* pode resultar de regeneração (Meyer *et al.* 2008).

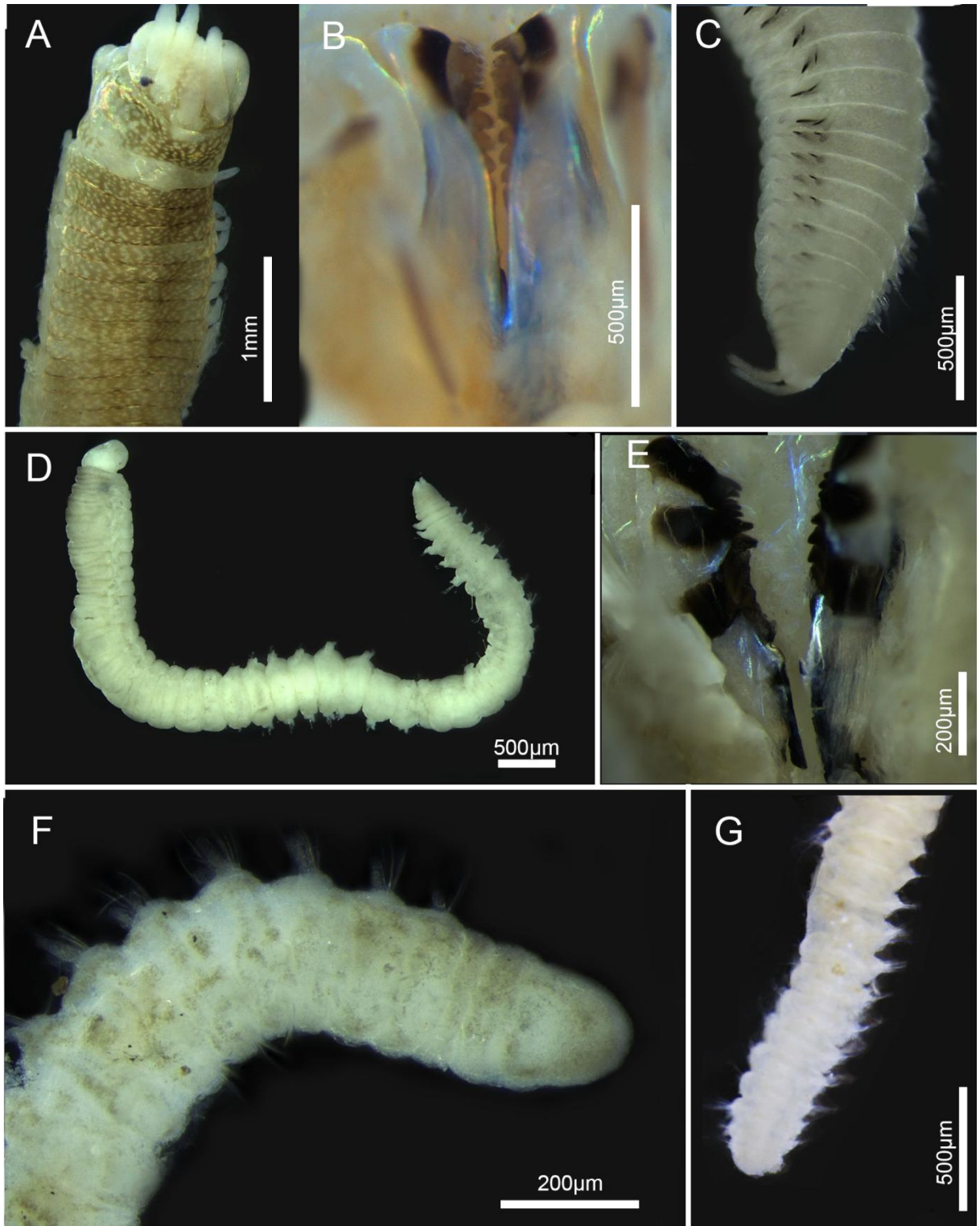


Figura 8. *Eunice gagzoi*. (A) região anterior, vista dorsal; (B) aparato maxilar, vista ventral; (C) pigídio, vista lateral (D). *Lumbrineris perkinsi*. corpo inteiro, vista lateral; (E) aparato maxilar, vista ventral (F). *Proscoloplos cygnochaetus*. região anterior, vista dorso-lateral; (G) pigídio, vista dorsal.

SYLLIDAE Grube, 1850***Opisthosyllis* Langerhans, 1879*****Opisthosyllis brunnea* Langerhans, 1879**

(Figura 9A – B)

Localidade tipo: Ilha de Madeira, Portugal, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 18.vii.2013, 12 m, 57 inds. (NPM-Pol 1022 ®); 20.vii.2013, 8-10 m, um ind., incompleto (NPM-Pol 968 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 969 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 979); dois inds. (NPM-Pol 1020); dois inds. (NPM-Pol 1021).

Caracterização: Prostômio pequeno e redondo, coberto na metade posterior por um capuz nuczal. Palpos maiores que o prostômio; três antenas moniliformes; antena central maior que o prostômio mais os palpos, inserida entre os olhos posteriores. Cirros dorsais presentes em todos os setígeros, inseridos em um espesso cirróforo. Cirros ventrais curtos digitiformes. Parapódios anteriores com cerdas compostas heterogonfas providas de espinhas e artículo curto. Parapódios medianos com cerdas compostas de mango engrossado e às vezes ponta bífida, com artículos curtos. Parapódios posteriores com cerdas compostas semelhantes às da região mediana, entretanto mais engrossadas e artículo claramente unidentado. Uma cerda simples dorsal em cada parapódio da região anterior. Cerdas simples ventrais sigmoides e com espinhas curtas nos parapódios posteriores; acículas com ponta arredondada e oca. Faringe com uma coroa de papilas na embocadura e um dente situado retrasado (Adaptado de San Martín, 2003; Langerhans, 1879).

Distribuição: Oceano Atlântico: Ilha de Madeira, Mediterrâneo (Langerhans, 1879); Espanha (San Martín, 2003); África do Sul (Day, 1967); Brasil (Fukuda, 2010). – Oceano Índico: Austrália (San Martín *et al.*, 2008); Moçambique; África do Sul (Day, 1967).

Comentários: Não foram encontradas diferenças morfológicas entre os exemplares de *Opisthosyllis brunnea* do ASPSP com os espécimes-tipo descritos para Península Ibérica por San Martín (2003).

***Opisthosyllis viridis* Langerhans, 1879**

(Figura 9C – D)

Localidade tipo: Ilha da Madeira, Portugal, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 20.vii.2013, 6 m, um ind., incompleto (NPM-Pol 988 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 989 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 990 ®); um ind., completo (NPM-Pol 1023).

Caracterização: Corpo ventralmente liso e dorsalmente recoberto por numerosas papilas pequenas e redondas. Prostômio oval a retangular com antena central inserida na parte posterior do prostômio e antenas laterais inseridas próximo à margem anterior do prostômio. Peristômio mais curto do que os setígeros anteriores. Cirros dorsais com alternância de comprimento ao longo do corpo; cirros ventrais digitiformes. Parapódios anteriores e medianos com falcígeras com lâminas geralmente sub-bidentadas, com espinha subdistal mais robusta. Lâmina com sutil graduação dorso-ventral e ântero-posterior. Cerdas simples dorsais presentes ligeiramente espinuladas, distalmente bífida. Cerdas simples ventrais presentes apenas nos últimos parapódios, sigmóides, ligeiramente espinuladas subdistalmente e bidentadas, com dente distal maior do que o subdistal. Parapódios anteriores com até três acículas cada, distalmente recurvadas, oblíquas, uma das quais com extremidade ligeiramente inflada. Parapódios posteriores com uma acícula cada, ligeiramente inflada distalmente de forma irregular, pigídio com cirros anais com 15-17 artículos. Faringe larga, estendendo-se por cerca de 10 segmentos. Proventrículo ocupando cerca de 10-11 segmentos, com cerca de 50 fileiras musculares e dente cônico posicionado na parte posterior. (Adaptado de Langerhans, 1879; Fukuda, 2010).

Distribuição: – Oceano Atlântico: Ilha da Madeira (Langerhans, 1879); Brasil (Fukuda, 2010). – Oceano Índico: Austrália (San Martin *et al.* 2008). – Oceano Pacífico: Coréia do Sul e Japão (Lee & Rho, 1994).

Comentários: Os exemplares do ASPSP conferem com a descrição original de Langerhans (1879). Alguns exemplares do ASPSP apresentaram lóbulo nugal, embora pouco desenvolvido. A ausência de lóbulo nugal em *O. viridis*, como descrito por Fukuda (2010), é

um caráter bastante variável. Um exemplar exibiu regeneração da parte anterior (Figura 9D). A regeneração anterior é comumente encontrada em silídeos (Okada, 1929).

Syllis Savigny in Lamarck, 1818

***Syllis alternata* Moore, 1908**

(Figura 9E – F)

Localidade tipo: Alasca, EUA, Oceano Pacífico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 20.vii.2013, 6 m, um ind., incompleto (NPM-Pol 980 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 981 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 983 ®); sete inds. (NPM-Pol 1025); 8-10 m, quatro inds. (NPM-Pol 1026).

Caracterização: Prostômio semicircular a subpentagonal com quatro olhos pequenos em trapézio aberto, podendo apresentar um par de manchas oculares diminutas, palpos grandes e robustos, maiores que o prostômio. Parapódios anteriores com 15-20 cerdas falcíferas bidentadas com dente subdistal muito fino e gradação dorsoventral na longitude, o número de cerdas falcíferas diminui em direção a região posterior. Parapódios posteriores com cerda simples capilar dorsal, fina e longa com dente subdistal pequeno e espinhas curtas, cerdas simples ventrais mais grossas, fortemente bidentadas. Até sete acículas por parapódio na região anterior, na região posterior uma acícula grossa com a ponta reta que sobressai o lóbulo parapodial. Proventrículo através de 11 segmentos, 60 fileiras musculares. (Adaptado de Moore, 1908; San Martín, 2003).

Distribuição: Oceano Pacífico: Alaska (Moore, 1908); EUA, Panamá (San Martín, 1992). – Oceano Atlântico: Cuba (San Martín, 1992); Península Ibérica (San Martín, 2003); Mediterrâneo (Çinar, 1999). Primeiro registro para o Brasil.

Ecologia: *Syllis alternata* é comum em concreções calcárias e corais.

Comentários: Os exemplares do ASPSP compartilham as características dos espécimes tipo descritos por Moore (1908). *Syllis alternata* é muito similar a *Syllis variegata* Grube, 1860,

entretanto esta apresenta coloração em forma de oito horizontal (coloração tipo-variegata) na superfície dorsal. Outra diferença é a cor da acícula nos parapódios posteriores, em *Syllis variegata* é geralmente escura.

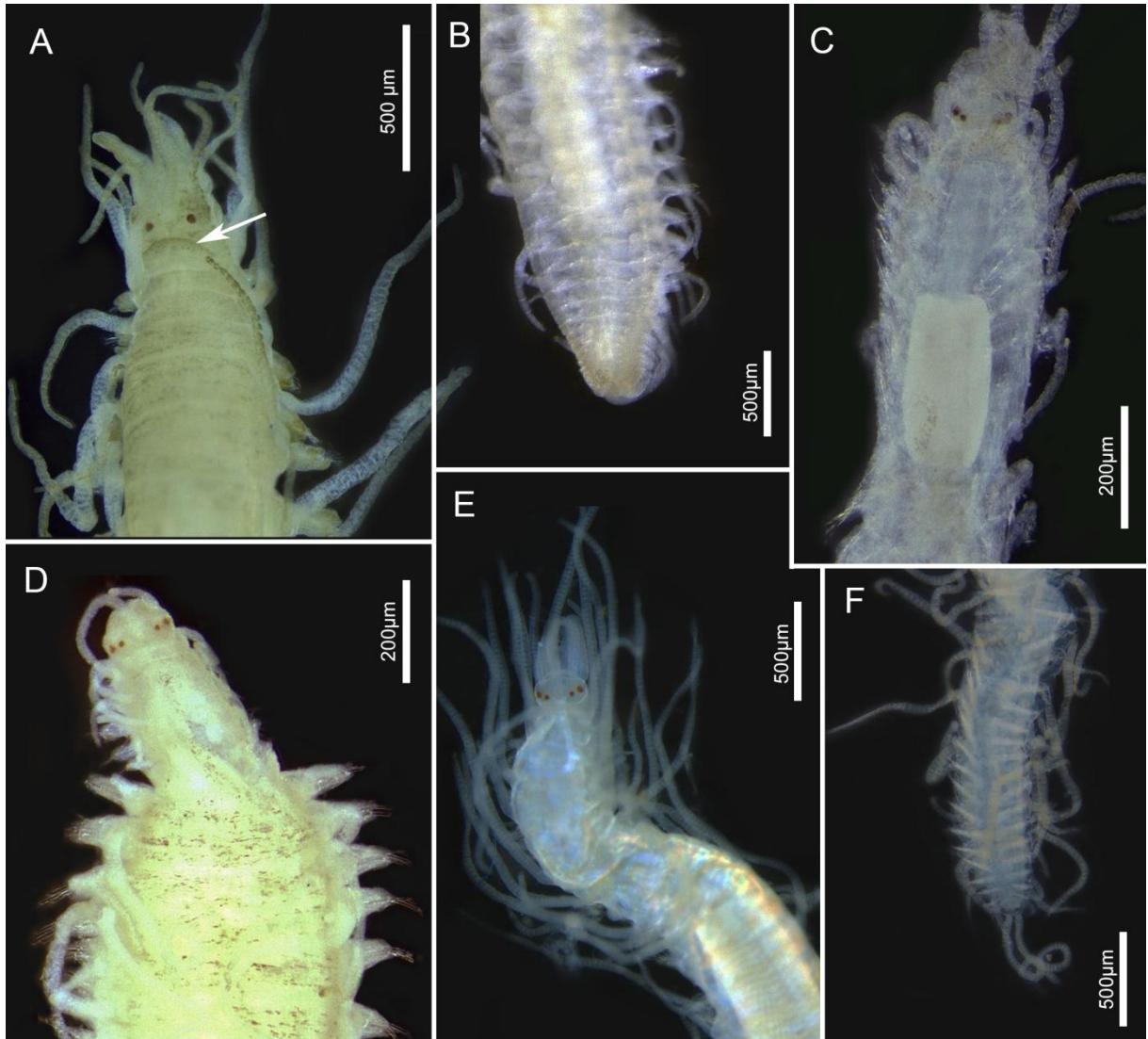


Figura 9. *Opisthosyllis brunnea*: região anterior, vista dorsal, seta indicando o capuz nuchal (A); pigídio, vista ventral (B). *Opisthosyllis viridis*: região anterior, vista dorsal (C); região anterior de indivíduo regenerando parte anterior, vista dorsal (D). *Syllis alternata*: região anterior, vista dorsal (E); pigídio, vista ventral (F).

***Syllis garciai* (Campoy, 1982)**

(Figura 10A – B)

Localidade tipo: Península Ibérica, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro; 20.vii.2013, 8-10 m, um ind., incompleto (NPM-Pol 963 ®); um ind.,

incompleto (NPM-Pol 982 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 986 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 1027); 6 m, 14 inds. (NPM-Pol 1028).

Caracterização: Prostômio subpentagonal e ovalado com quatro olhos e duas manchas ocelares anteriores. Cirros dorsais do primeiro setífero maiores que os seguintes. Cerdas falcíferas com artículos dotados de grandes espinhos na margem, em especial na parte distal, chegam a ultrapassar o nível do dente subdistal. Parapódios anteriores com uma a três cerdas pseudoespiníferas. Uma cerda simples ventral nos parapódios posteriores curvada, bidentada com ambos os dentes de tamanho similar. (Adaptado de San Martín, 2003).

Distribuição: Oceano Atlântico: Península Ibérica (Campoy, 1982; San Martín 2003); Venezuela (San Martín & Bone, 2001); Cabo Verde (Lopez & San Martín, 1994); Brasil (Gomes, 2006). – Oceano Pacífico: Panamá (Capa *et al.*, 2001); México (Orepeza *et al.*, 2012).

Comentários: *Syllis garciai* do presente estudo compartilha as mesmas características da redescritção da espécie por San Martín (2003).

Syllis gracilis Grube, 1840

(Figura 10C – D)

Localidade tipo: Golfo de Naples, Itália, Mar Mediterrâneo, Oceano Atlântico.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 20.vii.2013, 8-10 m, um ind. (NPM-Pol 964 ®); 6 m, um ind. (NPM-Pol 984 ®); um ind. (NPM-Pol 985 ®); um ind. (NPM-Pol 1029); um ind. (NPM-Pol 1030).

Diagnose: Prostômio ovalado, com quatro olhos disposto em trapézio muito aberto. Parapódios anteriores cada um com nove cerdas compostas de articulação heterogonfa e com espinhas curtas e artículos falcíferos claramente bidentados com o dente subdistal mais curto e fino que o distal. A partir dos segmentos proventriculares o número de cerdas se reduz, se fusionam o artículo e a haste das cerdas e estas tendem a se engrossar formando cerdas muito grossas e bifurcadas na extremidade (cerdas ipsilóides). Nos parapódios posteriores, cerdas semelhantes a dos parapódios anteriores aparecem novamente, entretanto, mais curtas e finas,

as cerdas ipsilóides desaparecem. Cerdas simples aparecem nos parapódios posteriores, a dorsal muito fina e curta e a ventral bidentada quase lisa e um pouco mais grossa que a dorsal. Até quatro ou cinco acículas por parapódio na região anterior, decrescendo para uma com ponta redonda, grossa e uma projeção obliquamente inserida, em direção aos parapódios posteriores. Proventrículo com 40 filas musculares, passando por 13 segmentos. (Adaptado de San Martín 2003).

Distribuição: Oceano Atlântico: Venezuela (San Martín & Bone, 2001); Brasil (Fukuda, 2010). – Oceano Pacífico: Panamá (Capa *et al.*, 2001).

Comentários: Não foi encontrada diferença entre *S. gracilis* do ASPSP e a descrição original da espécie feita por Grube (1840), também a redesccrição de San Martín (2003) corrobora para a identificação desta espécie. A espécie é considerada cosmopolita em mares temperados e tropicais (Capa *et al.* 2001).

Syllis variegata Grube, 1860

(Figura 10E – F)

Localidade tipo: Cres, Croácia, Mar Adriático.

Material examinado: BRASIL: OE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., 20.vii.2013, 8-10m, um ind., (NPM-Pol 960 ®); um ind. (NPM-Pol 961 ®); um ind. (NPM-Pol 966 ®); 53 inds. (NPM-Pol 1004); 6 m, 46 inds. (NPM-Pol 1005); 12 m, 18.vii.2013, sete inds. (NPM-Pol 1006).

Caracterização: Corpo fortemente cilíndrico com numerosos segmentos. Coloração em forma de um “8” horizontal (“tipo-variegata”) nos dorso dos segmentos anteriores. Cirros dorsais mais largos da metade do corpo de comprimento similar ao da largura dos segmentos correspondentes. Cerdas compostas de articulação heterogonfa com poucas espinhas curtas subdistais na haste e artículos falcíferos, bidentados, com ambos dentes similares e espinhas da margem curtas e retas. Acículas posteriores geralmente escuras. (Adaptado de Grube, 1860; San Martín, 2003).

Distribuição: Oceano Atlântico: Cuba (San Martín, 1992), EUA, México (Fauchald *et al.*, 2009); Brasil (Morgado & Tanaka, 2001); África do Sul (Day, 1967); Portugal (Langerhans, 1879); França (Fauvel, 1923); Grécia (Grube, 1860). – Oceano Índico: Moçambique (Day, 1967).

Ecologia: Espécie frequentemente encontrada em fundo coralíneos, concreções calcárias de origem animal e vegetal, corais, algas calcárias, endobiontes de esponjas (San Martín, 2003).

Comentários: A descrição original feita por Grube (1860) confere com os espécimes encontrados no ASPSP, exceto por alguns exemplares apresentarem coloração menos aparente e Grube (1860) descreve a coloração bem marcada.

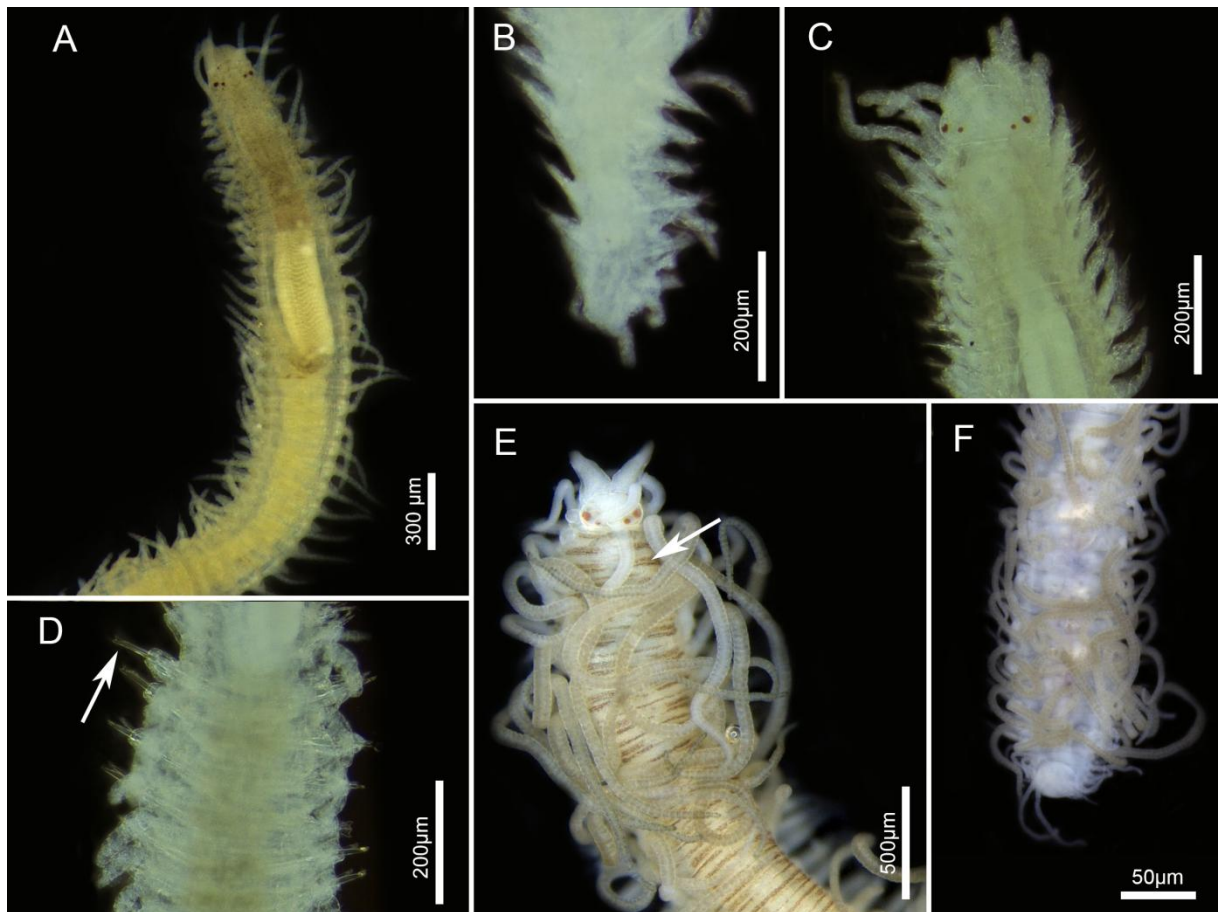


Figura 10. *Syllis garciai*. (A) região anterior, vista dorsal; (B) pigídio, vista dorsal. *Syllis gracilis*. (C) região anterior, vista dorsal; (D) região mediana, vista dorsal, seta indicando o parapódio onde surgem as cerdas ypsilóides. *Syllis variegata*. (E) região anterior, vista lateral, seta indicando faixa de coloração “tipo-variegata”; pigídio, vista dorsal.

***Syllis* sp. nov.**

(Figura 11 – Figure 12)

Localidade-tipo: ASPSP, Oceano Atlântico, Brasil.

Material examinado: BRASIL: PE: ASPSP, 0°55.1'N, 29°20.7'W, Barboza & Mattos col., Rannyele Ribeiro det., holótipo – 20.vii.2013, 8-10 m, um ind., completo (NPM-Pol 1036); parátipos – 20.vii.2013, 8-10 m, um ind. incompleto (NPM-Pol 958 ®); um ind., incompleto (NPM-Pol 970 ®); 65 inds. (NPM-Pol 1032); 6 m, um ind. incompleto (NPM-Pol 959 ®); 14 inds. (NPM-Pol 1031).

Diagnose: Cirros longos, afilados, com inclusões fibrilares de coloração esverdeada com alternância marcada nas regiões anterior e mediana e cirros ventrais digitiformes de comprimento similar ou ligeiramente maior que o do parapódio correspondente. Cerdas falcígeras sub-bidentadas a unidentadas, com dente subdistal quando presente semelhante a uma espinha. Cerdas simples dorsais bidentadas com ápice de aparência truncada e acículas de ponta arredondada e oca.

Descrição: Corpo entre 1,9-5,4 mm de comprimento por 0,17-0,37 mm de largura para 63-85 setígeros. Corpo subcilíndrico com a superfície dorsal côncava e superfície ventral aplanada e segmentação bem marcada. Antenas, cirros dorsais, cirros tentaculares e cirros pigidiais providos de inclusões fibrilares presentes geralmente aos pares, em cada artículo, podendo haver artículos com apenas uma ou nenhuma destas inclusões em alguns. Prostômio subpentagonal de aspecto bilobado com 31-72 µm de comprimento por 81-110 µm de largura. Prostômio provido de dois pares de olhos dispostos em formato de trapézio aberto com olhos anteriores e posteriores de tamanhos similares. Três antenas moniliformes pluriarticuladas presentes sendo a central mais longa que as laterais. Antenas com largura similar ao longo de seu comprimento sendo levemente mais grossas que os cirros dorsais ao longo do corpo. Antena central inserida anteriormente no prostômio entre o primeiro par de olhos, antenas laterais inseridas próximas a borda do prostômio, paralelas ao par de olhos anterior, próximo a margem dos palpos. Antena central com 47-74 artículos e antenas laterais com 29-49 artículos. Um par de palpos robustos de formato triangular, separados ao longo do seu comprimento com uma marca de fusão na base. Prostômio e palpos medindo conjuntamente 81-143 µm de comprimento. Peristômio curto, provido de dois pares de cirros peristomiais, sendo o par dorsal mais longo que o par ventral. Cirros peristomiais com 36-156 artículos nos dorsais e 27-100 artículos nos ventrais. Parapódios de formato retangular com ápice de

aparência bilobada. Cirros dorsais ao longo do corpo moniliformes pluriarticulados, com longos e delgados de largura similar ao longo do seu comprimento, ligeiramente fusiformes. Cirros dorsais com alternância marcada, nos setígeros anteriores e medianos e um pouco menos marcada nos setígeros posteriores. Cirros dorsais com número de artículos variando entre 56 a 95 nos segmentos anteriores, 62-112 nos medianos e 34-44 nos posteriores com exceção dos setígeros em formação. Cirros ventrais longos, de aspecto digitiforme, com comprimento similar ou pouco maior que o comprimento do parapódio correspondente, sendo mais longos na região anterior. Parapódios providos de cerdas falcígeras com marcada gradação dorso-ventral e antero-posterior. Parapódios possuem de 8-12 cerdas falcígeras na região anterior, 6-11 cerdas falcígeras na região mediana, 4-7 cerdas falcígeras na região posterior. Unicamente cerdas falcígeras presentes nos parapódios anteriores, sendo as mais dorsais subbidentadas com dente subdistal menor que o distal e as mais ventrais subbidentadas com dente subdistal se assemelhando a uma espinha. Cerdas falcígeras das regiões mediana e posterior de subbidentadas a unidentadas, sendo as mais dorsais subbidentadas com dente subdistal se assemelhando a uma espinha e as mais dorsais unidentadas. Cerdas falcígeras ao longo do corpo com forte espinulação, com espinhas grossas e longas, de comprimento similar ao do dente distal, podendo as espinhas da base da lâmina sobrepassar o comprimento do dente distal. Haste das cerdas falcígeras com leve espinulação na região da articulação. Cerdas falcígeras com até 151 μm na região dorsal e 98 μm na região ventral nos setígeros anteriores; o comprimento do artículo das cerdas falcígeras variou de 9-42 μm na região dorsal e de 5-37 μm na região ventral. Cerdas falcígeras com até 135 μm na região dorsal e 97 μm na região ventral nos setígeros medianos; artículo das cerdas falcígeras variando de 9-25 μm na região dorsal e de 6-23 μm na região ventral. Cerdas falcígeras com até 91 μm na região dorsal e 44 μm na região ventral nos setígeros posteriores, os artículos das cerdas falcígeras variaram entre 7-15 μm de comprimento na região dorsal e 6 a 12 μm , na região ventral. Uma cerda simples dorsal por parapódio presente à partir do final da região mediana. Cerda simples dorsal de haste reta, levemente espinulada na região distal da haste com espinhas dirigidas para o ápice e com ápice bidentado de aparência truncada. Até três acículas presentes nos parapódios anteriores, de formato similar, com ápice arredondado reto ou levemente dobrada. Apenas uma acícula nos parapódios posteriores, de ápice arredondado de aparência oca com ápice arredondado, as vezes levemente recurvas para o lado. Proventrículo longo, passando por cerca de 6-7 setígeros, com 23-35 faixas musculares. Proventrículo com 125-1080 mm de comprimento para 64-387 mm de largura. Faringe longa, de largura similar ao do proventrículo passando por cerca de 8-9 setígeros.

Faringe provida de um dente cônico, afastado da desembocadura, localizado a um terço do comprimento total da faringe. Pigídio de formato triangular a retangular, provido de um par de cirros pigidiais pluriarticulados e moniliformes de comprimento similar, com número de artículos variando entre 28-52 artículos.

Coloração: Coloração pós-fixação amarelada. Inclusões fibrilares de coloração esverdeada, localizada nos cirros e antenas ao longo do corpo, dando um aspecto de manchas verdes nos artículos.

Habitat: Costão rochoso, entre 6-12 m de profundidade, associado a algas calcárias e esponjas.

Comentários: *Syllis* sp. nov é claramente uma espécie nova por apresentar conjuntamente acícula com extremidade redonda e oca associadas a cerdas sub-bidentadas e unidentadas e cirros longos com inclusões fibrilares em cada artículo. Outras espécies de *Syllis* compartilham com esta espécie nova, acícula com extremidade arredondada e oca, tais como: *Syllis prolifera* Krohn, 1852 que tem distribuição circumtropical e áreas temperadas, *Syllis vivipara* Krohn, 1869, reportada para o Mediterrâneo, Caribe e Oceano Atlântico; *S. prolixa* Ehlers, 1901, da América do Sul; *Syllis busseltonensis* (Hartmann-Schröder, 1982) proveniente da Austrália; *Syllis rubicunda* Aguado *et al.*, 2006, registrada na costa do Japão; *Syllis antoniae* Salcedo-Oropeza, San Martín & Solís-Weiss, 2012, descrita para a costa do Pacífico Mexicano e *Syllis unzima* Simon, San Martín & Robinson, 2014 descrita para a costa sudeste da África do Sul. Exceto por *S. vivipara*, *S. prolixa* e *S. unzima*, todas as outras espécies possuem cerdas bidentadas, as cerdas falcíferas de *Syllis* sp. nov. são sub-bidentadas a unidentadas. A presente espécie descrita se diferencia de *S. vivipara* por apresentar faringe mais longa, bem como cirros e antenas extensos e com maior número de artículos. *S. prolixa* possui cerdas compostas similares e apresenta um padrão de coloração distinta com uma banda mediana transversal avermelhada e duas bandas laterais curtas em cada segmento (Ehlers, 1901; Hartmann-Schröder, 1962). *S. unzima* diferencia-se de *Syllis* sp. nov. principalmente por apresentar um padrão de coloração de duas faixas transversais em cada segmento da parte anterior e proventrículo mais curto que a faringe.

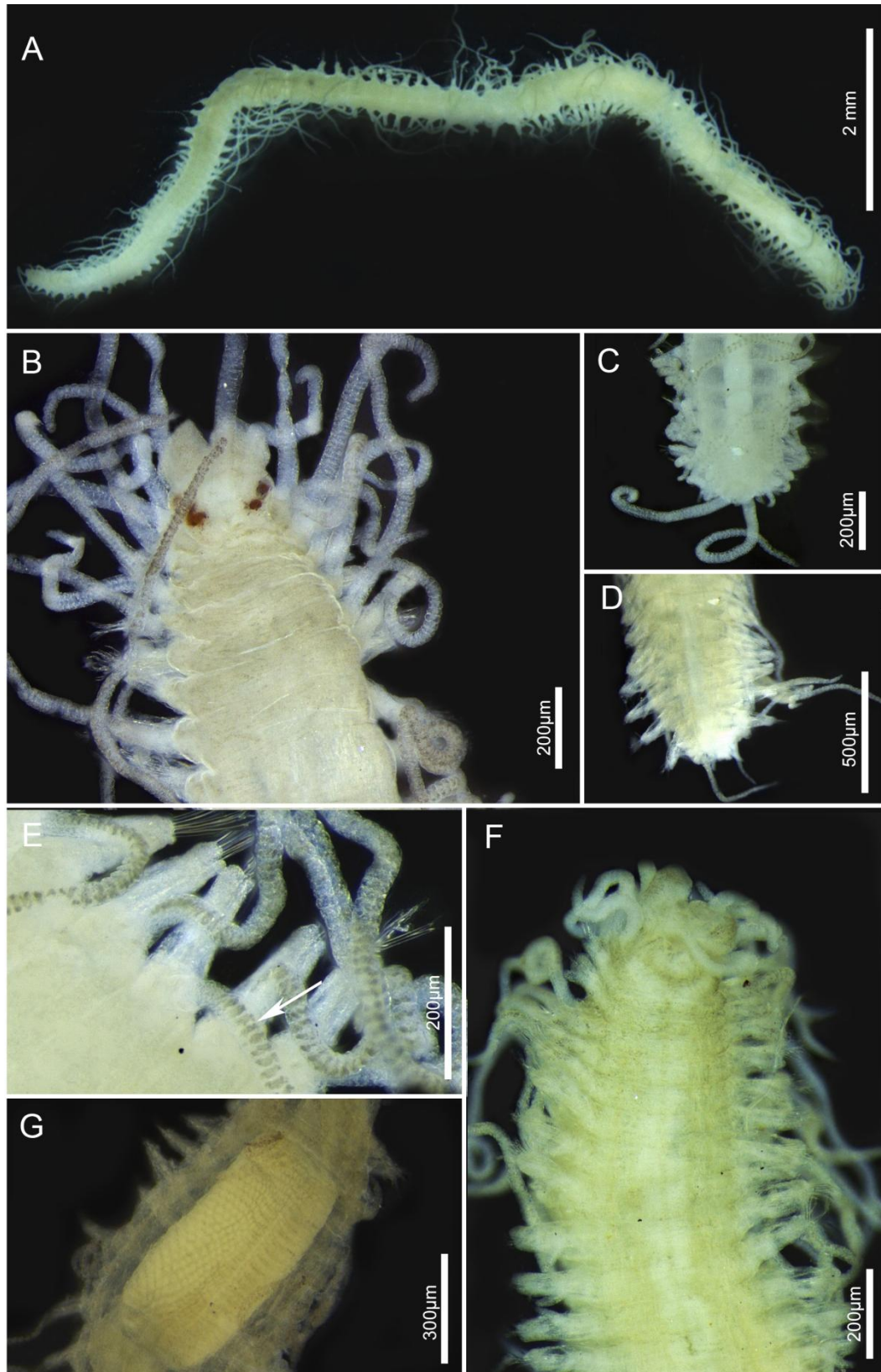


Figura 11. *Syllis* sp1. nov. (A) corpo inteiro, vista dorsal; (B) região anterior, vista dorsal; (C) pigídio, vista dorsal; (D) pigídio, vista ventral; (E) parapódios da região mediana, vista dorsal, seta indicando a coloração dos cirros consequente das intrusões fibrilares nos artículos; (F) região anterior, vista ventral; (G) proventrículo, vista dorsal.

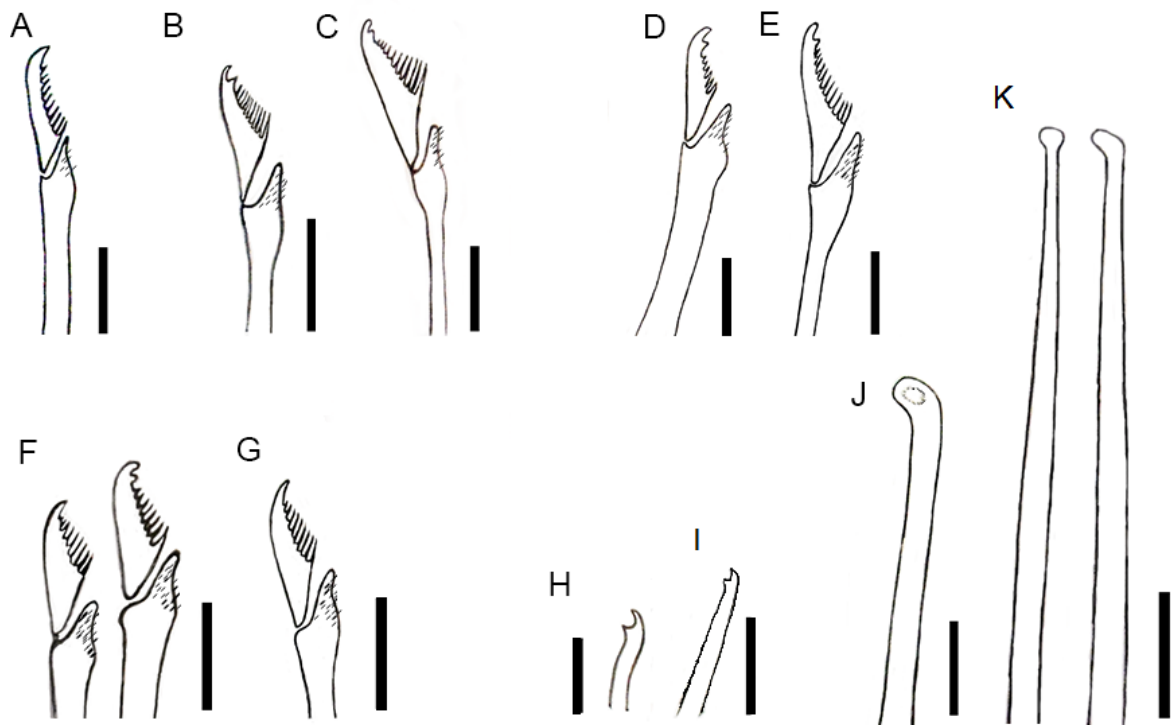


Figure 12. Esquema das cerdas de *Syllis* sp. nov. (A) cerda falcígera dorsal, segundo setígero; (B) cerda falcígera ventral, região anterior, segundo setígero; (C) cerda falcígera ventral, terceiro setígero; (D) cerda falcígera ventral, 22º setígero; (E) cerda falcígera dorsal, 22º setígero; (F) cerdas falcígeras dorsais, antepenúltimo setígero; (G) cerda falcígera ventral, antepenúltimo setígero; (H) cerda simples ventral, antepenúltimo setígero; (I) cerda simples dorsal, quinto setígero anterior ao pigídio; (J) acícula da região posterior; (K) acículas, região anterior. Escala: 10 µm.

ABORDAGEM MOLECULAR

Eficiência da Amplificação

Foram amplificadas 51% das sequências de COI (45 de 87) e 61% das sequências de 16S (53 de 87). No entanto, após seleção das sequências de boa qualidade, foram obtidas 88 sequências originais, sendo 39 para o COI e 49 para o 16S a partir de 30 morfoespécies dos quais sequências foram obtidas (Tabela 2). Todas as sequências de COI foram amplificadas com o conjunto de primers jgLCO/ jgHCO, exceto uma obtida com o conjunto de primers LCO1490/ HCO2198 (*Lumbrineris perkinsi* – 769). O número de pares de bases (bp) no COI variou de 503 a 619 bp e no 16S de 392 a 601 bp.

Espécimes de *H. carunculata* e *T. punctata* não foram alvo de amplificação por já haverem sequências obtidas para exemplares do ASPSP pelo grupo de pesquisa através de projeto desenvolvido pelo LabPoly/ UFRJ. As sequências de *T. punctata* já estavam disponibilizadas no GenBank. Foram adicionadas ao alinhamento, 54 sequências do GenBank, sendo 25 do gene COI e 29 do gene 16S. Uma sequência foi adicionada do BOLD

através do sistema BIN (*Eunice gagzoi*, BOLD:AAY3507). As espécies, número de espécimes e o código de acesso GenBank/ BOLD das sequências encontram-se no Anexo 3.

Após o alinhamento e tradução de todas as sequências de COI, não foram encontrados códons de parada. Foi detectada apenas uma deleção de três nucleótidos, que foi exclusivamente presente em todas os cinco espécimes de Orbiniidae, incluindo aqueles adicionados do GenBank.

Tabela 2 - Amostragem molecular dos poliquetas do ASPSP.

Espécie	N	N-mol	COI	16S
Amphinomidae				
<i>Eurythoe complanata</i>	58	3	3	3
<i>Hermodice carunculata</i>	10	3	3	3
<i>Linopherus</i> cf. <i>Canariensis</i>	17	3	0	1
<i>Linopherus</i> sp.	2	2	1	1
Capitellidae				
Capitellidae sp.	1	1	0	1
<i>Dasybranchus</i> sp.	1	1	0	1
Chaetopteridae				
<i>Chaetopterus capensis</i>	272	3	3	0
<i>Phyllochaetopterus gracilis</i>	89	3	2	0
Cirratulidae				
<i>Timarete punctata</i>	137	3	3	3
Dorvilleidae				
<i>Dorvillea</i> sp.	28	3	3	4
Eunicidae				
<i>Lysidice</i> sp.	17	3	1	4
<i>Eunice gagzoi</i>	5	3	2	1
<i>Palola</i> sp.	3	3	3	3
Lumbrineridae				
<i>Lumbrineris perkinsi</i>	3	3	2	3
Nereididae				
<i>Ceratocephale</i> sp.	2	2	2	2
<i>Nereis</i> sp.	1	1	1	1
Orbiniidae				
<i>Proscoloplos cygnochaetus</i>	9	3	3	3
Polynoidae				
<i>Harmothoe</i> sp.	2	2	2	1
Sabellidae				
<i>Hypsicomus</i> sp.*	1	1	0	0
Syllidae				
<i>Exogone</i> sp1.	6	3	0	1
<i>Exogone</i> sp2.*	1	1	0	0
<i>Opisthodonta</i> sp.	1	1	1	1
<i>Opisthosyllis brunnea</i>	64	3	1	0
<i>Opisthosyllis viridis</i>	3	3	0	1
<i>Prosphaerosyllis</i> sp.	1	1	0	1
<i>Salvatoria</i> sp.	5	3	0	3
<i>Syllis alternata</i>	13	3	3	2
<i>Syllis garciai</i>	18	3	0	1
<i>Syllis gracilis</i> *	5	3	0	0

<i>Syllis</i> sp. nov	83	3	1	3
<i>Syllis</i> sp1	12	3	0	1
<i>Syllis</i> sp2	25	3	0	2
<i>Syllis</i> spp.*	3	3	0	0
<i>Syllis variegata</i>	109	3	3	2
Terebellidae				
<i>Polycirrus</i> sp.*	2	2	0	0
TOTAL	1.012	87	43	53

*Táxons cujas sequências não foram obtidas.

N= número de espécimes; N-mol = número de espécimes para análises moleculares, COI = número de sequências obtidas para o COI, 16S = número de sequências obtidas para o 16S, Total-Mol = total de sequências obtidas para as análises moleculares.

Análise do COI

A média das distâncias interespecíficas relativas aos poliquetas do ASPSP em relação ao COI foi de 38% (taxa de 0,0%–60%). Os valores globais de distâncias intra- e interespecíficas encontram-se na Tabela 3. A média das distâncias intraespecíficas foi de 1,2% (taxa de 0,0–14,7%), enquanto a distância média congênérica foi de 11,7% (taxa de 0,0–28,4%) e dentro das famílias foi de 15,8% (taxa de 0,5–28,4%). As distâncias intraespecíficas de poliquetas do ASPSP analisadas com o COI foram, em geral muito baixas, com média menor que a encontrada para o poliqueta, que é de $3,92\% \pm 5,67$, segundo Kvist (2014).

Tabela 3 - Distâncias intra- e interespecíficas de espécies, gêneros e famílias analisadas neste estudo.

	Gene	Distância média (%)	Distância mínima (%)	Distância máxima (%)
Entre as espécies	COI	38,0	0	60,0
	16S	46,0	0	82,0
Dentro das espécies	COI	1,2	0	14,7
	16S	24,4	0	57,4
Dentro dos gêneros	COI	11,7	0	28,4
	16S	17,4	0	49,5
Dentro das famílias	COI	15,8	0,5	28,4
	16S	18,7	0	41,5

A árvore do agrupamento NJ produzido usando 65 sequências de COI a partir de 20 morfoespécies é apresentado na Figura 13. Seis morfoespécies são representadas por somente uma sequência cada e as morfoespécies remanescentes (14) foram agrupadas em clados monofiléticos com baixas divergências, exceto pelas famílias Chaetopteridae e Syllidae.

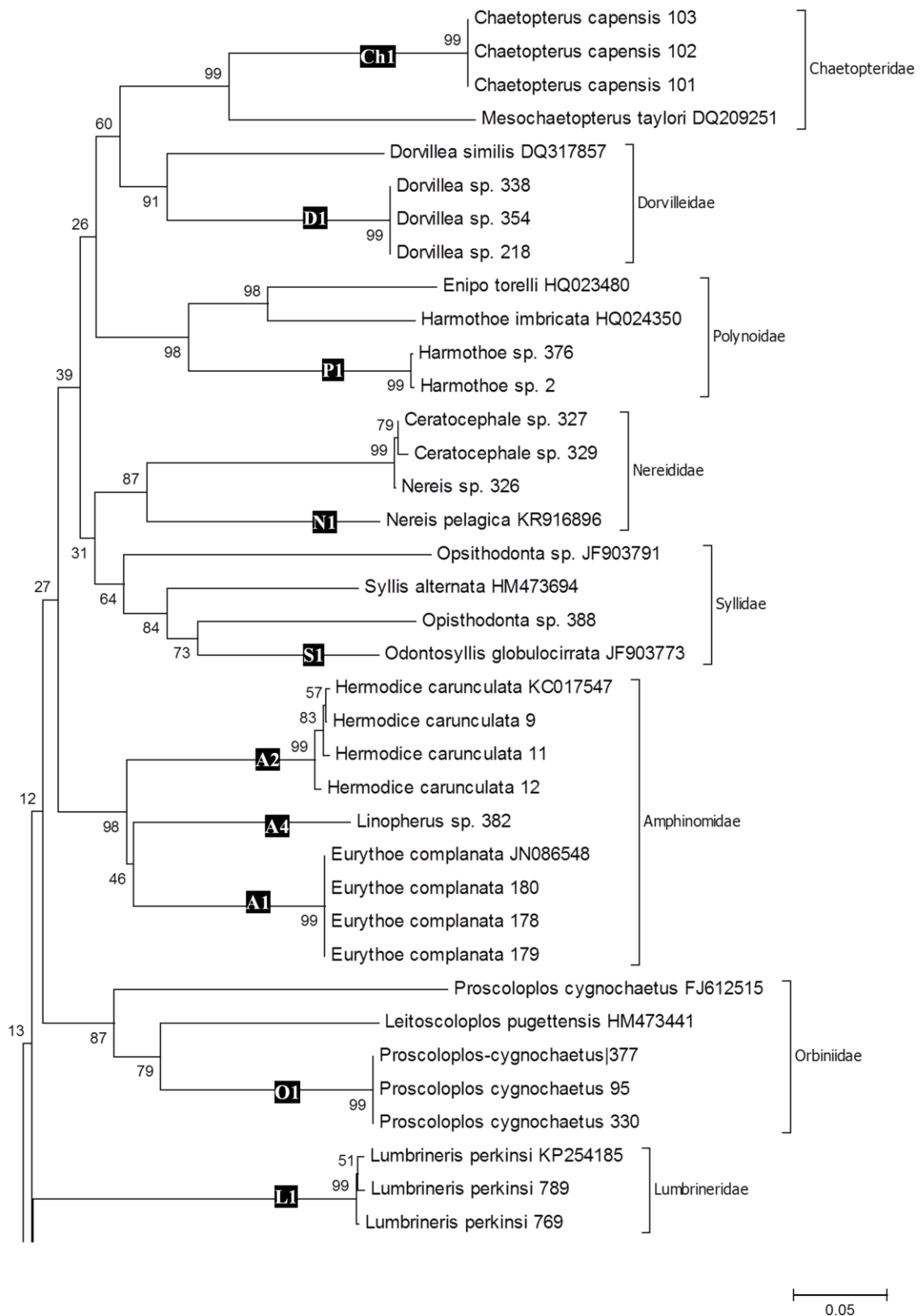


Figura 13. Árvore filogenética NJ baseada em sequências de COI de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank e BIN/BOLD. Os números entre os nós interrasmiais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os colchetes indicam as famílias de poliquetas.

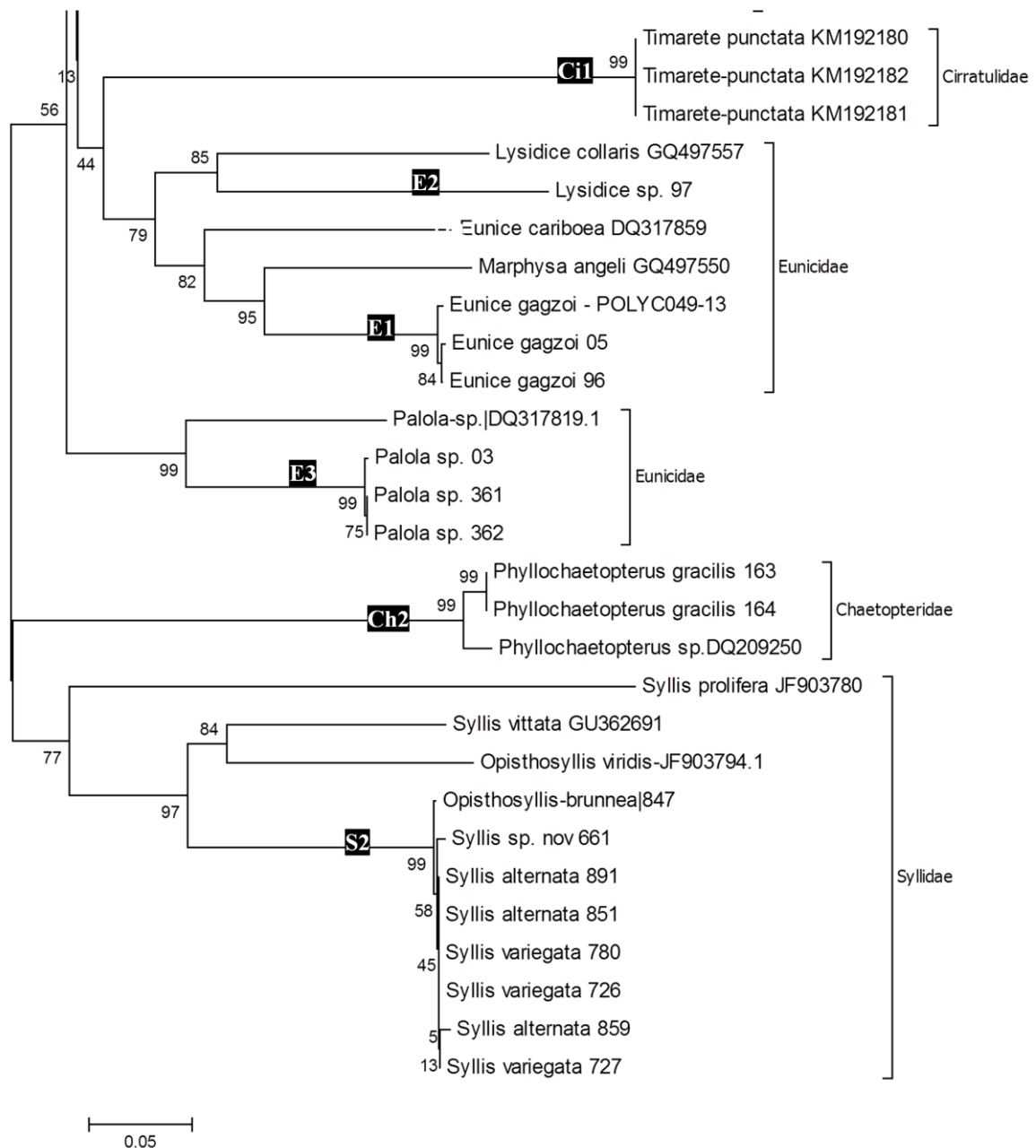


Figura 14. Continuação da árvore filogenética NJ baseada em sequências de COI de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank e BIN/BOLD. Os números entre os nós interramais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os colchetes laterais indicam as famílias de poliquetas.

As duas espécies de Chaetopteridae (*Chaetopterus capensis* e *Phyllochaetopterus gracilis*) não agruparam no mesmo clado (Figura 13-14), a distância mínima entre esses dois gêneros foi de 44,7%. No entanto, *Chaetopterus* e *Mesochaetopterus* foram agrupados a Dorvilleidae, com distância mínima de 30%. Estudos filogenéticos da família comprovam que *Chaetopterus* é mais próximo de *Mesochaetopterus* e apresenta maiores divergências em relação à *Phyllochaetopterus*, tanto referentes ao gene COI quanto a 16S e 28S (Osborn *et al.*, 2007).

Na filogenia mais recente (Weigert *et al.*, 2014) de Annelida, Chaetopteridae é um grupo basal na evolução de Annelida e a família não está incluída nas subclasses Errantia ou Sedentaria (Struck *et al.*, 2011; Weigert *et al.*, 2014). Em geral, as relações filogenéticas de Chaetopteridae ainda não foram bem elucidadas, mas o monofiletismo de Chaetopteridae nunca foi questionado devido às particularidades morfológicas dessa família, como o corpo dividido em três regiões (Osborn *et al.*, 2007)

No presente estudo, Syllidae também apresentou parafilia (Figuras 13-14), com dois diferentes clados, um no qual *Opisthodontia* sp. (juntamente com *Syllis alternata* e *Odontosyllis globulocirrata* Hartmann-Schröder, 1981 (Hartmann-Schröder, 1981), é grupo-irmão de Nereididae, e o outro clado com as morfoespécies *Opisthosyllis brunnea*, *Syllis alternata*, *Syllis* sp. n. e *Syllis variegata*, como grupo-irmão de *Phyllochaetopterus gracilis*. De fato, as distâncias entre espécies de Eusyllinae, ex. do gênero *Opisthodontia*, e Syllinae são maiores quando comparadas a Exogoninae.

Syllidae é considerado um táxon monofilético, definido pela presença do proventrículo (Aguado *et al.*, 2012). Eusyllinae é uma subfamília artificial que pode ser considerada parafilética (Aguado, 2007) ou polifilética (Nygren, 1999; Aguado *et al.*, 2012). Provavelmente por essa razão, Syllidae foi agrupada em parafilia, de acordo com os dados do presente trabalho.

Estudos com dados moleculares, principalmente com o marcador COI, frequentemente têm apontado possíveis espécies crípticas que possuem múltiplas linhagens (*e.g.* Vivien *et al.* 2015) ou MOTUS (*e.g.* Carr *et al.*, 2011). Analisando sequências de COI de ofiuróides do ASPSP, Barboza *et al.* (2015) concluíram que a espécie *Ophiactis savignyi* (Müller & Troschel, 1842) apresenta múltiplas linhagens crípticas no ASPSP, quando compararam com espécimes de outras localidades. Os haplótipos de *O. savignyi* do ASPSP apresentaram distância mínima de 0,0% em relação a espécimes do Atlântico Oeste, contradizendo o suposto endemismo de espécies no referido arquipélago (Barboza *et al.*, 2015).

Não foram observadas morfoespécies com altas divergências intraespecíficas (>3%). Pelo contrário, as morfoespécies de *Syllis* e *Opisthosyllis* são representadas em uma mesma MOTU (S2), divergência de <1%, com alto suporte *bootstrap* (Tabela 4 e Figura 14). O mesmo ocorreu para as duas morfoespécies de Nereididae (*Ceratocephale* sp. e *Nereis* sp.) que foram agrupadas na MOTU N1 (Tabela 4). Tais resultados sugerem que a qualidade dessas sequências obtidas é duvidosa.

Tabela 4 - MOTUs dos poliquetas do ASPSP.

Táxons	Nº MOTUs	MOTU	Variabilidade K2P (%)	Nº MOTUs	MOTU	Variabilidade K2P (%)
Amphinomidae						
<i>Eurythoe complanata</i>	1	A1	0,0	1	A1	0,0 – 0,5
<i>Hermodice carunculata</i>	1	A2	0,2 – 1,04	1	A2	0,0
<i>Linopherus cf. canariensis</i>	Nc	Nc	Nc	1	A3	1,0
<i>Linopherus sp.</i>	1	A4	Nc	1	A3	1,0
Capitellidae						
Capitellidae sp.	Nc	Nc	Nc	1	Ca1	Nc
<i>Dasybranchus sp.</i>	Nc	Nc	Nc	1	Ca2	Nc
Chaetopteridae						
<i>Chaetopterus capensis</i>	1	Ch1	0,0	Nc	Nc	Nc
<i>Phyllochaetopterus gracilis</i>	1	Ch2	0,0	Nc	Nc	Nc
Cirratulidae						
<i>Timarete punctata</i>	1	Ci1	0,0	1	Ci1	0,0
Dorvilleidae						
<i>Dorvillea similis</i>	1	D1	0,0	1	D1	0,0
Eunicidae						
<i>Eunice gazzoi</i>	1	E1	0,02 - 0,06	1	E1	0,0 – 0,5
<i>Lysidice sp.</i>	1	E1	Nc	2	E2 e E4	0,0 – 25,9
<i>Palola sp.</i>	1	E3	0,0 – 0,21	1	E3	0,0
Lumbrineridae						
<i>Lumbrineris perkinsi</i>	1	L1	0 - 0,32	1	L1	0,0
Nereididae						
<i>Ceratocephale sp.</i>	1	N1	0,21 – 0,41	1	N1	0,0
<i>Nereis sp.</i>	1	N1	Nc	1	N1	Nc
Orbiniidae						
<i>Proscoloplos cygnochaetus</i>	1	O1	0,0 - 29,6	1	O1	0,0
Polynoidae						
<i>Harmothoe sp.</i>	1	P1	0,0	Nc	Nc	Nc
Syllidae						
<i>Exogone sp1.</i>	Nc	Nc	Nc	1	S3	Nc
<i>Opisthodonta sp.</i>	1	S1	Nc	1	S1	Nc
<i>Opisthosyllis brunnea</i>	1	S2	Nc	Nc	Nc	Nc
<i>Opisthosyllis viridis</i>	Nc	Nc	Nc	1	D1	Nc
<i>Prosphaerosyllis sp.</i>	Nc	Nc	Nc	1	S7	Nc
<i>Salvatoria sp.</i>	Nc	Nc	Nc	3	S4, S5 e S6	42,3 – 56
<i>Syllis alternata</i>	2	S2	0,0 - 37,3	2	S2	0,0 – 31,6
<i>Syllis garciai</i>	Nc	Nc	Nc	1	S2	Nc
<i>Syllis sp. nov</i>	1	S2	Nc	2	S2 e S8	21,4
<i>Syllis sp1</i>	Nc	S2	Nc	1	S9	Nc
<i>Syllis sp2</i>	Nc	S2	Nc	2	S10	31,6
<i>Syllis variegata</i>	2	S2	0,0	1	S2	0,0 – 31,0

Nc = não calculado, para o caso das espécies que não continham ou continham apenas uma sequência.

As sequências dos espécimes de *Eurythoe complanata* do ASPSP formaram MOTU com a disponível no GenBank (Figura 13). Segundo Barroso *et al.* (2010), *Eurythoe complanata* é um complexo formado por três espécies crípticas (duas do Oceano Atlântico e uma do Pacífico), com distâncias K2P para o COI de até 22%. Nas ilhas oceânicas do Brasil, existem duas dessas espécies crípticas de *Eurythoe complanata* vivendo em simpatria, inclusive no ASPSP (Barroso *et al.*, 2010).

As sequências de *Timarete punctata*, foram congruentes agrupando-se na mesma MOTU (Figura 14) e foram estudadas no ASPSP por Magalhães *et al.* (2014). Com base em dados morfológicos, *Timarete punctata* é um complexo de espécies de pelo menos duas espécies, apesar de não apresentarem divergências genéticas o suficiente (distância K2P é igual 0,0%, com base em dados de COI). As características da descrição original são insuficientes para distinguir os espécimes, o que incorre na identificação de muitos exemplares como *Timarete punctata*. No entanto, características morfológicas nos filamentos branquiais e padrão de coloração variam entre os espécimes (Çinar, 2007; Magalhães *et al.* 2014).

As sequências de *Hermodice carunculata* também foram congruentes, comparando com as sequências do GenBank (Figura 13). Segundo Ahrens *et al.* (2013), *Hermodice carunculata* apresenta populações coesas com divergência genética baixa (incluindo a de COI). Embora haja uma significativa separação entre as populações do Atlântico Ocidental e Oriental, as divergências são mínimas, portanto as populações distribuídas pelo mundo se mantêm coesas, diferenças morfológicas são provavelmente resultado das condições ambientais (Ahrens *et al.*, 2013).

Em contraste, as sequências de *Proscloporos cygnochaetus* não foram agrupadas em uma mesma MOTU, a distância K2P máxima entre a sequência do GenBank e as dos espécimes do ASPSP foi de 29,6%. *Proscloporos cygnochaetus* é encontrado em águas tropicais (África) e temperadas, Europa e América do Sul e dados morfológicos e moleculares (marcador genético ITS) sugerem que é uma espécie cosmopolita, visto que as divergências calculadas (K2P) não excederam os valores dentro das populações Meyer *et al.* (2008). Morfológicamente os espécimes encontrados no ASPSP são similares aos da descrição original, apesar disso, as sequências dos espécimes do presente estudo não formaram MOTU (distância K2P >3%) com a única sequência de COI disponível da espécie, registrada no GenBank por (Bleidorn *et al.*, 2009).

Sistema BIN

A identificação das sequências pelo sistema do BOLD reconheceu sete espécies das 20 morfoespécies cujos *barcodes* de COI foram gerados neste estudo. Sendo assim, cerca de 38% das sequências originais produzidas neste trabalho puderam ser comparadas com dados do BOLD e foram agrupadas em BINs (Tabela 6).

Tabela 5 - Espécies de poliquetas do ASPSP reconhecidas pelo sistema de identificação do BOLD com o BIN em que foram agrupadas.

Espécimes	Espécie	ID morfológico (<i>a priori</i>)	BIN
178, 179 e 180	<i>Eurythoe complanata</i>	<i>Eurythoe complanata</i>	<i>Eurythoe complanata</i> BOLD:AAB3312
9, 11 e 12	<i>Hermodice carunculata</i>	<i>Hermodice carunculata</i>	<i>Hermodice carunculata</i> BOLD:AAB3315
5 e 96	<i>Eunice gagzoi</i>	<i>Eunice</i> sp., <i>Nicidion cariboea</i>	<i>Eunice gagzoi</i> BOLD:AAJ0069
769 e 789	<i>Lumbrineris perkinsi</i>	<i>Lumbrineris perkinsi</i>	<i>Lumbrineris perkinsi</i> BOLD:AAG9594
163 e 164	<i>Phyllochaetopterus gracilis</i>	<i>Phyllochaetopterus gracilis</i>	<i>Phyllochaetopterus</i> sp. BOLD:AAY1621
101, 102 e 103	<i>Chaetopterus capensis</i>	<i>Chaetopterus capensis</i>	<i>Chaetopterus</i> sp. BOLD:AAD4020
80, 81 e 82	<i>Timarete punctata</i>	<i>Timarete punctata</i>	<i>Timarete punctata</i> BOLD:ACN6293

Houve apenas uma discordância em relação aos espécimes 5 e 96 que morfológicamente foram identificados como *Eunice* sp., no primeiro momento, após uma segunda revisão morfológica foi identificado como *Eunice cariboea*, cujo nome aceite atualmente é *Nicidion cariboea* (Zanol *et al.*, 2014). Quando comparada com dados do BOLD, a espécie foi agrupada no BIN correspondente a *Eunice gagzoi*. Após uma terceira revisão morfológica ficou confirmada como esta espécie, uma vez que possui as cerdas pectinadas e ganchos semelhantes aos descritos para *Eunice gagzoi*.

No BOLD, as espécies de Chaetopteridae do presente estudo foram agrupadas em BINs morfotipados em nível de gênero: *Chaetopterus* sp. (local de origem do espécime referente a sequência: Polinésia Francesa) indexados no BOLD por (Meyer, 2015) e *Phyllochaetopterus* sp2., (Sydney, Austrália) indexados no BOLD por Osborn *et al.* (2007).

Provavelmente esses espécimes registrados no BOLD se referem às espécies identificadas no presente estudo como *Chaetopterus capensis* e *Phyllochaetopterus gracilis*, respectivamente. As espécies do presente estudo, apresentam distribuição restrita ao Oceano Atlântico, costa da África (Day, 1967), até o Mediterrâneo, no caso de *Phyllochaetopterus gracilis* (Grube, 1863). Entretanto, as espécies indexadas no BOLD são provenientes do Oceano Pacífico. Somando aos registros das espécies do Oceano Atlântico, é provável que

estas sejam espécies cosmopolitas. Para elucidar a distribuição dessas espécies, mais estudos relacionados a estas espécies são necessários, no âmbito morfológico e molecular, conjuntamente com dados moleculares das localidades-tipo dessas espécies (África do Sul, Crivizza – Mar Adriático).

Análise do 16S

Em relação às análises do gene 16S dos poliquetas do ASPSP, a média das distâncias interespecíficas foi de 46% (taxa de 0,0%–82,0%). A média das distâncias intraespecíficas foi de 24,4% (taxa de 0,0–57,4%), enquanto a distância média congênica foi de 17,4% (taxa 0,0–49,5%) e dentro das famílias foi de 18,7% (taxa de 0,0–41,5%). Os valores globais de distâncias intra- e interespecíficas encontram-se na Tabela 3. A média intraespecífica superou a média encontrada para o COI.

A árvore do agrupamento NJ produzido usando 77 sequências de 16S a partir de 26 morfoespécies é apresentado na Figura 15. Dez morfoespécies são representadas por somente uma sequência cada e as morfoespécies remanescentes (16, com duas ou três sequências cada) foram agrupadas em clados monofiléticos e congruentes com a filogenia atualmente aceita, exceto para Syllidae. *Opistosyllis viridis*, por exemplo, foi agrupada em um quadro monofilético junto a *Dorvillea* sp., (Dorvilleidae), com distância máxima de 0,0%. Quatro espécies de Syllidae formaram o mesmo MOTU (*Syllis alternata*, *Syllis garciai*, *Syllis* sp. nov. e *Syllis variegata*), com divergência <1%. O mesmo ocorreu com as espécies de Nereididae, *Ceratocephale* sp. e *Nereis* sp., representadas pela mesma MOTU (N1). Em ambos os casos com alto suporte *bootstrap*. Esses resultados foram similares aos do COI e podem também ser referentes à qualidade duvidosa das sequências obtidas.

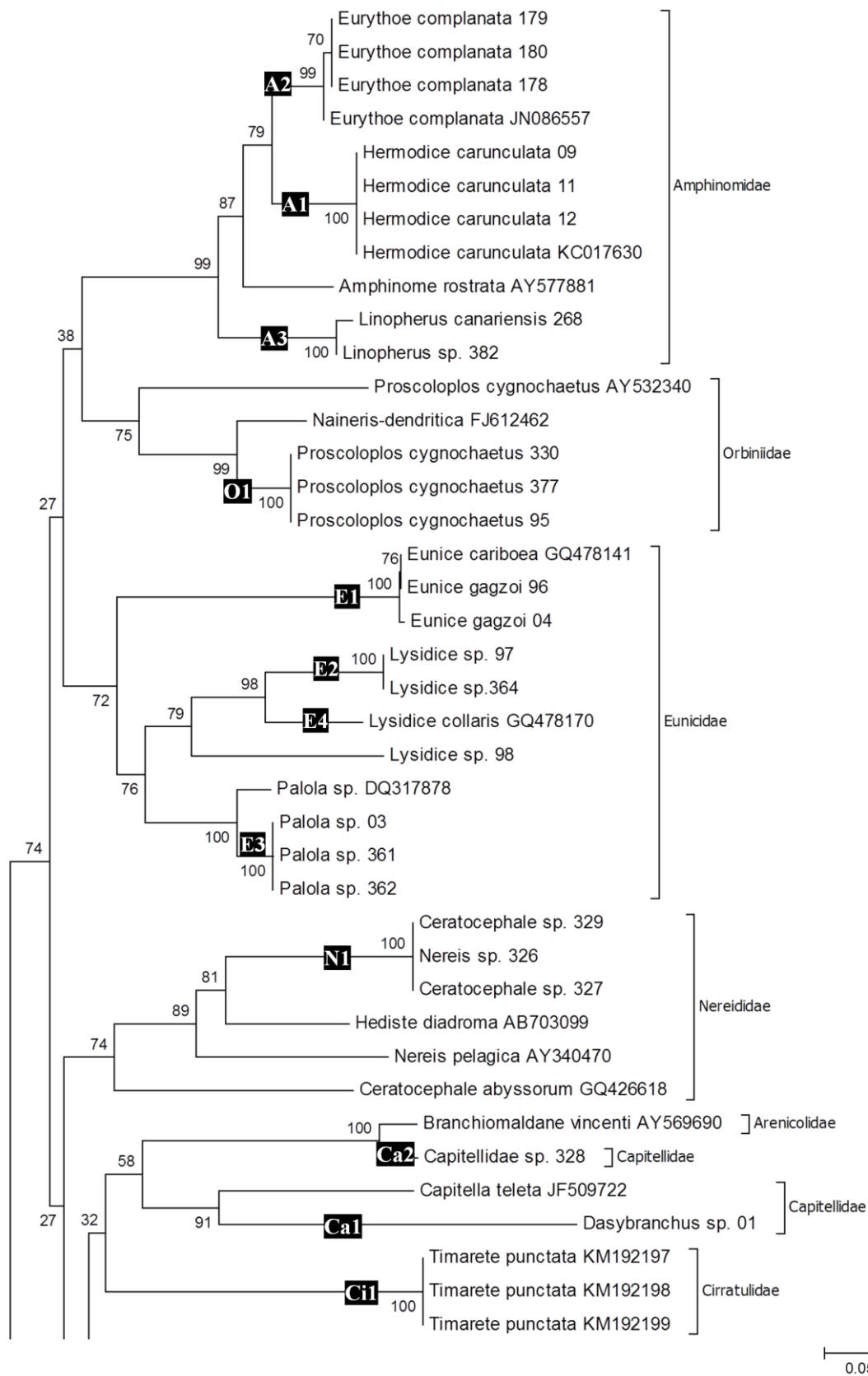


Figura 15. Árvore filogenética NJ baseada em sequências de 16S de poliquetas do ASPSP em conjunto com sequências disponíveis no GenBank. Os números entre os nós interrasmiais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os retângulos colchetes laterais indicam as famílias de poliquetas.

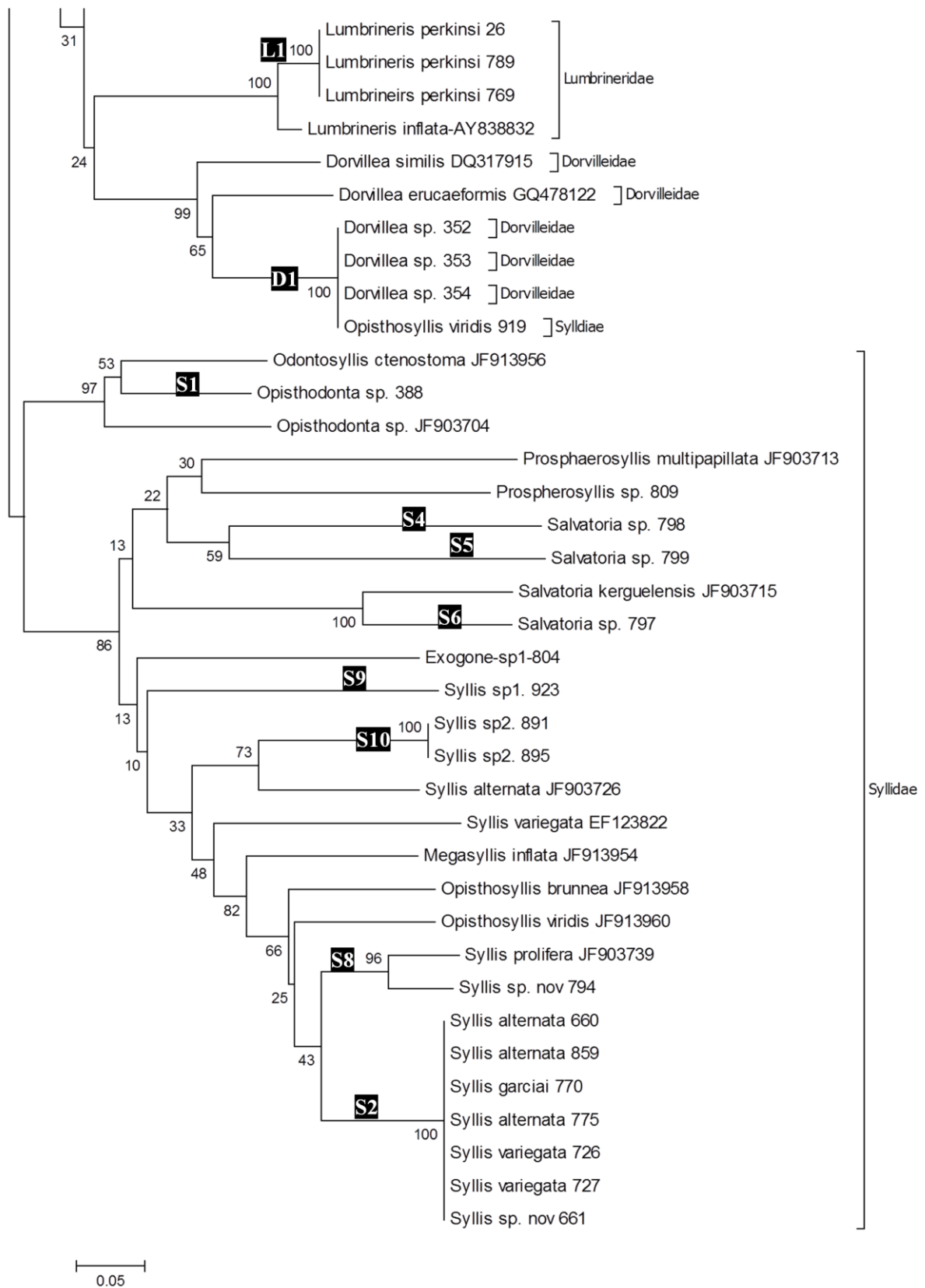


Figura 16. Continuação da árvore filogenética NJ baseada em seqüências de 16S de poliquetas do ASPSP em conjunto com seqüências disponíveis no GenBank. Os números entre os nós interrasmiais indicam o valor *bootstrap*. O modelo utilizado foi K2P com 5000 replicações. Os colchetes laterais indicam as famílias de poliquetas.

Algumas espécies apresentaram altas divergências intraespecíficas (>3%), diferenciando-se em mais de uma MOTU. Esse foi o caso de *Salvatoria* sp. que foi representada por três MOTUs, *Lysidice* sp. e *Syllis* sp. nov. com duas MOTUs cada. Quanto as outras espécies não foram obtidos dados suficientes de COI para comparação. Os dados de 16S sugerem que as morfoespécies *Lysidice* sp. e *Salvatoria* sp. sejam espécies crípticas, entretanto mais estudos morfológicos e filogenéticos são necessários para dar maior robustez a esta conclusão.

Quanto a *Syllis* sp. nov., o espécime 794 formou um clado com *Syllis prolifera* (distância K2P de 10,2%) o que corrobora com a filogenia de Syllinae (Aguado *et al.* 2012), uma vez que a espécie nova descrita nesse trabalho pertence ao grupo de *Syllis prolifera* e *Syllis vivipara* que compartilham morfológicamente acúculas arredondadas e ocas. Em contradição, o espécime 661 corresponde a uma sequência incongruente, apesar de apresentar eletroferograma de boa qualidade.

Barboza *et al.* (2015) conseguiu identificar nos ofiuróides do ASPSP, duas linhagens de *Ophiactis lymani* Ljungman, 1872 com auxílio do 16S, sendo que as divergências foram de 8,5%. Linhagens múltiplas da espécie críptica *Eurythoe complanata* também são encontrados no ASPSP quando se refere ao 16S, assim como discutido para o COI através do estudo de Barroso *et al.* (2010). Quanto ao complexo *Timarete punctata*, Magalhães *et al.* (2014) observaram baixa variabilidade com 16S (0,0-0,2%), corroborando que os espécimes são geneticamente coesos. O cosmopolitismo em *Hermodice carunculata* foi também suportado pelo gene 16S por Ahrens *et al.* (2013).

Assim como no COI, as sequências dos espécimes de *Proscolopos cygnochaetus* do ASPSP não agruparam com a sequência de 16S disponível no GenBank por Bleidorn *et al.* (2009) (divergência K2P igual a 25,6%). Inclusive a distância K2P com *Naineris dendritica* foi menor (7%).

Diversidade Morfológica vs. Molecular

Uma síntese do presente trabalho das MOTUs a partir dos marcadores COI e 16S pode ser observada na Tabela 6. A partir da comparação entre a diversidade morfológica e a molecular do COI observa-se 16 MOTUs de um total de 20 morfoespécies. Enquanto que o marcador 16S apresentou 24 MOTUs de um total de 26 morfoespécies.

Tabela 6 - Comparação entre a diversidade morfológica e molecular considerando os dois marcadores genéticos, COI e 16S.

Famílias	Gene	Espécies morfológicamente identificadas	MOTUs
Amphinomidae	COI	3	3
	16S	4	3
Capitellidae	COI	Nc	Nc
	16S	2	2
Chaetopteridae	COI	2	2
	16S	Nc	Nc
Cirratulidae	COI	1	1
	16S	1	1
Dorvilleidae	COI	1	1
	16S	1	1
Eunicidae	COI	3	3
	16S	3	4
Lumbrineridae	COI	1	1
	16S	1	1
Nereididae	COI	2	1
	16S	2	1
Orbiniidae	COI	1	1
	16S	1	1
Polynoidae	COI	1	1
	16S	Nc	Nc
Syllidae	COI	5	2
	16S	10	10

Nc = não calculado, para o caso das espécies que não continham ou continham apenas uma sequência.

A diferença de número de MOTUs encontrada para o gene COI foi devido a Nereididae e Syllidae. Em Nereididae as duas morfoespécies corresponderam a mesma MOTU. Syllidae apresentou somente duas MOTUs de um total de cinco morfoespécies, uma na qual se inclui *Opisthodonta* sp. e outra com *Opisthosyllis brunnea*, *Syllis alternata*, *Syllis* sp. nov. e *Syllis variegata*.

No que se refere ao 16S, foram identificadas quatro MOTUs para Eunicidae, que apresentou três morfoespécies, devido ao fato de *Lysidice* sp. corresponder a duas espécies. Para Nereididae ocorreu o inverso, as duas morfoespécies, *Ceratocephale* sp. e *Nereis* sp., pertenceram a mesma MOTU, sugerindo que são da mesma espécie.

Apesar de apresentar número de MOTUs igual ao número de morfoespécies com o marcador 16S, as morfoespécies de Syllidae foram agrupadas em parafilia. *Opisthosyllis*

viridis foi agrupado à *Dorvillea* sp. O agrupamento de *Opisthosyllis viridis* e *Dorvillea*, refletiu na maior distância intraespecífica (57,1%) encontrada entre para sequência de *Opisthosyllis viridis* do ASPSP e aquela disponibilizada nos bancos de dados. Os espécimes de *Salvatoria* sp. representaram três diferentes MOTUs e os de *Syllis* sp. nov. corresponderam a duas MOTUs. A sequência mais confiável de *Syllis* sp. nov. seria a que forma um grupo-irmão com *Syllis prolifera*.

Neste estudo foi observado que o número de morfoespécies excedeu o número de MOTUs, considerando os dados globais. Muitos estudos observaram o contrário, tais como Viven *et al.* (2015), para Oligochaeta, e Carr *et al.* (2011), para Polychaeta. Se considerarmos que as MOTUs N1 e S2 correspondem a resultado de contaminação, a comparação entre o número de MOTUs seria igual ao número de morfoespécies para o COI (14 MOTUs), mas excederia o número de morfoespécies para o 16S (22 MOTUs de 19 morfoespécies). Nesse sentido, devido a maior eficiência da amplificação, maior diversidade foi identificada pelo 16S.

Devido ao isolamento, área reduzida (<0,5 km²) e menor área de águas rasas (<50 m) do ASPSP, baixa diversidade e alto grau de endemismo seriam esperados (MacArthur & Wilson, 1967; Edwards & Lubbock, 1983b). A ocorrência de espécies cosmopolitas no ASPSP faz oposição à ideia de endemismo que se espera do ASPSP por ser um grupo de ilhas bastante afastado do continente e pequeno. No entanto, a espécie cosmopolita *Hermodice carunculata*, que apresenta populações coesas amplamente distribuídas no Atlântico, apresentou haplótipos raros no ASPSP (Ahrens *et al.*, 2013).

A alta divergência encontrada neste estudo entre as sequências de *Proscoloplos cygnochaetus* do ASPSP e as disponíveis de banco de dados pode ser um indício de que a espécie corresponde a um complexo de espécies crípticas. Os espécimes do ASPSP corresponderiam a uma nova espécie endêmica do arquipélago, contudo sem apresentar variações morfológicas que sustentassem a separação das espécies. Helm *et al.* (2015) mostraram que *Proscoloplos cygnochaetus* é uma espécie pedomórfica, onde características dos juvenis permanecem nos adultos e provavelmente *Scoloplos armiger* (Müller, 1776), um orbiniídeo intersticial teria origem na espécie. Ou seja, *Proscoloplos cygnochaetus* é uma espécie evolutivamente basal, portanto, há grandes chances dos espécimes do ASPSP apresentarem grandes divergências genéticas com os da localidade-tipo (Arquipélago de Tristã da Cunha), como foi o caso do presente estudo, por ambos corresponderem a conjuntos de ilhas oceânicas.

A espécie nova descrita no presente estudo, pode ser uma espécie endêmica do ASPSP, porém mais estudos seriam necessários para verificar isso. Estudos anteriores realizados no ASPSP com outras comunidades, também encontraram espécies endêmicas, como observado para peixes recifais por Feitoza & Gasparini (2003), moluscos por Oliveira (2009) e esponjas por Moraes *et al.* (2006).

Entretanto, Barboza *et al.* (2015) observaram que uma espécie de ofiuróide, *O. savignyi* apresentou distância K2P mínima de 0,0% com as sequências do continente, não corroborando com a ideia de endemismo no ASPSP. No presente, também foram encontradas espécies com baixas divergências em relação a espécimes de outras localidades (*Eurythoe complanata*, com divergência de 0,0%). Em adição, espécies consideradas cosmopolitas apresentaram haplótipos raros no ASPSP, a exemplo de *Hermodice carunculata* (Ahrens *et al.*, 2013).

Barcode Gap

O *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) foi descrito como uma ferramenta para a delimitação primária de espécies em grandes inventários taxonômicos (Puillandre *et al.*, 2012). Entretanto, o método parece ser útil em uma escala local, como mostrado no presente estudo.

Os resultados do ABGD em relação ao número de agrupamentos corroborou com o resultado do cálculo de MOTUs através de distâncias K2P e agrupamento NJ. A análise utilizando a ferramenta ABGD com a configuração padrão não encontrou nenhum resultado usando as sequências de COI. Depois de baixar o valor X (X = largura relativa do *barcode gap*) para 0.5, o ABGD análise mostrou um agrupamento das sequências (COI) de poliquetas do ASPSP em 16 MOTUs. No entanto, a distribuição das divergências nucleotídicas foi diferente entre os dois marcadores. O algoritmo do ABGD detectou *barcode gap* em relação às sequências de COI, no intervalo de 0,06 a 0,16% (Figura 17A e B).

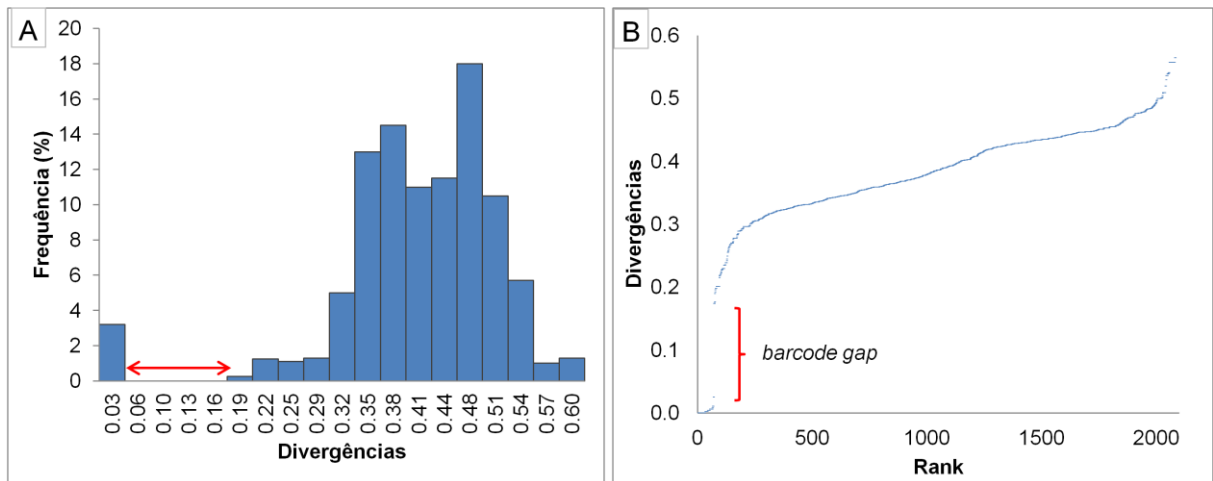


Figura 17. Resultado do ABGD distribuição das frequências *pairwise* observadas na análise do ABGD com as sequências de COI dos poliquetas do ASPSP (A), gráfico de dispersão das divergências (B).

Em relação ao 16S, foi possível realizar a análise com a configuração padrão do ABGD. Os resultados mostraram a presença de 24 MOTUs das sequências de 16S referentes aos poliquetas do ASPSP. A distribuição das divergências nucleotídicas não mostrou *barcode gap* para o 16S, a lacuna que representaria os limiares de divergências intra- e interespecíficas não foi bem delimitada e houve sobreposição entre os valores de divergências (Figura 18A e B).

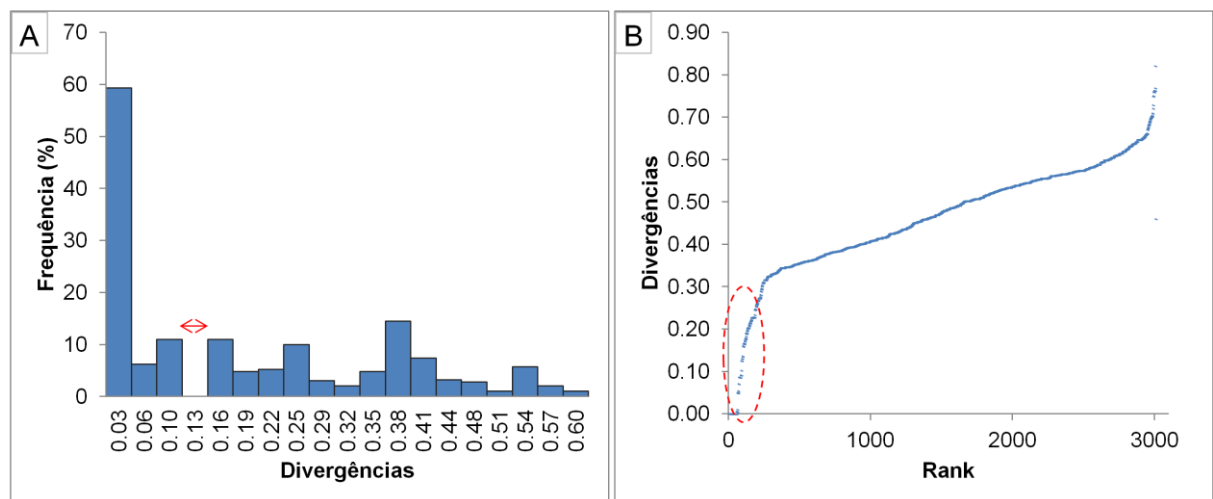


Figura 18. Distribuição das frequências *pairwise* observadas na análise do ABGD com as sequências de COI dos poliquetas do ASPSP (A), gráfico de dispersão das divergências (B).

O algoritmo ABGD (Puillandre *et al.*, 2012) têm demonstrado grande acurácia na delimitação das espécies e detecção de *barcode gap* (Novo *et al.*, 2012; Mat Jaafar *et al.*,

2012; Martinsson & Erséus, 2013; Kvist, 2014; Martinsson *et al.*, 2015; Vivien *et al.* 2015). No presente estudo, o ABGD foi uma ferramenta também foi útil e capaz de distinguir o desempenho de diferentes genes (COI e 16S) na delimitação das espécies. O COI foi eficiente na delimitação das espécies por apresentar intervalo de tamanho suficiente para distinção das distâncias intra- e interespecíficas, comprovando a existência de *barcode gap* para a biblioteca de sequências de poliquetas do ASPSP. Trabalhos de diversidade com anelídeos em escalas locais também têm demonstrado a existência de *barcode gap*, a exemplo de oligoquetas por (Martinsson *et al.*, 2015). Em uma perspectiva global, análises do conjunto de sequências de COI (GenBank) sugerem que não existe *barcode gap* em anelídeos, tampouco poliquetas, oligoquetas e hirudíneos (Kvist, 2014).

Quanto ao 16S, não foi observado um intervalo bem delimitado e de tamanho suficiente que correspondesse a um *barcode gap*. Isso poderia ter decorrido do número de sequências por grupo (MOTU). Uma das desvantagens do método é a presença de grande número de sequências, porém com baixo número de sequências por MOTU, conseqüentemente, o ABGD parece ser inapropriado (Janssen *et al.*, 2015). Todavia, esse não é o caso dos dados de 16S, visto que, com uma diferença pequena no número de sequências, a análise com o COI foi realizada apropriadamente. Apesar de a distribuição de distâncias genéticas do 16S apresentar uma pequena lacuna entre 0,1 e 0,13 (Figura 18A), o *barcode gap* não é claro (Figura 18B). Não somente a presença, mas também o tamanho do *barcode gap* é importante na delimitação das espécies (Meier *et al.*, 2008; Kvist, 2014).

O princípio da existência de *barcode gap* é essencial para a aplicação do DNA *barcoding* na identificação das espécies (Wiemers & Fiedler, 2007). Caso haja sobreposição de divergências genéticas, a delimitação das espécies pode ser realizada através de técnicas sofisticadas como a teoria de coalescência e métodos estatísticos de genética de populações, desde que os dados apresentem uma boa amostragem molecular (Nielsen & Matz, 2006; Pons, 2006).

No presente estudo, o gene mitocondrial COI foi mais eficiente e confiável na delimitação das espécies uma vez que apresentou *barcode gap*. De acordo com os resultados do presente trabalho, as distâncias K2P (padrão do *barcoding*) do COI, evidenciaram claramente um limiar entre as distâncias intra- e interespecíficas e a distância patrística máxima nos poliquetas do ASPSP foi <3%, concordando com os limiares observados por Carr *et al.* (2011) e Lobo *et al.* (2015).

Desempenho do COI e 16S: Classificação de Barcodes

A partir da classificação da fiabilidade taxonômica de DNA *barcodes* proposto por Costa *et al.* (2012), os DNA *barcodes* gerados neste trabalho para os poliquetas do ASPSP foram classificados nos cinco níveis de A – E, como mostra a Tabela 7.

Tabela 7 - Classificação dos DNA *barcodes* das espécies de poliquetas do ASPSP, de acordo com o sistema de classificação de (Costa *et al.*, 2012). Na = não se aplica. A=congruência externa, B = congruência interna, C = congruência subótima, D = dados insuficientes, E = discordância.

Espécie	Classificação	
	COI	16S
Amphinomidae		
<i>Eurythoe complanata</i>	A	A
<i>Hermodice carunculata</i>	A	A
<i>Linopherus cf. canariensis</i>	D	D
<i>Linopherus</i> sp.	D	D
Capitellidae		
Capitellidae sp.	D	D
<i>Dasybranchus</i> sp.	D	D
Chaetopteridae		
<i>Chaetopterus capensis</i>	B	B
<i>Phyllochaetopterus gracilis</i>	B	B
Cirratulidae		
<i>Timarete punctata</i>	A	A
Dorvilleidae		
<i>Dorvillea</i> sp.	B	B
Eunicidae		
<i>Lysidice</i> sp.	D	C
<i>Eunice gazzoi</i>	A	E
<i>Palola</i> sp.	B	B
Lumbrineridae		
<i>Lumbrineris perkinsi</i>	A	B
Nereididae		
<i>Ceratocephale</i> sp.	D	D
<i>Nereis</i> sp.	D	D
Orbiniidae		
<i>Proscoloplos cygnochaetus</i>	E	E
Polynoidae		
<i>Harmothoe</i> sp.	D	Na
Syllidae		
<i>Exogone</i> sp1.	Na	D
<i>Opisthodontia</i> sp.	D	D
<i>Opisthosyllis brunnea</i>	D	Na
<i>Opisthosyllis viridis</i>	Na	D

<i>Prosphaerosyllis</i> sp.	Na	D
<i>Salvatoria</i> sp.	Na	E
<i>Syllis alternata</i>	E	E
<i>Syllis garciai</i>	Na	D
<i>Syllis</i> sp. n	D	E
<i>Syllis</i> sp1	Na	D
<i>Syllis</i> sp2	Na	D
<i>Syllis variegata</i>	E	D

Eunice gagzoi apresentou alta fiabilidade taxonômica em relação ao COI (nível A), porém representou discordância em relação ao 16S (nível E), uma vez que, quando comparada a *Nicidion cariboea*, se agrupam na mesma MOTU. Entretanto, a distância genética foi maior com *Nicidion cariboea* quando comparado a *Eunice gagzoi*, pertencendo à mesma MOTU e BIN no banco de dados do BOLD. Dessa forma, a decisão taxonômica para os espécimes partiu da confiabilidade do COI e uma terceira revisão morfológica, portanto os espécimes do ASPSP foram identificados como *Eunice gagzoi*.

Os *DNA barcodes* de Syllidae do ASPSP apresentaram baixa fiabilidade taxonômica, discordâncias ou dados insuficientes quanto aos dois marcadores genéticos e, portanto, no presente estudo, foram classificadas nos níveis D e E.

Em resumo, 39% das sequências de COI possuíram fiabilidade taxonômica, correspondentes aos níveis A e B (Figura 19A). As demais sequências não possuem dados suficientes (nível D – 48%) ou representam veja o tempo discordâncias taxonômicas de acordo com as sequências disponibilizadas nos bancos de dados (nível E – 13%). O desempenho do 16S foi mais baixo, 29% das sequências possuíram fiabilidade taxonômica e 18% das sequências foram discordantes (Figura 19B).

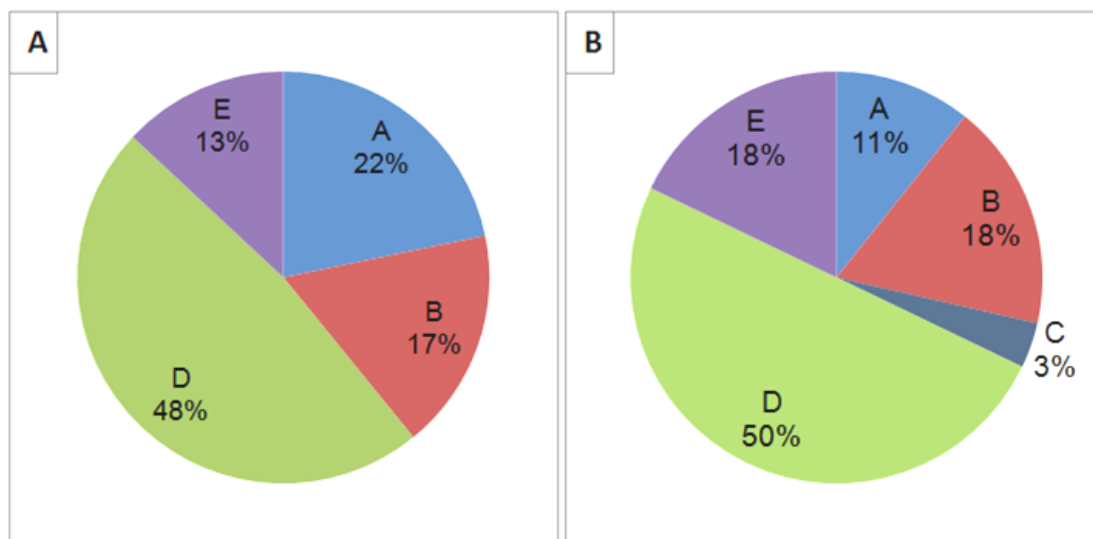


Figura 19. Representação gráfica da classificação dos DNA *barcodes* de COI (A) e 16S (B) dos poliquetas do ASPSP. Os níveis de fiabilidade taxonômica propostos por Costa *et al.* (2012) são: A- concordância externa; B - concordância interna; C- concordância sub-ótima; D - dados insuficientes; E - DNA *barcodes* discordantes.

Em Carr *et al.* (2011), o padrão de agrupamento de códigos de barras de COI sinalizou erros de identificação, decisões taxonômicas tendenciosas e facilitou a detecção da diversidade de poliquetas. Os resultados obtidos no presente estudo, utilizando COI e 16S, demonstram que ambos os genes foram capazes de auxiliar na identificação das espécies, em relação à comparação com sequências similares depositadas nos bancos de dados genéticos.

Hendrich (2010) afirma que o COI é um gene poderoso como ferramenta para estimar a riqueza em larga-escala e tem potencial uso em ecologia e diversidade beta e para definir prioridades em conservação. Entretanto, o uso do COI também apresenta limitações para identificação de amostras e delimitação de espécies, pois pode estar associado a eventos de radiação rápida (Kvist, 2014). Apesar disso, o uso da ferramenta é indicado desde que os padrões encontrados sejam complementados com os resultados obtidos a partir de outras ferramentas (Riesgo *et al.*, 2015). Utilizar uma sequência-suporte, como realizado neste estudo (16S), pode ajudar a confirmar os dados e dar maior confiabilidade às sequências das espécies.

O uso de um sistema de classificação de DNA *barcodes* auxilia na decisão das sequências confiáveis para disponibilização nos bancos de dados. Isso é imprescindível, uma vez que um dos principais requisitos do DNA *barcoding* é a disponibilização de dados moleculares de espécimes taxonomicamente confirmados (Stoeckle & Hebert, 2008). No entanto, o cuidado deve ser redobrado nas comparações entre as sequências, tendo em vista

que numerosas sequências depositadas no GenBank podem estar associadas com uma denominação taxonômica errada (Kvist, 2014).

A abordagem do DNA *barcoding* pode resultar em armadilhas como: 1) composição nucleotídica similar em populações que estão em processo de especiação e com rápida radiação; 2) número de espécies crípticas no conjunto de dados global pode ser mais alto; e 3) subamostragem do conjunto de dados (Kvist, 2014). Apesar disso, o DNA *barcoding* foi uma abordagem muito útil na identificação dos poliquetas do ASPSP, principalmente porque a diversidade de poliquetas desse lugar era até então desconhecida. Além disso o uso de um marcador genético auxiliar, ajudou para corroborar com dados moleculares a eleição de uma nova espécie (*Syllis* sp. nov.).

Os resultados do presente estudo corroboram com a ideia de que o uso do DNA *barcoding* vai acelerar o reconhecimento e a subsequente descrição de muitas espécies de poliquetas atualmente não descritas (Carr *et al.*, 2011). Além disso, dar maior robustez ao conjunto de dados disponíveis pode mudar o panorama do *barcoding* em Annelida (Kvist, 2014). Dessa forma, este estudo pode contribuir ao prover sequências originais e confiáveis aos bancos de dados genéticos.

CONCLUSÕES

1. No ASPSP, identificou-se uma espécie nova (*Syllis* sp. nov.), cinco novos registros de espécies para o Brasil e 12 para o ASPSP. Além disso, duas espécies são cosmopolitas, segundo a literatura (*Hermodice carunculata* e *Proscoloplos cygnochaetus*) e outras duas são prováveis (*Chaetopterus capensis* e *Phyllochetopterus gracilis*).
2. Registrou-se uma espécie críptica confirmada (*Eurythoe complanata*) e é provável que *Proscoloplos cygnochaetus* seja uma espécie críptica.
3. A maioria das espécies encontradas apresenta distribuição geográfica mais restrita a costa do Brasil, Caribe e da África.
4. Este estudo demonstrou a eficácia do DNA *barcoding* como uma ferramenta para a identificação de espécies de poliquetas.
5. De um total de 35 morfoespécies identificadas, 20 puderam ser analisadas com o COI, que apresentou 16 MOTUs, e 26 com o 16S, que apresentou 24 MOTUs.
6. Além disso, a espécie nova *Syllis* sp. nov. pôde ser confirmada, sendo grupo-irmão de *Syllis prolifera*, bem como observado nos resultados baseados na morfologia.

7. O *barcode gap* foi uma ferramenta útil na avaliação do desempenho dos marcadores moleculares.
8. O COI respondeu melhor em relação aos limiares entre as distâncias intra- e interespecíficas, uma vez que exibiu claramente um *barcode gap*, enquanto que o 16S não apresentou uma delimitação clara dessa lacuna. Apesar disso, o trabalho também demonstrou que o 16S foi útil como um marcador de suporte, uma vez que auxiliou a identificação de uma espécie nova.
9. A classificação dos DNA *barcodes* gerados foi útil na determinação das sequências candidatas a *barcodes* e na observação de sequências duvidosas.

CONSIDERAÇÃO FINAL

O presente trabalho também mostrou a importância da utilização conjunta de dados morfológicos e DNA *barcoding* para descrever a biodiversidade de poliquetas de uma ilha oceânica. Esta dissertação foi instrumental no que diz respeito ao conhecimento da biodiversidade do ASPSP, tendo aumentado o número de registros de espécies de poliquetas nesse arquipélago, além de contribuir com a produção de sequências genéticas originais que serão inseridas em bancos de dados públicos. Essas sequências servirão para futuros estudos em DNA *barcoding* e investigações filogeográficas, por exemplo, desde que sejam disponíveis no GenBank e BOLD.

REFERÊNCIAS

- Aguado, M. N. (2007). Phylogeny of Syllidae (Polychaeta) based on combined molecular analysis of nuclear and mitochondrial genes. *Cladistics*, 23(6):552-564.
- Aguado, M. S. (2012). Systematics and evolution of syllids (Annelida, Syllidae). *Cladistics*, 28:234-250.
- Ahrens, J., Borda, E., Barroso, R., Paiva, P., Campbell, A., Wolf, A., Nugus, M.M., Rouse, G. & Schulze, A. (2013). The curious case of *Hermodice carunculata* (Annelida: Amphinomidae): evidence for genetic homogeneity throughout the Atlantic Ocean and adjacent basins. *Molecular Ecology*, 22:2280-2291.
- Amaral, A. C., Nallin, S., Steiner, T. & Forroni, T. &. (2006-2012). *Catálogo das espécies de Annelida Polychaeta do Brasil*.
http://www.ib.unicamp.br/museu_zoologia/files/lab_museu_zoologia/Catalogo_Polychaeta_Amaral_et_al_2012.pdf.
- Amaral, A. R. (2008). *Eurythoe complanata* (Pallas, 1776) . In: A. D. Machado, *Livro Vermelha da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Vol. 1.* (p. 280-281). Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- Amaral, A. & Jablonski, S. (2005). Conservation of marine and coastal biodiversity in Brazil. *Megadiversidade*, 1(1):43-51.
- Andrade, S., Strand, M., Schwartz, M., Chen, H., Kajihara, Dohren, J., Sun, S, Junoy, J., Thiel, M., Norenburg, J.L., Turbeville, J.M., Giribet, G. & Sundberg, P. (2012). Disentangling ribbon worm relationships: multi-locus analysis supports traditional classification of the phylum Nemertea. *Cladistics*, 28(2):141-159.
- Appeltans, W., Ah Yong, S.T., Anderson, G., (...) & Costello, M.J. (2012). The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology*, 22(23):2189-2202.
- Arnot, D., Roper, C. & Bayoumi, R. (1993). Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Molecular Biochemical Parasitology*, 61:15-24.
- Augener, H. 1. (1922). Über litorale polychäten von Westindien. *Sitzungsberichte der Gesellschaft der naturforschende Freunde zur Berlin*, 1922(3-5):38-53.
- Baird, D. (2011). Applying DNA barcoding in benthology: the state of the science. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(1):122-124.
- Baird, D., Pascoe, T. & Zhou, X. (2011). Building freshwater macroinvertebrate DNA-barcode libraries from reference collection material: formalin preservation vs specimen age. *Journal of the North American Benthological Society*, 30:125-130.
- Barboza, C., Mattos, G. & Paiva, P. (2015). Brittle stars from the Saint Peter and Saint Paul Archipelago: morphological and molecular data. *Marine Biodiversity Records*, 8(6):1-9.
- Barroso, R. & Paiva, P. (2007). Amphinomidae (Annelida: Polychaeta) from Rocas Atoll, Northeastern Brazil. *Arquivos do Museu Nacional*, 65(3):357-362.
- Barroso, R., Klautau, M., Solé-Cava, A. & Paiva, P. (2010). *Eurythoe complanata* (Polychaeta: Amphinomidae), the ‘cosmopolitan’ Wreworm, consists of at least three cryptic species. *Marine Biology*, 157:69–80.
- Bastrop, R., Juerss, K. & Sturmbauer, C. (1998). Cryptic species in a marine polychaete and their independent introduction from North America to Europe. *Molecular Biology and Evolution*, 15:97-103.

- Bergsten, J., Bilton, D., Fujisawa, T., Elliott, M., Monaghan, M.T., Balke, M., Hendrich, L., Geijer, J., Herrmann, J., Foster, G.N., Ribera, I., Nilsson, A.N., Barraclough, T.G. & Vogler, A.P. (2012). The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Systematic Biology*, 65:851-869.
- Birky, C. W. (2007). Workshop on barcode DNA: application to rotifer phylogeny, evolution, and systematics. *Hydrobiologia*, 593:175-183.
- Blaxter, M., Mann, J. C., Thomas, F., Whitton, C., Floyd, R. & Abebe, E. (2005). Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 360:1935-1943.
- Bleidorn, C. (2005). Phylogenetic relationships and evolution of Orbiniidae (Annelida, Polychaeta) based on molecular data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 144 (1):59-73.
- Bleidorn, C. V. & Bartolomaeus, T. (2005). Molecular phylogeny of lugworms (Annelida, Arenicolidae) inferred from three genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34(3):673-679.
- Bleidorn, C. & Podsiadlowski, L. & (2006). The complete mitochondrial genome of the orbiniid polychaete *Orbinia latreillii* (Annelida, Orbiniidae) – a novel gene order for Annelida and implications for annelid phylogeny. *Gene*, 370:96-103.
- Bleidorn, C., Hill, N., Érseus, C. & Tiedemann, R. (2009). On the role of character loss in orbiniid phylogeny (Annelida): molecules vs. morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52:57-69.
- Boeggemann, M. (2009). Polychaetes (Annelida) of the abyssal SE Atlantic. *Org. Divers. Evol.*, 9(4-5):251-428.
- Borda, E. K. & Rouse, G. (2012). Towards a revised Amphinomidae (Annelida, Amphinomida): description and affinities of a new genus and species from the Nile Deep-sea Fan, Mediterranean Sea. *Zoologica Scripta*, 41(3):307-325.
- Böttger-Schnack, R. & Machida, R. (2011). Comparison of morphological and molecular traits for species identification and taxonomic grouping of oncaeid copepods. *Hydrobiologia*, 666:111-125.
- Brasil. (1986). Decreto nº 92.755, de 5 de Junho de 1986. Brasília, Brasil.
- Bucklin, A., Steinke, D. & Blanco-Bercial, L. (2011). DNA barcoding of marine Metazoa. *Annual Review of Marine Science*, 3:471-508.
- Campos, T., Virgens, J., Srivastava, N., Petta, R. H. & Moraes, J. M. (2009). Arquipélago de São Pedro e São Paulo: Soerguimento tectônico de rochas infracrustais no Oceano Atlântico. In: M. S.-B. Winge, *Sítios geológicos e paleontológicos do Brasil, Vol 2* (p. 123-136). Brasília: Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleobiológicos (SIGEP).
- Campoy, A. (1982). *Fana de España. Fauna de anélidos poliquetos de la Península Ibérica*. Pamplona: EUNSA (Ediciones de la Universidad de Navarra), Publicaciones de Biología de la Universidad de Navarra, Seria Zoológica 7(1).
- Capa, M., San Martín, G. & López, E. (2001). Syllinae (Syllidae: Polychaeta) del Parque Nacional de Coiba, Panamá. *Revista de Biología Tropical*, 49(1):103-115.
- Carr, C. (2012). Polychaete diversity and distribution patterns in Canadian marine waters. *Marine Biodiversity*, 42:93-107.
- Carr, C., Hardy, S., Brown, T. & Macdonald, T. & (2011). A tri-oceanic perspective: DNA barcoding reveals geographic structure and cryptic diversity in canadian polychaetes. *PLoS ONE*, 6(7), e22232. .

- Carrera-Parra, L. (2015). *Eunice gagzoi*. BIN page, BOLD:AAY3507. Fonte: BOLD Systems: Management & Analysis: http://www.boldsystems.org/index.php/Public_BarcodeCluster?clusteruri=BOLD%3AAAJ0069
- Carrera-Parra, L. (2001). Lumbrineridae (Annelida: Polychaeta) from the Gran Caribbean region with the description of six new species. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81:599-621.
- Çinar, M. (2007). Re-description of *Timarete punctata* (Polychaeta: Cirratulidae) and its occurrence in the Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 71(4):755-764.
- Çinar, M. (2009). Alien polychaete species (Annelida: Polychaeta) on the southern coast of Turkey (Levantine Sea, eastern Mediterranean), with 13 new records for the Mediterranean Sea. *Journal of Natural History*, 43(37-38):2283-2328.
- Collevatti, R. (2011). Nós realmente precisamos de DNA barcoding?. *Natureza & Conservação*, 9(1):105-110.
- Cong, Y., Banta, G., Selck, H., Berhanu, D., Valsami-Jones, E. & Forbes, V. (2014). Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated silver nanoparticles in the estuarine polychaete, *Nereis (Hediste) diversicolor*. *Aquatic Toxicology*, 156:106-115.
- Cosentino, A. & (2011). The new potential invader *Linopherus canariensis* (Polychaeta: Amphinomidae) in a Mediterranean coastal lake: Colonization dynamics and morphological remarks. *Marine Pollution Bulletin*, 62:236-245.
- Costa, F., Henzler, C., Lunt, D., Whiteley, N. & Rock, J. (2009). Probing marine *Gammarus* (Amphipoda) taxonomy with DNA barcodes. *Systematics and Biodiversity*, 7: 365–379.
- Costa, F., Landi, M., Martins, R., Costa, M.H., Costa, M.E., Carneiro, M., Alves, M.J., Steinke, D. & Carvalho, G.R. (2012). A ranking system for reference libraries of DNA barcodes: application to marine fish species from Portugal. *PlosONE*, 7(4):e35858.
- Cox, A. & Hebert, P.D. (2001). Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Molecular Ecology*, 10:371-386.
- Davis, J. & Nixon, K. (1992). Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology*, 41:421-435.
- Day, J. (1954). The polychaetes of Tristan da Cunha. *Results of Norwegian Scientific Expedition of Tristan da Cunha, 1937-1938*(4):1-35.
- Day, J. (1962). Polychaeta from several localities in the western Indian Ocean. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 139:627-656.
- Day, J. (1967). *A monograph on the Polychaeta of Southern Africa. Volume British Museum (Natural History)*. London: British Museum (Natural History).
- Derycke, S., Vanaverbeke, J., Rigaux, A. & Backeljau, T. (2010). Exploring the use of cytochrome oxidase c subunit 1 (COI) for DNA barcoding of free-living marine nematodes. *PLoS ONE*, 5(10):e13716.
- Díaz-Díaz, O. & Liñero-Arana, I. (2004). Cirratulidae (Annelida: Polychaeta) de la costa oriental de Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente*, 43(1,2):3-10.
- Doyle, J. J. (2000). Evolution of genes and taxa: a primer. *Plant Molecular Biology*, 42:1–6.
- Ebach, M. (2011). Taxonomy and the DNA barcoding enterprise. *Zootaxa*, 2742:67-68.

- Ebach, M., Valdecasas, A. & Wheeler, Q. (2011). Impediments to taxonomy and users of taxonomy: accessibility and impact evaluation. *Cladistics*, 27:550-557.
- Edwards, A. & Lubbock, R. (1983a). Marine zoogeography of Saint Paul's rocks. *Journal of Biogeography*, 10:65-72.
- Edwards, A. & Lubbock, R. (1983b). The ecology of Saint Paul's rocks (Equatorial Atlantic). *Journal of Zoology*, 200:51-69.
- Erséus, C. (2005). Phylogeny of oligochaetous Clitellata. *Hydrobiologia*, 535(536): 357–372.
- Fabricius, O. (1780). *Fauna Groenlandica, systematice sistens, Animalia Groenlandiae occidentalis hactenus indagata, quoad nomen specificum, triviale, vernaculumque synonyma auctorum plurium, descriptionem, locum, victum, generationem, mores, usum, capturamque singuli prout de*. Copenhagen et Lipsiae: Hafniae.
- Fauchald, K. (1977). *The polychaete worms, definitions and keys to the orders, families and genera*. Los Angeles, CA (USA): Natural History Museum of Los Angeles County and The Allan Hancock Foundation.
- Fauchald, K. (1992). *A review of the genus Eunice (Polychaeta: Eunicidae) based upon type material*. Washington. 422 p.: Smithsonian Institution Press.
- Fauchald, K., Granados-Barba, A. & Solís-Weiss, V. (2009). Polychaeta (Annelida) of the Gulf of Mexico. In: D. Felder, & D. Camp, *Gulf of Mexico. Origin, Waters, and Biota*. (pp. 751-788). College Station, Texas: Texas A&M University Press.
- Fauvel, P. (1923). *Polychètes errantes. Faune de France*. Paris: 5:1-488.
- Fauvel, P. (1927). *Polychètes sédentaires: addenda aux errantes, archiannelides, myzostomaires*. Paris: Fédération Française de Sociétés de Sciences Naturelles.
- Fauvel, P. (1932). Annelida Polychaeta of the Indian Museum, Calcutta. *Memoirs of the Indian Museum*, 12(1):1-262.
- Feitoza B.M., R. L.-J., S.R., F. & Gasparini, J. (2003). Reef fishes of St. Paul's rocks: new records and notes on biology and zoogeography. *Aquatic Journal of Ichthyology and Aquatic Biology*, 7:62–82.
- Fidalgo e Costa, P., Gil, J., Passos, A., Pereira, P., Melo, P., Batista, F. & Cancela da Fonseca, L. (2006). The market features of imported non-indigenous polychaetes in Portugal and consequent ecological concerns. *Scientia Marina*, 70(3):287-292.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, w., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5):294-299.
- François, F. G. (2002). Functional approach to sediment reworking by gallery-forming macrobenthic organisms: modeling and application with the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series*, 229:127-136.
- Fukuda, M. (2010). *Contribuição ao conhecimento taxonômico dos silídeos (Polychaeta: Syllidae) da região sudeste-sul do Brasil*. São Paulo: Universidade de São Paulo. Tese de Doutorado.
- Fukuda, M. (2010). *Contribuição ao conhecimento taxonômico dos silídeos (Polychaeta: Syllidae) da região sudeste-sul do Brasil*. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 340 p.
- García-Alonso, J., Rodríguez-Sánchez, N., Misra, S.K., Valsami-Jones, E., Croteau, M., Luoma, S. & Rainbow, P. (2014). Toxicity and accumulation of silver nanoparticles

- during development of the marine polychaete *Platynereis dumerilii*. *Science of the Total Environment*, 476-477:688-95.
- Geller, J., Meyer, C., Parker, M. & Hawk, H. (2013). Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources*, 13:851-861.
- Gillespie, R. (2007). Oceanic islands: models of diversity. In: S. Levin, *Encyclopedia of Biodiversity* (pp. 1-13). Elsevier Ltd: Oxford.
- Glasby, C. (1999). *The Namanereidinae (Polychaeta: Nereididae). Part 1, Taxonomy and Phylogeny*. Sydney: Records of the Australian Museum. 129 p.
- Glasby, C. & Hsieh, H. (2006). New species and new records of the *Perinereis nuntia* species group (Nereididae: Polychaeta) from Taiwan and other Indo-West Pacific shores. *Zoological Studies*, 45:553-577.
- Glasby, C., Wilson, R. & Hutchings, P. (2004). *Polychaetes an interactive identification guide*. Victoria: CSIRO Publishing .
- Gomes, M. (2009). *Syllinae (Syllidae; Polychaeta; Annelida) da Ilha do Mel*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná.
- Grassle, J. & Grassle, J. (1976). Sibling species in the marine pollution indicator *Capitella* (Polychaeta). *Science*, 192:567-569.
- Grube, A. (1856). Annulata Örstediana, Enumeratio Annulorum, quae in itinere per Indiam occidentalem et Americanam centalem annis 1845–1848 suscepto legit cl. A.S. Örsted, adjectis speciebus nonnullis a cl. H. Kröyer in itinere ad Americam meridionalem collectis. *Videnskabelige Meddelelser Naturhistorisk Forening i København*, 1:44-62.
- Grube, A. (1860). Beschreibung neuer oder wenig bekannter Anneliden. Fünfter Beitrag. *Archiv für Naturgeschichte*, 26(1):71-118.
- Grube, A. E. (1850). Die Familien der Anneliden. *Archiv für Naturgeschichte Berlin*, 16:249–364.
- Grube, A. E. (1863). Beschreibung neuer oder wenig bekannter Anneliden. Beitrag: Zahlreiche Gattungen. *Archiv für Naturgeschichte*, 29: 37-69.
- Harris, D. (2003). Can you bank on GenBank? *Trends in Ecology and Evolution*, 18:317-319.
- Hartman, O. (1966). Polychaetous annelids of the Hawaiian Islands. . *Occasional papers of Bernice P. Bishop Museum*, 23:163-252.
- Hartmann-Schröder, G. (1981). Zur Kenntnis des Eulitorals der australischen Küsten unter besonderer Berücksichtigung der Polychaeten und Ostracoden. Teil 6. Die Polychaeten der tropisch-subtropischen Westküste Australiens (zwischen Exmouth im Norden und Cervantes im Süden). *Mitteilungen aus dem Hamburgischen zoologischen Museum und Institut*, 78:19-96.
- Haswell, W. A. (1883). On some new Australian tubicolous annelids. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 7:633-638.
- Hazin, F. (2009). *O Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de estação científica, 1 ed.* Brasília: Secretaria de Comissão Interministerial para os Recursos do Mar.
- Hebert, P., Cywinska, A. & Ball, S. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London*, 270:313-321.
- Helm, C., Krause, A. & Bleidorn, C. (2015). Immunohistochemical investigations of the development of *Scoloplos armiger* (“intertidalis clade”) indicate a paedomorphic

- origin of *Proscoloplos cygnochaetus* (Annelida, Orbiniidae). *Invertebrate Biology*, 134(3):214-230.
- Hendrich, L. P. (2010). Mitochondrial cox1 sequence data reliably uncover patterns of insect diversity but suffer from high lineage-diosyncratic error rates. *PlosONE*, 5(12):e14448.
- Hutchings, P. (1998). Biodiversity and functions of polychaetes in benthic sediments. *Biodiversity and Conservation*, 7:1133-1146.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. (2004). *Plano de Manejo: Área de Proteção Ambiental de Fernando de Noronha – Rocas – São Pedro e São Paulo*. Brasília: IBAMA, PNUD, ARCADIS TETRAPLAN S.A.
- Imajima, M. (1992). Dorvilleidae (Annelida, Polychaeta) from Japan. I. The genus *Dorvillea* (*Dorvillea*). *Bulletin of the National Science Museum. Series A*, 18:131-147.
- Izuka, A. (1908). On the breeding habitand deVelopment of *Nereis japonica* n. sp. . *Annotaciones Zoologicae Japoneses*, 6:295-305.
- Janssen, A., Kaiser, A., Meißner, K., Brenke, N., Menot, L. & Arbizu, P. (2015). A Reverse Taxonomic Approach to Assess Macrofaunal Distribution Patterns in Abyssal Pacific Polymetallic Nodule Fields. *PloS ONE*, 10(2): e0117790.
- Junyi, Y., Aigen, G., Xiuren, N. & Zhang, D. (2007). Characteristics os macrofauna and their response to aquiculture in Yueqing Bay, China. *Acta Ecologica Sinica*, 27(1):34- 41
- Katsanevakis, S., Wallentius, I., Zenetos, A., Leppäkoski, E., Cinar, M., Oztürk, B., . . . Cardoso, A. (2014). Impacts of invasive alien marine species on ecosystem services and biodiversity: a pan-European review. *Aquatic Invasions*, 9:391-423.
- Kihia, C., Hendrick, Y., Muthumbi, A., Okondo, J., Nthiga, A. & Njuguna, V. (2015). Diet and trophic status of fish landed by tropical artisanal bait fishermen, Mida Creek Kenya. *International Journal of Marine Science*, 5(42):1-9.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16:111-120.
- Kinberg, J. (1865). *Annulata nova. Ofversigt of Kongliga Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar (Stockholm)*, 21:559-574.
- Knox, G. A. (1977). The role of polychaetes in benthic soft-bottom communities. In: D. Reish, & K. Fauchald, *Essays on Polychaetous Annelids in Memory of Dr. Olga Hartman* (pp. 547–604). Los Angeles: University of Southern California, Allan Hancock Press.
- Kress, W. &. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. *PLoS ONE*, 2: e508.
- Kress, W. & Erickson, D. (2008). DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. *Proceedings of the National. Academy of Sciences USA*, 5:2761-2762.
- Kröncke, I. T. (2003). Macrofauna communities in theeastern Mediterranean Deep Sea. *Marine Ecology*, 24(3):193-216.
- Kvist, S. (2014). Does a global DNA barcoding gap exist in Annelida? *Mitochondrial DNA*, 1-12.
- Lamarck, J. (1809). *Biologie, ou considerations sur la nature, les facultes, les developpements et*. Unpublished sketches for a book.
- Lamarck, J. (1818). *Histoire naturelle de Animaux sans vertèbres*. Paris: Verdiere.

- Lamarck, J. (1818). *Histoire naturelle des Animaux sans Vertèbres, présentant les caractères généraux et particuliers de ces animaux, leur distribution, leurs classes, leurs familles, leurs genres, et la citation des principales espèces qui s'y rapportent; precedes d'une Int.* Paris: Deterville, 612 pp.
- Lana, P., Amaral, A., Souza, J., Ruta, C., Paiva, P., Brasil, A., . . . Garrafoli, A. (2009). Polychaeta. In: R. Rocha, & W. Boeger, *Estado da arte e perspectivas para a zoologia no Brasil* (pp. 91–100). Curitiba: UFPR.
- Langerhans, P. (1879). Die Würmfauna von Madeira. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*, 33:513-592.
- Lee, J. & Rho, B. (1994). Systematic Studies on Syllidae (Annelida, Polychaeta) from the South Sea and the East Sea in Korea. *Korean Journal of Systematic Zoology*, 10(2):131-144.
- Leray, M. a. (2015). DNA barcoding and metabarcoding of standardized samples reveal patterns of marine benthic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(7):2076-2081.
- Linnaeus, C. (1767). *Linnaeus, C. (1767). Systema naturae sive regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis.* . Laurentii Salvii, Holmiae: 12(1): 533-1327.
- Ljungman, A. (1872). Förteckning öfver uti Vestindien af Dr A. Goës samt under korvetten Josefinas expedition i Atlantiska Oceanen samlade Ophiurider. *Öfversigt af Kungliga Vetenskapsakademiens Förhandlingar*, 28(5):615-658.
- Lobo, J. T. (2015). Starting a DNA barcode reference library for shallow water polychaetes from the southern European Atlantic coast. *Molecular Ecology*, p. in press.
- Lojen, S., Cukrov, M. & Cukrov, N. (2014). Variability of stable isotope fingerprints of the serpulid *Ficopomatus enigmaticus* within a permanently stratified estuary: i. *Estuaries and Coasts*, 37:436-448.
- Lopez, E. & Sa Martín, G. (1994). Syllidae (Polychaeta) collected off Cape Verde Islands by the First Iberic Expedition. *Revista de Biología Tropical*, 42(1-2):129-139.
- Lou, M. & Golding, B. (2012). The effect of sampling from subdivided populations on species identification with DNA barcodes using a Bayesian statistical approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65:765-773.
- MacArthur, R. & Wilson, E. (1967). *The theory of island biogeography. 1.ed.* Princeton: Princeton University Press.
- Magalhães, W., Corrêa, V., Paiva, P. & Elias, R. (2014). The Multitentaculate Cirratulidae of the Genera *Cirriformia* and *Timarete* (Annelida: Polychaeta) from Shallow Waters of Brazil. *Plos ONE*, 9(11):e112727.
- Martinsson, S. & Erséus, C. (2013). Cryptic diversity in the well-studied terrestrial worm *Cognettia sphagnetorum* (Clitellata: Enchytraeidae). *Pedobiologia - Journal of Soil Ecology*, 57(1):27-35.
- Martinsson, S., Cui, Y., Martin, P., Pinder, A., Quinlan, K., Wetzel, M. & Erséus, C. (2015). DNA barcoding of invasive European earthworms (Clitellata: Lumbricidae) in south-western Australia. *Biological Invasions*, 17(9):2527-2532.
- Mat Jaafar, T., Taylor, M., Mohd Nor, S., de Bruyn, M. & Carvalho, G. (2012). DNA Barcoding Reveals Cryptic Diversity within Commercially Exploited Indo-Malay Carangidae (Teleostei: Perciformes). *PloS ONE*, 7(11):e49623.
- McHugh, D. (1997). Molecular evidence that echiurans and pogonophorans are derived annelids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94:8006-8009.

- Meier, R., Zhang, G. & Farhan, A. (2008). The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the “barcoding gap” and leads to misidentification. *Systematic Biology*, 57(5):809-813.
- Meyer, A., Bleidorn, C., Rouse, G. & Hausen, H. (2008). Morphological and molecular data suggest a cosmopolitan distribution of the polychaete *Proscoloplos cygnochaetus* Day, 1954 (Annelida, Orbiniidae). *Marine Biology*, 153:879-889.
- Meyer, C. &. (2005). DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology*, 3(12):e422.
- Meyer, C. (2015). *Public Data Portal - BIN Page*. Fonte: BOLDSYSTEMS: http://www.boldsystems.org/index.php/Public_BarcodeCluster?clusteruri=BOLD%3AAAD4020
- Michaelsen, W. (1919). Über die Beziehungen der Hirudineen zu den Oligochaeten. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Hamburg*, 36:131-153. .
- Miglietta, M., Hourdez, S., Cowart, D. & Schaeffer, S. (2010). Species boundaries of Gulf of Mexico vestimentiferans (Polychaeta, Siboglinidae) inferred from mitochondrial genes. *Deep-Sea Research II*, 57:1916–1925.
- Moore, J. (1908). Some polychaetous annelids of the northern Pacific coast of North America. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 60:321-364.
- Mora, C. T. (2011). How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biology*, 6:e1001127.
- Moraes, F., Ventura, M., Klautau, M., Hajdu, E. & Muricy, G. (2006). Biodiversidade de esponjas das ilhas oceânicas brasileiras. In: R. Alves, & J. Castro, *Ilhas oceânicas brasileiras – da pesquisa ao manejo* (pp. 147–178). Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- Morgado, E. H. & Tanaka, M. O. (2001). The macrofauna associated with the bryozoan *Schizoporella unicornis* in southeastern Brazil. *Scientia Marina*, 65(3):173-181.
- Motoki, A., Sichel, S., Campos, T., Srivastava, N. & Soares, R. (2009). Taxa de soerguimento atual do arquipélago de São Pedro e São Paulo, Oceano Atlântico Equatorial. *Revista Escola de Minas*, 62(3):331-342.
- Müller, O. (1776). *Zoológica Dánica. Prodromus seu animalium Daniae et Norvegiae indigenarum characteris, nomine et Synonyma imprimis popularium*. Copenhagen, 274 p.
- Newby, W. (1940). The embryology of the echiuroid worm *Urechis caupo*. *Memoirs of the American Philosophical Society*, 16:1-219.
- Nielsen, R. & Matz, M. (2006). Statistical approaches for DNA barcoding. *Systematic Biology*, 55(1):162-169.
- Nishi, E. (2001). Partial revision of Japanese Chaetopterus (Chaetoptera: Polychaeta), including description of three new species from Southern Pacific side of Central Japan. *Actinia*, 14:1-26.
- Novo, M., Fernández, R., Marchán, D., Gutiérrez, M. & Cosín, D. (2012). Compilation of morphological and molecular data, a necessity for taxonomy: The case of *Hormogaster abbatissae* sp. n. (Annelida, Clitellata, Hormogastridae). *Zookeys*, 242:1-16.
- Nygren, A. (1999). Phylogeny and reproduction in Syllidae (Polychaeta). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 126:365-386.

- Nygren, A. (2013). Cryptic polychaete diversity: a review. *Zoologica Scripta*, 43(2):172-183.
- Oliveira P.S., M.-S. M. (2009). Malacofauna. In: H. F.H.V., *O Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de estação científica*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. p. 106–113.
- Omena, E., Lavrado, H., Paranhos, R. & Silva, T. (2012). Spatial distribution of intertidal sandy beach polychaeta along an estuarine and morphodynamic gradient in an eutrophic tropical bay. *Marine Pollution Bulletin*, 64:1861-1873.
- Orepeza, D., San Martín, G. & Solís-Weiss, V. (2012). The genus *Syllis* (Polychaeta: Syllidae: Syllinae) in the southern Mexican Pacific, with the description of two new species and three new records. *Zootaxa*, 3263:47-62.
- Osborn, K., Rouse, G. & Goffredi, S. &. (2007). Description and relationships of *Chaetopterus pugaporcinus*, an unusual pelagic polychaete (Annelida, Chaetopteridae). *The Biological Bulletin*, 212(1):40-54.
- Paiva, P. & Silva, J. (1998). Macrobenthic invertebrates as food for penaeid shrimp pond farm in Brazil. *Revista de Biologia Tropical*, 43(2):427-430.
- Paiva, P., Young, P. & Echeverría, C. (2007). The Rocas Atoll, Brazil: a preliminary survey. *Arquivos do Museu Nacional*, 65:241–250.
- Palumbi, S. R., Martin, A. P., Romano, S., McMillan, W. O., Stice, L. & Grabowski, G. (1991). *The simple fool's guide to PCR*. Department of Zoology Special Publication, University of Hawaii, Honolulu, HI.
- Paxton, H. & Åkesson, B. (2010). The Ophryotrocha labronica group (Annelida: Dorvilleidae) — with the description of seven new species. *Zootaxa*, 2713: 1–24.
- Pons J, B. T.-Z. (2006). Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55(4):595-609.
- Poore, G. & Wilson, G. (1993). Marines speciesrichness. *Nature*, 361, 597–598.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. & Achaz, G. (2012). ABGD, Automated Barcode Gap Discovery for primary species delineation. *Molecular Ecology*, 21:1864-1877.
- Purschke, G. (2002). On the ground pattern of Annelida. *Organisms Diversity & Evolution*, 3: 181-196.
- Quatrefages, A. (1865). Note sur la classification des annelids. *Academie des Sciences Naturels*, 5(3):253-296.
- Quatrefages, A. M. (1866). *Histoire Naturelle des Annelides, Marine et d'Eau Douce. Annelides et Gephyriens*. Paris: Librairie Encyclopédique de Roret. 588p.
- Quiagen®. (2006). *DNeasy® Blood & Tissue Handbook*. Austin, Texas: Quiagen®.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. (2013). A DNA-based registry for all animal species: the Barcode Index Number (BIN) system. *PlosONE*, 8(8):e66213.
- Riesgo, A., Taboada, S. & Avila, C. (2015). Evolutionary patterns in Antarctic marine invertebrates: An update on molecular studies. *Marine Genomics*, 23:1-13.
- Rouse, G. & Fauchald, K. (1997). Cladistics and polychaetes. *Zoologica Scripta*, 26(2): 139–204.
- Rouse, G. & Pleijel, F. (2001). *Polychaetes*. Oxford: Oxford University Press, 347p.
- Rouse, G., Goffredi, S. & Vrijenhoek, R. (2004). Osedax: bone-eating marine worms with dwarf males. *Science*, 305(5684):668-671.

- Rousset, V., Pleijel, F., Rouse, G., Erseus, C. & Siddall, M. (2007). A molecular phylogeny of annelids. *Cladistics*, 23(1):41-63 .
- Ruggiero, M., Gordon, d., Orrell, t., Bailly, N., Bourgoïn, T., Brusca, R., . . . Kirk, P. (2015). A Higher Level Classification of All Living. *PlosOne*, 10(6): e0130114.
- Ruta, C., Nygren, A., Rousset, V., Sunberg, P., Tillier, A., Wiklund, H. & Pleijel, F. (2007). Phylogeny of Hesionidae (Aciculata, Polychaeta), assessed from morphology, 18S rDNA, 28S rDNA, 16S rDNA and COI. *Zoologica Scripta*, 36(1):99-107 .
- Saccone, C., DeCarla, G., Gissi, C. & Pesole, G. &. (1999). Evolutionary genomics in the Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. *Gene*, 238:195-210.
- San Martín, G. (1992). Syllis Savigny in Lamarck, 1818 (Polychaeta: Syllidae: Syllinae) from Cuba, Gulf of Mexico, Florida and North of Carolina, with a revision of several species described by Verril. *Bulletin of Marine Science*, 51(2):167-196.
- San Martín, G. (2003). Annelida, PolychaetaII: Syllidae. In: M. e. Ramos, *Fauna Ibérica* (pp. v. 21, v. 21, 554 p.). Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- San Martín, G. & Bone, D. (2001). Syllidae (Polychaeta) de praderas de Thalassia testudinum en el Parque Nacional Morrocoy (Venezuela). *Revista de Biología Tropical*, 49(2):609-620.
- San Martín, G., Hutchings, P. & Aguado, M. (2008). Syllinae (Polychaeta, Syllidae) from Australia. Part. 2. Genera Inermosyllis, Megasyllis n. gen., Opisthosyllis, and Trypanosyllis. *Zootaxa*, 1840:1-53.
- Santi, L. T. (2009). Polychaete assemblage of an impacted estuary, Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57(4):287-303.
- Sato, M. & Nakashima, A. (2003). A review of Asian Hediste species complex (Nereididae, Polychaeta) with descriptions of two news species and a redescription of Hediste japonica (Izuka, 1908). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 137:403-445.
- Schindel, D. (2007). *DNA Barcoding and the Information Infrastructure of Taxonomy*.
Fonte: Barcoding of life: <http://www.barcodeoflife.org/>
- Schulze, A. (2006). Phylogeny and genetic diversity of palolo worms (Palola, Eunicidae) from the tropical north pacific and the Caribbean. *The Biological Bulletin*, 210(1):25-37.
- Serafini, T., França, G. & Andriguetto-Filho, J. (2010). Ilhas oceânicas brasileiras: biodiversidade conhecida e sua relação com o histórico de uso e ocupação humana. *Revista de Gestão Costeira Integrada*, 10:281-301.
- Stimpson, W. (1856). Description of some new marine invertebrates. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 7(10):385-395.
- Stoeckle, M. & Hebert, P. (2008). Barcode of Life: DNA tags help classify animals. *Scientific American*, 299(4):82-88.
- Struck, T. (2011). Direction of evolution within Annelida and the definition of Pleistoannelida. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49:340-345.
- Struck, T. H., Nesnidal, M. P., Purschke, G. & Halanych, K. M. (2008). Detecting possibly saturated positions in 18S and 28S sequences and their influence on phylogenetic reconstruction of Annelida (Lophotrochozoa). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 628–645.
- Struck, T., Paul, C., Hill, N., Hartmann, S., Hösel, C., Kube, M., Hösel, C., Kube, M., Lieb, B., Meyer, A., Tiedemann, R., Purschke, G. & Bleidorn, C. (2011). Phylogenomic analyses unravel annelid evolution. *Nature*, 471:95-98.

- Struck, T., Purschke, G. & Halanych, K. (2006). Phylogeny of Eunicida (Annelida) and exploring data congruence using a partition addition bootstrap alteration (PABA) approach. *Systematic Biology*, 55:1-20.
- Struck, T., Schult, N., Kusen, T., Hickman, E., Bleidorn, C., McHugh, D. & Halanych, K. (2007). Annelid phylogeny and the status of Sipuncula and Echiura. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 57.
- Sweeney, B., Battle, J., Jackson, J. & Dapkey, T. (2011). Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality? *Journal of the North American Benthological Society*, 30:195-216.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24:1596-1599.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28:2731-2739.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30:2725-2729.
- Taylor, J. (1984). Family Nereididae Johnston, 1845. In: J. Uebelacker, & P. Johnson, *Taxonomic guide to the polychaetes of the northern Gulf of Mexico* (pp. 31:1-42). Louisiana: Minerals Management Service, U.S Department of Interior.
- Thompson, J., Gibson, T., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. (1994). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25:4876-4882.
- Thomson, J. (1916). *Outlines of Zoology*. New York: NY D. Appleton Company.
- Tosuji, H. a. (2012). A simple method to identify Hediste sibling species (Polychaeta:Nereididae) using multiplex PCR amplification of the mitochondrial 16S rRNA gene. *Plankton Benthos Research*, 7:195-202.
- Valentini, A., Pompanon, F. & Taberlet, P. (2008). DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(2):110-117.
- Vázquez-Núñez R, M. N.-R. (2007). Bioaccumulation and elimination of Hg in the Wreworm *Eurythoe complanata* (Annelida: Polychaeta) from Mazatlan, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 52:541–548.
- Vivien, R., Wyler, S., Lafont, M. & Palowski, J. (2015). Molecular barcoding of aquatic oligochaetes: implications for biomonitoring. *PlosONE*, 10(4):e0125485.
- Wares, J. &. (2001). Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, 12: 2455–2469.
- Weidhase, M., Helm, C. & Bleidorn, C. (2015). Morphological investigations of posttraumatic regeneration in *Timarete* cf. *punctata* (Annelida: Cirratulidae). *Zoological Letters*, 1:20.
- Weigert, A., Helm, C., Meyer, M., Nickel, B., Arendt, D., Hausdorf, B., Santos, S.R. S., Halanych, K.M., Purschke, G., Bleidorn, C. & Struck, T. (2014). Illuminating the base of the annelid tree using transcriptomics. *Molecular Biology and Evolution*, 31:1391-1401.
- Wiemers, M. & Fiedler, K. (2007). Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4(8):1-16.

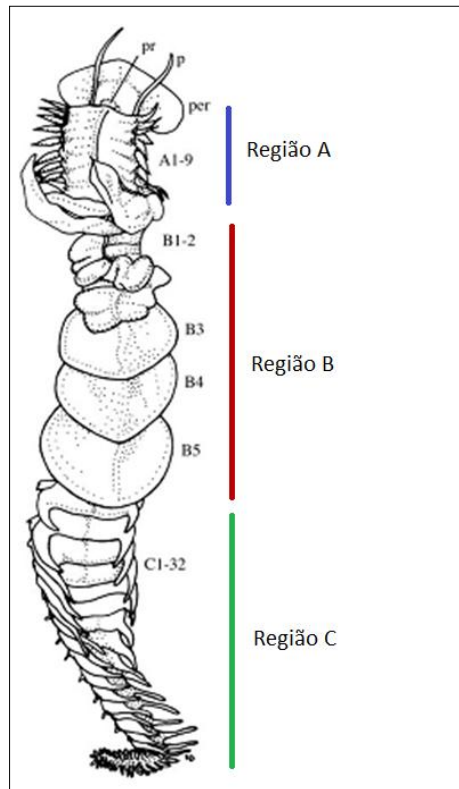
- Wong, E., Kupriyanova, E., Hutchings, P., Capa, M., Radashevsky, V. & ten Hove, H. (2014). A graphically illustrated glossary of polychaete terminology: invasive species of Sabellidae, Serpulidae and Spionidae. *Memoirs of Museum Victoria*, 71:327-342.
- Woodin, S. (1981). Disturbance and community structure in a shallow water sand flat. *Ecology*, 62:1052-1066.
- Zanol, J., Halanych, K. & Fauchald, K. (2014). Reconciling taxonomy and phylogeny in the bristleworm family Eunicidae (Polychaeta, Annelida). *Zoologica Scripta*, 43:79-100.
- Zanol, J., Halanych, K., Struck, T. & Fauchald, K. (2010). Phylogeny of the bristle worm family Eunicidae (Eunicida, Annelida) and the phylogenetic utility of noncongruent 16S, COI and 18S in combined analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55:660-676.
- Zenetos, A., Katsanevakis, S., Poursanidis, D., Crocetta, F., Damalas, D., Apostolopoulos, G., . . . Malaquias, M. (2011). Marine alien species in Greek Seas: Additions and amendments by 2010. *Mediterranean Marine Science*, 12(1):95-120.
- Zhou, H., Zhang, Z., Chen, H., Sun, R., Wang, H., Guo, L. & Pan, H. (2010). Integrating a DNA barcoding project with an ecological survey: a case study on temperate intertidal polychaete communities in Qingdao, China. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28(4):899-910.

APÊNDICES

Anexo 1. Dados das sequências obtidas do GenBank/BOLD para análise deste estudo.

FAMÍLIA/ ESPÉCIE	6m	8-10m	12m	Total geral
Amphinomidae				
<i>Eurythoe complanata</i>	4	43	11	58
<i>Hermodice carunculata</i>	0	10	0	10
<i>Linopherus canariensis</i>	10	1	6	17
<i>Linopherus</i> sp.	0	2	0	2
Capitellidae				
Capitellidae sp.	1	0	0	1
<i>Dasybranchus</i> sp.	0	1	0	1
Chaetopteridae				
<i>Chaetopterus capensis</i>	207	65	0	272
<i>Phyllochaetopterus gracilis</i>	62	27	0	89
Cirratulidae				
<i>Timarete punctata</i>	7	93	37	137
Dorvilleidae				
<i>Dorvillea</i> sp.	6	7	15	28
Eunicidae				
<i>Eunice gagzoi</i>	2	9	0	11
<i>Lysidice</i> sp.	12	5	0	17
<i>Palola</i> sp.	2	1	0	3
Lumbrineridae				
<i>Lumbrineris perkinsi</i>	0	3	0	3
Nereididae				
<i>Ceratocephale</i> sp.	1	0	2	3
<i>Nereis</i> sp.	0	0	1	1
Orbiniidae				
<i>Proscoplos cygnochaetus</i>	5	3	1	9
Polynoidae				
<i>Harmothoe</i> sp.	1	1	0	2
Sabellidae				
<i>Hypsicomus</i> sp.	1	0	0	1
Syllidae				
<i>Exogone</i> sp1.	6	0	0	6
<i>Exogone</i> sp2.	1	0	0	1
<i>Opisthodonta</i> sp.	0	1	0	1
<i>Opisthosyllis brunnea</i>	3	4	57	64
<i>Opisthosyllis viridis</i>	1	0	2	3
<i>Salvatoria</i> sp.	5	0	0	5
<i>Prosphaerosyllis</i> sp.	1	0	0	1
<i>Syllis alternata</i>	10	3	0	13
<i>Syllis garciai</i>	2	0	0	2
<i>Syllis gracilis</i>	2	0	0	2
<i>Syllis</i> sp. nov	3	65	0	68
<i>Syllis</i> sp1.	0	6	0	6
<i>Syllis</i> sp2.	0	2	0	2
<i>Syllis</i> spp.	1	1	1	3
<i>Syllis variegata</i>	33	46	7	86
Terebellidae				
<i>Polycirrus</i> sp.	0	0	2	2

Anexo 2. Esquema do corpo de *Chaetopterus* mostrando as regiões A, B e C. Adaptado de Osborn *et al.* 2007.

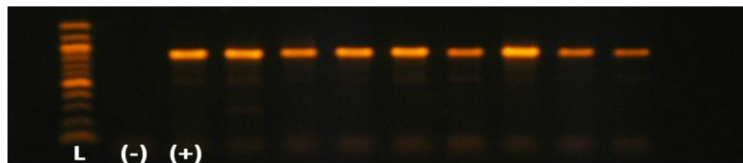


Anexo 3. Dados das sequências obtidas do GenBank/BOLD para análise deste estudo.

Espécie	Gene	N	Acesso GenBank/BIN URI	Referência
<i>Dorvillea similis</i>	COI	1	DQ317857	Schulze, 2006
<i>Enipo torelli</i>	COI	1	HQ023480	Carr <i>et al.</i> , 2011
<i>Eunice cariboea</i>	COI	1	DQ317859	Schulze, 2006
<i>Eunice gagzoi</i>	COI	1	BOLD:AA Y3507	Não publicada
<i>Eurythoe complanata</i>	COI	1	JN086548	Borda & Rouse, 2012
<i>Harmothoe imbricate</i>	COI	1	HQ024350	Carr <i>et al.</i> , 2011
<i>Hermodice carunculata</i>	COI	1	KC017547	Ahrens <i>et al.</i> , 2013
<i>Leitoscoloplos pugettensis</i>	COI	1	HM473441	Carr <i>et al.</i> , 2011
<i>Lumbrineris perkinsi</i>	COI	1	KP254185	Leray <i>et al.</i> , 2015
<i>Lysidice collaris</i>	COI	1	GQ497557	Zanol <i>et al.</i> , 2010
<i>Mesochaetopterus taylori</i>	COI	1	DQ209251	Osborn <i>et al.</i> , 2007)
<i>Nereis pelagica</i>	COI	1	KR916896	Lobo <i>et al.</i> , 2015
<i>Odontosyllis globulocirrata</i>	COI	1	JF903773	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Opisthodonta</i> sp.	COI		JF903791	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Phyllochaetopterus</i> sp.	COI	1	DQ209250	Osborn <i>et al.</i> , 2007
<i>Proscopolops cygnochaetus</i>	COI	1	FJ612515	Bleidorn <i>et al.</i> , 2009
<i>Syllis vitatta</i>	COI	1	GU362691	Zhou <i>et al.</i> , 2010
<i>Syllis prolifera</i>	COI	1	JF903780	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Timarete punctata</i>	COI	3	KM192180 - KM192182	Magalhães <i>et al.</i> 2014
<i>Amphinome rostrata</i>	16S	1	AY577881	Rouse <i>et al.</i> , 2004
<i>Branchiomaldane vincenti</i>	16S	1	AY569690	Bleidorn & Bartolomaeus, 2005
<i>Capitella teleta</i>	16S	1	JF509722	Andrade <i>et al.</i> , 2012
<i>Ceratocephale abyssorum</i>	16S	1	GQ426618	Boeggemann, 2009
<i>Dorvillea erucaeformis</i>	16S	1	GQ478122	Zanol <i>et al.</i> , 2010
<i>Eunice cariboea</i>	16S	1	GQ478141	Zanol <i>et al.</i> , 2010
<i>Eurythoe complanata</i>	16S	1	JN086557	Borda & Rouse, 2012
<i>Hediste diadroma</i>	16S	1	AB703099	Tosuji, 2012
<i>Hermodice carunculata</i>	16S	1	KC017630.1	Ahrens <i>et al.</i> , 2013
<i>Lumbrineris inflata</i>	16S	1	AY838832	Struck <i>et al.</i> , 2006

<i>Lysidice collaris</i>	16S	1	GQ478170	Zanol <i>et al.</i> , 2010
<i>Naineris dendritica</i>	16S	1	FJ612462	Bleidorn <i>et al.</i> , 2009
<i>Nereis pelagica</i>	16S	1	AY340470	Rousset <i>et al.</i> , 2007
<i>Odontosyllis ctenostoma</i>	16S	1	JF913956	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Opisthodonta</i> sp.	16S		JF903704	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Opisthosyllis viridis</i>	16S	1	JF913960	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Opisthosyllis brunnea</i>	16S	1	JF913958	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Proscoloplos cygnochaetus</i>	16S	1	AY532340	Bleidorn, 2005
<i>Prospherosyllis multipapillata</i>	16S	1	JF903713	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Salvatoria kerguelensis</i>	16S	1	JF903715	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Syllis prolifera</i>	16S	1	JF903739	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Syllis alternata</i>	16S	1	JF903726	Aguado <i>et al.</i> , 2012
<i>Syllis variegata</i>	16S	1	EF123822	Aguado <i>et al.</i> , 2007
<i>Timarete punctata</i>	16S	3	KM192197- KM192199	Magalhães <i>et al.</i> 2014

Anexo 4. Resultado de gel de agarose COI. L = *ladder*, (-) negativo, (+) positivo.



Anexo 5. Resultado de gel de agarose 16S. L = *ladder*, (-) negativo, (+) positivo.

