Karine Bianca Nascimento

Investigação do padrão de distribuição do
briozoário cosmopolita *Zoobotryon verticillatum*
(Ctenostomata, Vesiculariidae), através de dados
moleculares

Investigation of the distribution pattern of the
cosmopolitan bryozoan *Zoobotryon verticillatum*
(Ctenostomata, Vesiculariidae), using molecular
data

São Paulo

2015

Karine Bianca Nascimento

Investigação do padrão de distribuição do
briozoário cosmopolita *Zoobotryon verticillatum*
(Ctenostomata, Vesiculariidae), através de dados
moleculares

Investigation of the distribution pattern of the
cosmopolitan bryozoan *Zoobotryon verticillatum*
(Ctenostomata, Vesiculariidae), using molecular
data

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

Orientador: Alvaro Esteves Migotto

São Paulo

2015

Nascimento, Karine Bianca

Investigação do padrão de distribuição do briozoário cosmopolita *Zoobotryon verticillatum* (Ctenostomata, Vesiculariidae) através de dados moleculares.

97 páginas

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

1. Bryozoa 2. Bioinvasão 3. Genética de populações. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr.

Alvaro Esteves Migotto

Ao meu pai,
Meu primeiro mestre.

Depende daquele que passa
Que eu seja tumba ou tesouro
Que eu fale ou me cale
Isso só depende de você
Amigo, não entre sem desejo.

Paul Valéry

Agradecimentos

Sou imensamente grata àqueles que permitiram que este trabalho se realizasse:

À Karin Fehlauer-Ale, a maior colaboradora desta pesquisa, por todos os ensinamentos durante os últimos anos, por toda dedicação, paciência e incentivo. Por ter me permitido fazer parte da sua equipe de trabalho e me mostrado o quão maravilhoso e intrigante é a área da biologia molecular. Sem ela esse projeto não teria se tornado possível.

Ao professor Alvaro Migotto, pela orientação e pela riquíssima oportunidade que me concedeu ao me permitir realizar este projeto. Pelas calmas conversas durante o desenvolvimento deste trabalho, as quais foram tão importantes pro meu crescimento pessoal e acadêmico.

Ao Instituto de Biociências (IB-USP), pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia, no qual esse mestrado foi realizado e ao Centro de Biologia Marinha (CEBIMar-USP), pela infraestrutura na qual esse projeto foi desenvolvido.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida a mim (Processo: 130112/2013-5) e ao Programa de Excelência Acadêmica (PROEX), do Programa de Pós-Graduação em Zoologia, pela verba disponibilizada aos custos de coleta e material de laboratório.

Ao Bruno Sayão, por ter me incentivado desde o início a ingressar neste mestrado, e por toda a cooperação que me ofereceu, sobretudo, nas coletas de espécimes.

Ao Leandro Vieira, por ser sempre tão solícito em todo o tipo de ajuda que eu precisasse e pela contribuição em algumas despesas.

Ao Marcelo Kitahara e à Kátia Capel, pelas dicas e auxílios no laboratório, sobretudo com a tentativa de amplificar o genoma mitocondrial do briozoário deste projeto.

Ao Rodolfo Petersen e à Daniele Hemmer, por terem me recebido tão bem em seu laboratório e me ensinado valiosas técnicas acerca de sequenciamento de microssatélites.

Aos pesquisadores Carlo Cunha, Chiara Lombardi, Cláudio Tiago, Etienne Clavico, Judith Winston, Kevin Tilbrook, Larissa Santos, María Tovar-Hernández, Oscar Reverter-Gil, Rafael Duarte e Rosana Rocha, pela colaboração nas coletas e/ou pela doação de espécimes.

Aos meus pais, Tadeu Nascimento e Adriana Santos, pelos ensinamentos que me fizeram ser quem sou e chegar até aqui com objetividade e clareza.

Ao meu avô, Clóvis Nascimento, por toda a confiança que tem depositado em mim, e por toda a ajuda que me ofereceu nesse período.

Aos meus tios, Miriam Nascimento e Fúlvio Delicato, e ao meu primo, Gabriel Delicato, pelas estadias em São Paulo nos períodos de seleção e de disciplinas, e por todo o carinho e conforto que me proporcionaram durante os dias em que me receberam.

Aos amigos, Anna Carolina Chaaban, Jaqueline Siquitelli, Katherine Amorim, Lydian Costa, Lícia Sales, Mariana Bueno, Nilvea Ramalho e Rafael Duarte, por (mesmo algumas estando geograficamente tão distantes) estarem sempre tão presentes, seja com uma ajudinha extra ou com uma energia positiva que, sem dúvida, contribuiu para que esse trabalho fosse um sucesso.

E ao meu querido, Johnny, por ter sido sempre tão companheiro e compreensivo e pelo amor extraordinário que me ofereceu todos os dias.

A todos vocês, muitíssimo obrigada!

Sumário

Introdução	1
Objetivos	11
Materiais e Métodos	12
Aquisição de exemplares	12
Obtenção de sequências de DNA	13
Análise de dados	14
Alinhamentos	14
Genética de populações	15
Análises filogenéticas	19
Expansão dos registros de ocorrência	21
Obtenção de sequências de DNA	22
Genética populacional	23
Frequências e redes haplotípicas	23
Diversidade genética populacional	31
Testes de desvio de neutralidade e diferenciação genética entre populações	36
Análises filogenéticas	41
Discussão	46
Registros de ocorrência e dados biológicos	46
Distribuição em larga escala de <i>Zoobotryon verticillatum</i>	47
Genética populacional	49
Sucesso de introdução em larga escala	53
Considerações finais	54
Referências bibliográficas	55
Resumo	72
Abstract	73
Anexos	74

Introdução

O filo Bryozoa (=Ectoprocta) é representado por invertebrados aquáticos, bentônicos e coloniais, formados por zooides que podem ser polimórficos, com funções distintas (MCKINNEY & JACKSON, 1991). Os briozoários ocupam uma variedade de habitats nas regiões entremarés até águas profundas em todos os oceanos (AMINI *et al.*, 2004; BARNES & GRIFFITHS, 2008; KUKLINSKI & BARNES, 2010) e também são frequentemente encontrados sobre estruturas e materiais decorrentes de atividades humanas (VIEIRA, 2008; WINSTON & VIEIRA, 2013).

O padrão de distribuição das espécies do filo é bastante variável: enquanto muitas são aparentemente endêmicas a determinadas regiões – o que seria esperado uma vez que a maioria das espécies possui capacidade dispersiva restrita e apenas durante a fase larval –, várias são aparentemente cosmopolitas (MACK *et al.*, 2000).

Zoobotryon verticillatum (delle Chiaje, 1822) (Gymnolaemata, Ctenostomata, Vesiculariidae) é um briozoário cujas colônias são formadas por estolões grossos, não calcificados e translúcidos, que apresentam um característico padrão de ramificação trifurcada; chegam a um metro de comprimento nos primeiros seis a oito meses de vida, podendo atingir cerca de quatro metros de comprimento (WINSTON, 1995; AMAT & TEMPERA, 2009). Os estolões são flexíveis, porém a turgidez dos mesmos garante à colônia um aspecto ereto quando submersa. A extremidade distal de cada estolão origina outros estolões tricotomicamente, sendo esta a principal característica que define o gênero; no entanto, não são raras as vezes em que podemos observar um estolão dando origem a dois, quatro e até cinco ramos (MARCUS, 1937; observação pessoal). Os zooides se dispõem em duas fileiras opostas ao longo dos estolões. A coloração geral das colônias é esbranquiçada, mas a deposição de sedimento e detritos e o crescimento de algas e outros organismos sobre a cutícula dos estolões podem deixá-las com uma coloração parda ou marrom-esverdeada (REICHERT, 1870; ZIRPOLO, 1933; MARCUS, 1937; WINSTON, 1995; INGLIS *et al.*, 2005) (Figuras 01 e 02).

Figura 01: Desenho esquemático de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822). A – Aspecto da porção distal da colônia; B – Detalhe do estolão com zooides. Adaptado de PRENANT & BOBIN (1956).

Figura 02: Fotografias de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822). A – Detalhe da colônia; B – Detalhe do estolão com zooides; C – Colônia crescendo sobre pilastra de píer, Ilhabela (SP); D – Colônias em costão rochoso durante maré baixa, Baía do Araçá, São Sebastião (SP).

A espécie é hermafrodita e se reproduz sexuada e assexuadamente. Na reprodução sexuada, uma larva coronada lecitotrófica ciliada é formada (SANTAGATA, 2008a). *Zoobotryon verticillatum* também pode se propagar por meio de fragmentos de ramos flutuantes contendo tecido vivo, que possivelmente são transportados pelas correntes marinhas e têm a capacidade de originar uma nova colônia sob condições ambientais adequadas (WATERS, 1910; ZIRPOLO, 1933; MARCUS, 1937; BULLIVANT, 1968). Os mecanismos de dispersão antrópica aventados podem estar associados ao transporte de colônias via cascos de embarcações (*e.g.* CALRTON & ELDREDGE, 2009; WIRTZ & CANNING-CLODE, 2009) e/ou quando os adultos estão fixados a detritos flutuantes provenientes de ação humana que ficam à deriva nos oceanos. No entanto, o transporte pelas correntes de colônias sobre detritos foi observado apenas em outros briozoários (*e.g.* WINSTON, 1982) que não *Z. verticillatum*.

As colônias de *Z. verticillatum* crescem tanto sobre superfícies naturais (*e.g.* rochas, conchas, ascídias, tubo de poliquetas, aglomerações de esponjas e algas) como artificiais (*e.g.* casco de embarcações, estruturas de concreto de portos e atracadouros, tubulações submarinas e boias). A espécie é reportada como de ocorrência sazonal, surgindo e crescendo rapidamente, sumariamente nos meses de verão, desaparecendo ou se reduzindo a colônias menores no inverno, tendo crescimento ideal em temperaturas acima de 22°C (WATERS, 1910; BULLIVAN, 1968; WINSTON, 1995; ABDEL-SALAM & RAMADAN, 2008; FARRAPEIRA, 2011).

COLLEMAN (1999) reportou *Z. verticillatum* em campos de sal no sul da Austrália, onde a salinidade chega a 40-56 g/L (contra a média de 33-37 g/L dos oceanos, segundo MAMAYEV, 1975), mencionando a espécie como uma “erva daninha” que cresce abundantemente, formando grandes colônias no local. Em contrapartida, WINSTON (1995) reportou a espécie crescendo em populações muito grandes em salinidade inferior a 30 g/L em um manguezal na Flórida (EUA).

As colônias também podem servir como abrigo ou suporte para crescimento de inúmeros organismos, tais como algas, crustáceos, nudibrânquios, hidrozoários, briozoários, poliquetas e outros (*e.g.* COLLEMAN, 1999; RAMALHO *et al.*, 2011; BHAVE & APTE, 2012; MINCHIN *et al.*, 2012; observação pessoal). Apesar disso, por possuir metabólitos secundários em seus tecidos, possivelmente como mecanismo

de defesa contra predação (SATO & FENICAL, 1983; ORTEGA *et al.*, 1993; SHARP *et al.*, 2007; YEDUKONDALA & SARMA, 2013; TAMSOURI *et al.*, 2014), aparentemente *Z. verticillatum* não é uma fonte de alimento para outros organismos, salvo para alguns moluscos, como espécies do gênero *Okenia* (Gastropoda, Nudibranchia) (*e.g.* ROBINSON, 2000; PEREIRA *et al.*, 2012). Além de utilizar a colônia como proteção contra predadores, local de postura de ovos e alimento, moluscos podem assimilar e reter em seu corpo as substâncias produzidas pelo animal e usá-las como mecanismo próprio de defesa (ROBINSON, 2000; PEREIRA *et al.*, 2012).

Embora muitos briozoários sejam em geral competidores ineficientes por espaço (MCKINNEY & JACKSON, 1991), *Z. verticillatum* pode causar danos ecológicos devido à sua capacidade de expansão, cobrindo e asfixiando a fauna local (WILLIAMS, 2007; AMAT & TEMPERA, 2009) (Figura 02 - C e D). Dentre os prejuízos econômicos, os mais conhecidos estão relacionados ao crescimento em partes submersas de embarcações e equipamentos pesqueiros, impactando negativamente a atividade de pesca, além de obstrução de tubulações e instalações marinhas industriais costeiras (*e.g.* HIPÓLITO *et al.*, 2010; FARRAPEIRA, 2011).

DELLE CHIAJE (1822) descreveu *Z. verticillatum* como *Hyalosiphonia verticillatus* (delle Chiaje, 1822), reportando-a como uma nova espécie de alga para região de Nápoles, Itália; porém, apenas seis anos mais tarde, o mesmo autor reconheceu a espécie como um animal, classificando-a como um hidrozoário (Hydrozoa, Cnidaria) e nomeando-a *Hydra verticillata* delle Chiaje, 1828 (DELLE CHIAJE, 1828).

No entanto, outros autores (REICHERT, 1870; DE-TONI, 1889; WATERS, 1910; ZIRPOLO, 1921) reportaram que a primeira citação deste briozoário poderia ter ocorrido em 1807 para a região de Andaluzia, Espanha, por Simón de Roxas Clemente y Rubio, com base nas descrições morfológicas que este autor fez acerca da nova espécie de alga que registrou em sua obra “Ensayo sobre las variedades de la vid comum que vegetan en Andalucía”, como *Ulva intricata* Clemente, 1807 (CLEMENTE, 1807). Por algum tempo a coleção de Clemente ficou perdida, e com ela a confirmação desta informação. Somente no final do século passado, durante uma reorganização da obra de Clemente (CREMADES, 1990), a coleção foi encontrada no Real Jardim Botânico de Madri (FERNÁNDEZ-PULPEIRO *et al.*, 1992; UNGARTE,

1993). Em meados de 1990, FERNÁNDEZ-PULPEIRO *et al.* (1992) puderam fazer uma análise comparativa de um lectótipo dessa coleção, observando que a espécie descrita em 1807 se tratava realmente de *Z. verticillatum*. Por fim, com essa informação, a localidade do primeiro registro da espécie mudou para a região de Andaluzia. Porém, segundo o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1999) que rege sobre o princípio da prioridade, o nome *Zoobotryon verticillatum* tem precedência sobre o sinônimo sênior *U. intricata*, por ter sido amplamente utilizado em publicações nos últimos 50 anos por um grande número de autores (ICZN, 1999 artigo 23.9.1.2; <http://iczn.org/iczn/index.jsp>).

AGARDH (1824) incluiu a espécie *U. intricata* descrita por Clemente no gênero *Valonia* (Algae), denominando-a *Valonia intricata* Agardh, 1824. QUOY & GAIMARD (1824) também descreveram a espécie como uma nova alga, chamando-a de *Dedalaea mauritana* Quoy & Gaimard, 1824. Em 1831, EHRENBURG reconheceu a espécie como pertencente ao táxon Bryozoa e criou um gênero exclusivo para ela, o qual permanece aceito até hoje. *Zoobotryon pellucidus* Ehrenberg, 1831 foi o nome dado por Ehrenberg e amplamente usado pelos autores seguintes até DELLE CHIAJE (1841) reivindicar a autoria da espécie e sinonimizá-la com *Z. verticillatum*. Apesar disso, durante décadas após essa sinonização, vários autores continuaram citando a espécie com outros nomes ou descrevendo-a como nova. Sinônimos de *Z. verticillatum* que podem vir a ser encontrados na literatura são: *Ascothamnion intricatum* Kützinger, 1843, *Hyalosiphon verticillatus* Von Martens, 1844, *Ascothamnion trinitatis* Sonder, 1849, *Serialaria coutinhii* Müller, 1860, *Serialaria helenae* Giglioli, *Bowerbankia biserialis* Hincks, 1887, *Vesicularia bilateralis* Mac Gillivray, 1889 e *Zoobotryon pellucidum* Hauck, 1889 (JELLY, 1889; CARUS, 1893; BARROSO, 1912, 1915, 1922; ZIRPOLO, 1924; OSBURN, 1927, 1940; HASTINGS, 1927; GORDON, 1967).

Alguns autores têm reconhecido que os gêneros *Zoobotryon*, *Bowerbankia* Farre, 1837 e *Amathia* Lamouroux, 1812 são morfologicamente muito semelhantes entre si, apresentando uma série de características em comum, tanto na colônia adulta, quanto na fase larval (ZIMMER & WOOLLACOTT, 1993; SANTAGATA, 2008a, b; SOUTO *et al.*, 2011; GORDON & SPENCER-JONES, 2013). Recentemente, um estudo baseado em evidências moleculares indica que *Zoobotryon* e o gênero

Bowerbankia devem ser considerados como sinônimos juniores de *Amathia* (WAESCHENBACH *et al.*, submetido).

Zoobotryon verticillatum tem distribuição circuntropical-temperada. A Figura 03 indica os locais onde a espécie foi registrada. A Tabela 01 é complementar à Figura 03, e elenca os autores, datas e localidades de registro da espécie.

Na costa do Brasil, *Z. verticillatum* foi registrada inicialmente para o litoral de Santa Catarina como *Serialaria coutinhii* Müller, 1860, sendo descrita como uma espécie de briozoário abundante na região (MÜLLER, 1860, 1861). Posteriormente, MARCUS (1937, 1938) reportou a espécie para as costas dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro como *Z. pellucidum*, descrevendo seu modo de crescimento, sua capacidade de dispersão e a habilidade de incrustar cascos de navios, supondo que a sua distribuição fosse possivelmente resultante do tráfego marítimo. Recentemente, *Z. verticillatum* foi registrada para os litorais dos estados do Rio Grande do Norte (FARRAPEIRA, 2011), Pernambuco (FARRAPEIRA *et al.*, 2008), Alagoas (VIEIRA, 2008),

Figura 03: Distribuição mundial de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822). Legenda: Asterisco - primeiros registros em 1807 (CLEMENTE) e 1822 (DELLE CHIAJE). Círculo - registros posteriores em publicações, desde o século XIX até atualmente. Quadrado - localizações obtidas pela primeira vez no presente trabalho.

Tabela 01: Registros de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), com as localidades de ocorrência, regiões e províncias biogeográficas e referências bibliográficas.

Regiões biogeográficas e Províncias ¹	Locais de registro	Referência
Atlântico Norte Temperado		
Atlântico Noroeste Temperado	EUA: Texas	GOSSET (2004)
Lusitânia	Portugal: Açores, Ilha da Madeira	AMAT & TEMPERA (2009); WIRTZ & CANNING-CLODE (2009)
	Espanha: Andaluzia, Galícia, Ilhas Canárias	CLEMENTE (1807); FERNÁNDEZ-PULPEIRO <i>et al.</i> (1992); SOUTO <i>et al.</i> (2010); OLENIN & MINCHIN, (2011); MINCHIN, (2012); MINCHIN <i>et al.</i> (2012)
	Marrocos	TAMSOURI <i>et al.</i> (2014)
Mar Mediterrâneo	Espanha: Ilhas Baleares, Valência	BARROSO (1912, 1915); CALVET (1927); RIES & SCHOLZEL (1934)
	Itália: Gênova, Nápoles, Palermo, Trieste, Veneza	DELLE CHIAJE (1822, 1828); VON MARTENS (1844); REICHERT (1870); PERGENS (1889); RELINI (1966); ARDIZONE & RIGGIO (1981); OCCHIPINT-AMBROGI (2000); CORRIERO <i>et al.</i> (2007)
	França	JOLIET (1888); PRENANT & BOBIN (1956); KIT (1972)
	Síria	GAUTIER (1956)
	Tunísia	ANTIT (2011)
	Israel	LIPKIN & SAFRIEL (1971); GALIL & GEVILI (2014)
	Egito	HATINGS (1927); O'DONOGHUE & DE WATTEVILLE (1939); MEGALLY (1970); EL KOMI (1991, 1992, 1998); ABDEL-SALAN & RAMADAN (2008)
Atlântico Tropical		
Atlântico Noroeste Tropical	EUA: Flórida	OSBURN (1912); WINSTON (1982, 1995, 2009); BINGHAM (1992); ROBINSON (2000); WALTERS & ABGRALL (2000)
	Reino Unido: Ilhas Bermudas	SMALLWOOD (1910)
	Belize	WINSTON (2008)
	Jamaica	CREARY (2002)
	Porto Rico	OSBURN (1940)
	Venezuela	OSBURN (1927)
Atlântico Sudoeste Tropical	Brasil: Rio Grande do Norte, Pernambuco, Bahia, Rio de Janeiro	MARCUS (1938); JUNQUEIRA <i>et al.</i> (2004); KELMO <i>et al.</i> (2004); VIEIRA <i>et al.</i> (2008); FARRAPEIRA <i>et al.</i> , (2008); RAMALHO <i>et al.</i> (2011); PEREIRA <i>et al.</i> (2012)
Transição do Oeste Africano	Cabo Verde	OSBURN (1912); WATERS (1918)
Golfo da Guiné	Gana	COOK (1985)

América do Sul Temperada		
Atlântico Sudoeste Temperado Quente	Brasil: São Paulo, Santa Catarina	MÜLLER (1860); MARCUS (1937); MIGOTTO & WINSTON (2005); VIEIRA <i>et al.</i> (2008; 2014); FEHLAUER-ALE <i>et al.</i> (2011);
Indo-Pacífico Ocidental		
Mar Vermelho e Golfo de Aden	Canal de Suez	HASTINGS (1927); RAMADAN (1986)
	Mar Vermelho	EHRENBERG (1828); WATERS (1910)
Oceano Índico Ocidental	Seicheles	IKIN & DOGLEY (2005)
	Tanzânia	OSBURN (1912); WATERS (1914)
Plataforma do Oeste e Sul Indianos	Índia: Maharashtra	GAONKAR <i>et al.</i> (2010); SWAMI & UDHAYAKUMAR (2010); BHAVE & APTE (2012)
Baía de Bengala	Índia: Baía de Bengala	ROBERTSON (1921); GANAPHATHI & SATYANARAYANA (1968); MENON (1972); SATYANARAYANA & GANAPHATHI (1978); YEDUKONDALA & SARMA (2013)
Indo-Pacífico Central		
Mar do Sul da China	China ²	LI (1983)
Triângulo de Corais Ocidental	Japão ³	ROBERTSON (1921); MAWATARI & MAWATARI (1986); NANDAKUMAR (1996)
	Filipinas	OSBURN (1912)
Pacífico Sudoeste Tropical	Austrália: Queensland	TILBROOK (2012)
	Nova Caledônia	PHILIPPS (1889)
Indo-Pacífico Oriental		
Havaí	EUA: Havaí	EDMONDSON & INGRAN (1939); ROBERTSON (1921); SOULE & SOULE (1968); GODWIN (2003); CARLTON & ELDREDGE (2009)
	Atol Palmyra ⁴	KNAPP <i>et al.</i> (2011)
Australasia Temperada		
Sul da Nova Zelândia	Nova Zelândia	MORTON & MILLER (1968); GORDON & MAWATARI (1992); CRANFIELD <i>et al.</i> (1998); INGLIS <i>et al.</i> (2005); FLOERL <i>et al.</i> (2009)
Plataforma Australiana Sudeste	Austrália: Victoria, Sidney	WHITELEGGE (1889); BROCK (1985); COLLEMAN (1999); HEWITT <i>et al.</i> (2004)
Pacífico Norte Temperado		
Pacífico Nordeste Temperado Quente	EUA: Califórnia	ROBERTSON (1921); SOULE (1963); BULLIVANT (1968); SATO & FENICAL (1983); COHEN & CARLTON (1995); RUIZ <i>et al.</i> (2000); ELKHORN (2002); WILLIAMS (2007)
	México: Mar de Cortez	SOULE (1963); ALVAREZ-LÉON & BANTA (1984)

¹localidades com base em SPALDING *et al.* (2007); ²⁻³ localidades não citadas nos artigos; ⁴província não registrada em SPALDING *et al.* (2007).

Bahia (KELMO *et al.*, 2004), Rio de Janeiro (JUNQUEIRA *et al.*, 2004; VIEIRA *et al.*, 2008; RAMALHO *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012) e São Paulo (MIGOTTO & WINSTON, 2005; VIEIRA *et al.*, 2008, 2014; FEHLAUER-ALE *et al.*, 2011).

Alguns autores consideram que *Z. verticillatum* é possivelmente nativa do Oceano Atlântico Tropical (WILLIAMS, 2007), Caribe (GALIL & GEVILI, 2014), Arquipélago havaiano (GODWIN, 2003) ou Mar Mediterrâneo (CRANFIELD *et al.*, 1998). Por outro lado, muitos outros autores têm sugerido que a espécie é invasora nos EUA (*e.g.* RUIZ *et al.*, 2000; ELKHORN, 2002; GOSSET, 2004), Havaí (CARLTON & ELDREDGE, 2009), Austrália (HAYES *et al.*, 2005; TILBROOK, 2012) e Nova Zelândia (INGLIS *et al.*, 2005).

Espécies naturalmente distribuídas em larga escala, como *Z. verticillatum*, têm sido consideradas cosmopolitas. Embora frequentemente o cosmopolitismo esteja associado a vetores antropogênicos, que possibilitam o transporte por longas distâncias e a expansão além dos limites de distribuição natural de certas espécies (MACKIE *et al.*, 2006), com base na literatura atual é difícil concluir que essa é a explicação para a ampla distribuição de *Z. verticillatum*.

A compreensão do padrão de distribuição de espécies marinhas invasoras e introduzidas pode se dar através de análises de sequências de DNA (*e.g.* HOLLAND, 2000), que atualmente constituem uma importante ferramenta para estudos populacionais e taxonômicos.

O DNA mitocondrial (mtDNA) tem sido fundamental para o desenvolvimento da filogeografia em nível populacional (*e.g.* BALLARD & WHITLOCK, 2004; HARTL & CLARK, 2010), pois i) o seu modo de herança majoritariamente unicamente materno (não possibilitando recombinações); ii) as geralmente altas taxas de evolução, se comparadas aos genes nucleares; e iii) os extensos polimorfismos intraespecíficos nos permitem considerá-lo um marcador ideal para inferências sobre estrutura populacional e história populacional recente (AVISE *et al.*, 1987; BALLARD & WHITLOCK, 2004; HARTL & CLARK, 2010). Na prática, o mtDNA também é uma molécula fácil de ser amplificada, já que é haploide, apresenta múltiplas cópias dentro de uma célula, não possui íntrons e as regiões intragênicas são muito pequenas (GALTIER *et al.*, 2004).

Nos últimos 15 anos, pesquisas baseadas em dados moleculares têm sugerido que algumas espécies de briozoários, até então tidas como cosmopolitas, representam complexos de espécies crípticas com padrões de distribuição mais restritos (*e.g.* DAVIDSON & HAYGOOD, 1999; HOARE *et al.*, 2001; MCGOVERN & HELLBERG, 2003; MACKIE *et al.*, 2006, 2012; NIKULINA *et al.*, 2007; SCHWANINGER, 2008; LÁRUSON *et al.*, 2012; FEHLAUER-ALE *et al.*, 2014), em alguns casos incluindo linhagens invasoras ou introduzidas (SCHWANINGER, 1999; MACKIE *et al.*, 2012) como, por exemplo, *Watersipora subtorquata* (d'Orbigny 1852), *Watersipora arcuata* (Banta 1969) (MACKIE *et al.*, 2006; 2012) e *Bugula neritina* (Linnaeus, 1758) (FEHLAUER-ALE *et al.*, 2014). Estes estudos têm o potencial de trazer novos *insights* sobre padrões biogeográficos e fenômenos evolutivos, incluindo o cosmopolitismo e os impactos antrópicos sobre a distribuição das espécies (NIKULINA *et al.*, 2007).

Neste contexto, análises moleculares podem revelar se as populações de *Z. verticillatum* globalmente distribuídas perfazem uma única espécie dispersada por ação antropogênica, ou se representam um complexo de espécies crípticas indistinguíveis morfológicamente, mas com distintos padrões de distribuição.

Objetivos

- Investigar o padrão de distribuição do briozoário *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) em ampla escala, com enfoque ao longo da costa brasileira, considerando sequências de DNA dos genes mitocondriais citocromo c oxidase subunidade 1 região 3' (COI-3P) e 16S rDNA (16S).
- Determinar se a espécie representa uma única linhagem globalmente distribuída ou se é composta por um complexo de espécies crípticas com distintos padrões de distribuição.

Materiais e Métodos

Aquisição de exemplares

A coleção de exemplares formada durante este projeto conta com 211 colônias de *Zoobotryon verticillatum* oriundas de coletas realizadas pela equipe do Laboratório de Bryozoa do Centro de Biologia Marinha da USP (CEBIMar-USP) e de doações feitas por colaboradores. Coletas foram realizadas nos seguintes estados da costa brasileira: Ceará (setembro/2011), Rio Grande do Norte (dezembro/2013), Paraíba (fevereiro/2013), Pernambuco (fevereiro/2013), Bahia (novembro/2013), Espírito Santo (dezembro/2012), Rio de Janeiro (outubro e dezembro/2012), São Paulo (novembro e dezembro/2009; agosto/2011; abril, julho, agosto e novembro/2012; janeiro/2013; janeiro/2014) Paraná (setembro/2009) e Santa Catarina (março e outubro/2013). Adicionalmente, diversos pesquisadores doaram espécimes coletados nos EUA, México, Espanha, Itália e Austrália (Figura 04).

As colônias obtidas pela equipe do Laboratório de Bryozoa foram coletadas manualmente, durante marés baixas ou por meio de mergulho livre ou autônomo, em substratos rochosos e arenosos e suportes artificiais e naturais de regiões entremarés, sob licença para coleta SISBIO número 19936-2.

Foram coletados, sempre que possível, entre 05 e 15 colônias por ponto amostral, as quais foram imediatamente fixadas em etanol 70%. Em laboratório, todas as amostras foram analisadas sob microscópio binocular para identificação e limpeza. Em seguida, foram individualmente transferidas para tubos contendo etanol 92-100% e etiquetadas.

Parte da coleção de espécimes será depositada no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), enquanto outra parte será mantida no CEBIMar ou doada para outras coleções zoológicas.

Os Anexos 01 e 02 apresentam as listas dos materiais estudados durante o projeto e dos dados moleculares obtidos, respectivamente.

Obtenção de sequências de DNA

As etapas de extração a preparo de reações para sequenciamento foram realizadas nas dependências do Laboratório de Genética Molecular do CEBIMar-USP. Extrações foram feitas a partir de fragmentos de estolões contendo zooides, dando-se extrema preferência às partes distais destes, onde, normalmente, se apresentam livres de detritos e organismos epibiontes associados. Os *kits* utilizados nas extrações do DNA genômico (gDNA) total foram *DNeasy Blood and Tissue Kit* (QIAGEN), *illustra Tissue & Cells genomicPrep Mini Spin Kit* (GE Healthcare) e *InstaGene™ Matrix* (Bio-Rad), sendo este último utilizado somente quando as extrações com os *kits* anteriores falharam. Os protocolos seguidos foram os originais informados pelos fabricantes dos *kits*.

Segmentos de dois genes do DNA mitocondrial foram amplificados: COI-3P (~620 pb) e 16S (~927 pb). As PCRs foram feitas usando o kit *illustra PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads* (GE Healthcare) para um volume final de 25µl de cada reação. Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) e as condições dos ciclos da PCR utilizados foram os descritos em WAESCHENBACH *et al.* (2012), conforme a seguir:

Para o COI-3P (*primer fwd* *cox1F_prifi* 5'-TTGRTTYTTTGGWCAYCCHGAAG-3'; *primer rev* *cox1R_prifi* 3'-TCHGARTAHCGNCGNGGTATHCC-5'), as condições foram: i) denaturação inicial, 94°C – 3m; ii) 35x denaturação, 94°C – 30s; anelamento, 53°C – 30s; extensão, 72°C – 1m; iii) extensão final, 72°C – 10m.

Para o 16S (*primer fwd* *Bryozoa_16SF* 5'-TSKWCCYTGTGTATSATGG-3'; *primer rev* *Bryozoa_16SR* 3'-ARTCCAACATCGAGGT-5'), as condições foram: i) denaturação inicial, 94°C – 3m; ii) 40x denaturação, 94°C – 30s; anelamento, 43°C – 30s; extensão, 72°C – 1m; iii) extensão final, 72°C – 10m.

Foram utilizados 1-2µl do produto de cada PCR para observação dos resultados das amplificações, através de corrida em gel de agarose em concentração de 1,5% em tampão TAE ou TBE. Os géis foram observados sob luz ultravioleta em aparelho *UVP UV Transilluminator* (Benchtop) e fotografados utilizando câmera fotográfica Canon PC1210. O tamanho dos fragmentos amplificados e a quantidade gerada de produto foram estimados através de *GeneRuler DNA Ladder* 1kb (Thermo Scientific). Quando necessário, as quantificações também foram feitas em *NanoDrop 2000* (Thermo Scientific). Os produtos das PCRs positivas foram purificados com

illustra GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare). Os produtos da purificação foram reamplificados com os mesmos primers da PCR e marcados com fluoróforo, utilizando-se *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems); seguidamente, estas reações foram precipitadas com solução de etanol e ácido acético. As precipitações foram enviadas para o centro de sequenciamento do Departamento de Química da USP (SSDNA-IQUSP), onde foram processadas em um sequenciador *ABI PRISM® 3100GeneticAnalyzer* (HITACHI).

Os cromatogramas recebidos do centro de sequenciamento foram analisados no programa *CodonCode Aligner* (CodonCode Corporation) para a geração de consensos (*i.e.* sequências), a partir das fitas complementares *forward* e *reverse*. Os cromatogramas foram utilizados a fim de verificar a confiabilidade dos dados e editar eventuais discrepâncias entre as fitas complementares.

As sequências resultantes, previamente checadas através da ferramenta online BLAST (www.ncbi.nih.gov/BLAST/), foram depositadas no *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (para números de acesso ver Anexo 02), utilizando a plataforma do *BOLD Systems - Barcode of Life Database* (RATNASINGHAM & HEBERT, 2007) (<http://www.barcodinglife.com/>), como parte integrante da Rede Brasileira de Identificação Molecular de Organismos Marinhos (BrBOL) (<http://www.brbol.org/content/brbol-brazilian-barcode-life>; Pj2).

Análise de dados

Alinhamentos

As sequências foram importadas para o programa *Geneious®* 7.1.5 (DRUMMOND *et al.*, 2011) a fim de se obter o alinhamento final entre todas elas, separadamente para cada um dos genes. Os parâmetros utilizados para ambos os alinhamentos foram os *default* do programa: algoritmo de alinhamento = *Geneious*; matriz de custo = 65% de similaridade; penalidade de *gap* de abertura = 12; penalidade de *gap* de extensão = 3; alinhamento global com *gap* de extremidade livre; interações de mitocondrial de invertebrados disponível no *Geneious®* foi realizada, para verificar eventuais códons de parada para o gene codificador COI-3P, os quais não foram detectados. Subsequentemente, foi possível designar os

haplótipos para cada um dos alinhamentos obtidos através de inspeção visual no próprio *Geneious*[®].

Genética de populações

Duas estratégias distintas para inferir os grupos populacionais e as relações dentro e entre eles foram abordadas. A primeira levou em consideração as divisões geopolíticas tradicionais, ou seja, os municípios foram considerados como divisores populacionais (Tabela 02), de forma que o número amostral ficasse o mais balanceado possível entre os grupos populacionais. A outra estratégia aplicada baseou-se nas divisões geoecológicas descritas como ecorregiões em SPALDING *et al.* (2007): áreas que têm composição de espécies claramente homogênea e distinta das ecorregiões adjacentes, sendo suficientemente grandes para conter a história de vida ou processos ecológicos de espécies mais sedentárias, embora o endemismo não seja uma característica dessas regiões.

Ao se observar as Tabelas 02 e 03 e suas respectivas divisões, fica evidente que as populações inferidas através do primeiro método representam, em sua totalidade, populações menores que formam as populações maiores do método seguinte. Por esse motivo, no presente trabalho, a denominação “subpopulações” refere-se às populações das regiões geopolíticas restritas, ao passo que “metapopulações” refere-se às populações que abrangem uma maior escala geográfica, as ecorregiões, levando em consideração a estrutura geoecológica destas.

As relações entre os haplótipos foram investigadas por meio de redes construídas sob o critério de parcimônia no programa *TCS v1.21* (CLEMENTE *et al.*, 2000). Na construção da rede haplotípica para o gene codificador COI-3P, os *gaps* foram designados como dados faltantes (= *missing data*). Por outro lado, os *gaps* foram tratados como quinto estado de caráter para o 16S, uma vez que definem haplótipos para este gene, e muito provavelmente refletem a estrutura deste gene.

Comparações pareadas entre sequências a partir dos alinhamentos de cada gene foram conduzidas através do programa *DnaSP v5* (LIBRADO & ROZAS, 2009), com a finalidade de obter diferentes parâmetros estatísticos indicadores da diversidade genética das amostras. O número de sítios variáveis (S), número de

haplótipos (h), diversidade haplotípica (H_d) e diversidade nucleotídica P_i (π) foram obtidos para as amostras divididas nas populações previamente descritas acima.

Hipóteses de desvios de neutralidade resultantes de efeitos da seleção natural e/ou de alterações dos tamanhos populacionais foram testadas no programa *ARLEQUIN 3.1* (EXCOFFIER *et al.*, 2005), através dos testes D (TAJIMA, 1989) e F_s (FU, 1997). A significância estatística dos testes D e F_s ($P < 0,05$) foi calculada com base em 10.000 réplicas de simulações coalescentes. Através da AMOVA (*Analysis of Molecular Variance* - Análise de Variância Molecular; EXCOFFIER *et al.*, 1992), o grau de diferenciação e estruturação das populações foi examinado pelo do cálculo de valores do índice de fixação interpopulacional F_{ST} , cuja significância ($P < 0,05$) foi testada através de 10.000 réplicas de simulações coalescentes no *ARLEQUIN*. Divergências genéticas interpopulacionais significativas foram classificadas da seguinte forma, de acordo com WRIGHT (1978): de 0 a 0,05 – baixa; entre 0,05 e 0,15 – moderada; de 0,15 a 0,25 – alta e; maior que 0,25 – muito alta.

Tabela 02: Caracterização das subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822).

Legenda: n = número de indivíduos sequenciados para cada gene.

Subpopulações	Regiões geopolíticas	n COI-3P	n 16S
1	Fortaleza, CE, Brasil	2	2
2	Natal, RN, Brasil	10	9
3	Salvador, BA, Brasil	12	12
4	Ilha de Itaparica, BA, Brasil	8	8
5	Ilhéus, BA, Brasil	7	7
6	Vitória, ES, Brasil	14	13
7	Cabo Frio, RJ, Brasil	9	9
8	Arraial do Cabo, RJ, Brasil	10	10
9	Angra dos Reis, RJ, Brasil	10	10
10	Ubatuba, SP, Brasil	7	7
11	São Sebastião, SP, Brasil	36	35
12	Ilhabela, SP, Brasil	9	9
13	São Vicente, SP, Brasil	14	10
14	São Francisco do Sul, SC, Brasil	6	6
15	Penha, SC, Brasil	9	9
16	Porto Belo, SC, Brasil	8	8
17	Flórida, EUA	3	3
18	Savona, Itália	3	3
19	Ilhas Baleares, Espanha	2	2
20	Townsville, Austrália	7	7
Total		186	179

Tabela 03: Caracterização das metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822). Legenda: n = número de indivíduos sequenciados para o gene.

Metapopulações	Ecorregiões	Regiões geopolíticas	Províncias	Regiões biogeográficas	n COI-3P	n 16S
1'	Flórida	EUA: Flórida	Atlântico Noroeste Tropical	Atlântico Tropical	3	3
2'	Nordeste do Brasil	Brasil: Ceará, Rio Grande do Norte	Atlântico Sudeste Tropical		12	11
3'	Leste do Brasil	Brasil: Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro			70	69
4'	Sudeste do Brasil	Brasil: São Paulo, Santa Catarina	Atlântico Sudoeste Temperado Quente	América do Sul Temperada	89	84
5'	Mar Mediterrâneo Oeste	Itália: Savona Espanha: Ilhas Baleares	Mar Mediterrâneo	Atlântico Norte Temperado	5	5
6'	Mar de Coral	Austrália: Townsville	Pacífico Sudoeste Tropical	Indo-Pacífico Central	7	7
Total					186	179

Análises filogenéticas

Três análises filogenéticas foram realizadas: uma para cada gene individual e uma para os dados concatenados. Sequências de DNA representativas dos vesicularídeos *Bowerbankia* cf. *gracilis* Leydi, 1855 (GenBank COI-3P KM373577; 16S KM373505) e *Vesicularia spinosa* (Linnaeus, 1758) (GenBank COI-3P KM373583; 16S KM373509) foram utilizadas como terminais do grupo externo nas três análises.

Para a composição do grupo interno das análises para os genes individuais, as 188 sequências do COI-3P e 183 sequências do 16S foram consideradas. Seguidamente, apenas uma sequência representativa de cada haplótipo por gene (COI-3P, n=3; 16S, n=7) foi escolhida para compor o grupo interno (Tabela 04), a fim de não gerar terminais redundantes e, conseqüentemente, árvores muito grandes e de difícil visualização. Já para a composição do grupo interno da análise de COI-3P + 16S, as 10 combinações únicas entre os haplótipos foram consideradas (Tabela 04), a partir das 183 concatenações para amostras que foram sequenciadas para ambos os genes (Anexo 02).

Os alinhamentos de COI-3P e 16S foram separadamente analisados no programa jModelTest 2.1.4 (POSADA *et al.*, 2008) para a escolha do modelo evolutivo mais adequado para cada um, através do AIC (Akaike information criterion - critério de informação de Akaike; AKAIKE, 1973). Os modelos selecionados foram: GTR+G para o 16S e TVM+G para o COI-3P.

As análises filogenéticas foram realizadas através de inferência bayesiana (IB), utilizando o programa MrBayes v3.1.2 (HUELSENBECK & RONQUIST, 2001). Como o MrBayes não permite a entrada de todos os parâmetros indicados pelo jModelTest para cada modelo evolutivo, os seguintes parâmetros equivalentes foram utilizados, tanto para cada gene individual quanto para os dados concatenados: *Lset nst = 6; rates = gamma; ngammat = 4*.

Duas corridas com métodos de Monte Carlo via quatro cadeias de Markov (MCMC) foram utilizadas em cada análise, até o desvio padrão de frequências de divisão atingir valores abaixo de 0,01. Para todas as análises, 1.000.000 gerações amostradas a cada 100 foram utilizadas em cada corrida, com descarte de 25% como *burn-in*. Para os clados encontrados, probabilidades posteriores bayesianas (pp)

≥95% foram consideradas como alto suporte, e entre 50% e 94% como suporte moderado.

Tabela 04: Combinações dos haplótipos de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) utilizadas para inferir a árvore filogenética dos dados concatenados dos genes mitocondriais COI-3P e 16S.

Concatenação	Combinação de haplótipos (H) COI-3P+16S	Amostra utilizada	Regiões biogeográficas e Ecorregiões correspondentes
1	H1+H1	Z125	Atlântico Tropical: Flórida, Nordeste do Brasil, Leste do Brasil América do Sul Temperada: Sudeste do Brasil Atlântico Norte Temperado: Mar Mediterrâneo Oeste Indo-Pacífico Central: Mar de Coral
2	H1+H2	Z137	Atlântico Tropical: Nordeste do Brasil
3	H1+H3	Z87	Atlântico Tropical: Leste do Brasil
4	H1+H4	Z107	América do Sul Temperada: Sudeste do Brasil
5	H1+H6	Z123	Indo-Pacífico Central: Mar de Coral
6	H1+H7	Z202	Atlântico Norte Temperado: Mar Mediterrâneo Oeste
7	H2+H1	Z151	América do Sul Temperada: Sudeste do Brasil
8	H2+H5	Z124	Indo-Pacífico Central: Mar de Coral
9	H2+H6	Z44	Indo-Pacífico Central: Mar de Coral Pacífico Norte Temperado: Mar de Cortês
10	H3+H2	Z94	Atlântico Tropical: Leste do Brasil

Resultados

Expansão dos registros de ocorrência

Os registros prévios de ocorrência de *Zoobotryon verticillatum* na costa brasileira incluem os litorais dos estados do Rio Grande do Norte (FARRAPEIRA, 2011), Pernambuco (FARRAPEIRA *et al.*, 2008), Alagoas (VIEIRA, 2008), Bahia (KELMO *et al.*, 2004), Rio de Janeiro (MARCUS, 1938; JUNQUEIRA *et al.*, 2004; VIEIRA *et al.*, 2008; RAMALHO *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2012), São Paulo (MARCUS, 1937; MIGOTTO & WINSTON, 2005; VIEIRA *et al.*, 2008, 2014; FEHLAUER-ALE *et al.*, 2011) e Santa Catarina (MÜLLER, 1860) (Figura 03). Para este último estado, o único registro da espécie data do século XIX (MÜLLER, 1860), e desde então esta não foi mais reportada para o local novamente. No presente estudo, espécimes de *Z. verticillatum* foram coletados nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina (Figura 04, Anexo 01), sendo inéditos os registros para os estados do Ceará e Espírito Santo. A espécie não foi encontrada nos estados da Paraíba, Pernambuco e Paraná, embora esforços de coleta tenham sido efetuados em localidades dos litorais destes estados.

Todas as demais regiões amostradas fora do litoral brasileiro já haviam sido registradas na literatura: Flórida (EUA) (OSBURN, 1912), Golfo da Califórnia (México) (SOULE, 1963), Ilhas Baleares (Espanha) (CALVET, 1927), Savona (Itália) (RELINI, 1966) e Townsville (Austrália) (TILBROOK, 2012) (Figura 03, Tabela 01).

Os espécimes foram em geral encontrados em locais normalmente abrigados, como em regiões de baías e portos. Das 211 colônias obtidas, não foi possível obter dados específicos do substrato e/ou suporte amostrado para 34 espécimes. Para as demais, 51 foram coletadas em substrato rochoso, sendo que destas, 23 foram coletadas diretamente na rocha, 18 sobre algas fixadas a estas e 10 sobre a fauna associada. Dez colônias foram coletadas diretamente no sedimento arenoso. Em substratos artificiais, 116 colônias foram coletadas: 99 em pilastras de píeres, nove em boias de sinalização ou em suas cordas, sete em cascos de embarcações e flutuantes, e uma sobre pneu.

Figura 04: Distribuição amostral de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) no presente trabalho.

Obtenção de sequências de DNA

Para o COI-3P, 188 sequências com comprimento entre 499 e 585 pb foram obtidas, e três haplótipos foram identificados (Anexo 02). O comprimento final do alinhamento foi de 585 pb, incluindo *leading* e *trailing gaps*. Já para o 16S, 183 sequências foram obtidas, variando entre 712 e 841 pb e representando sete haplótipos (Anexo 02). O comprimento final do alinhamento foi de 959 pb, incluindo *gaps* de alinhamento e *leading* e *trailing gaps*. As sequências das amostras Z01 (GenBank COI-3P KM373584; 16S JF490050), Z02 (GenBank 16S JF490050) e Le1 (16S JF490050) foram retiradas de trabalhos anteriores (FEHLAUER-ALE *et al.*, 2011; WAECHENBACH *et al.*, submetido).

Das 211 amostras de tecido obtidas, 23 para o COI-3P e 28 para o 16S não puderam ser sequenciadas ou não resultaram em sequências *bona fide* (ver Anexo 02). De todas as 188 amostras sequenciadas, apenas cinco (Z55, Z64, Z67, Z70 e Z139) o foram somente para o COI-3P, sendo que todas as demais possuem sequências correspondentes para ambos os genes (Anexo 02).

Das amostras que resultaram em sequências *bona fide*, duas deixaram de ser representadas nas análises populacionais, pois o número amostral para a localidade (=01) foi insuficiente para caracterizar uma população. São elas: Z120 (Caraguatatuba, São Paulo, Brasil), que resultou no haplótipo 1 para ambos os genes, e Z156 (Golfo da Califórnia, Sonora, México), que resultou no haplótipo 6 para o COI-3P e no haplótipo 2 para o 16S (Anexo 02).

Outras duas amostras, Z71 (São Vicente, São Paulo, Brasil) e Z79 (Vitória, Espírito Santo, Brasil), também foram retiradas das análises populacionais do gene 16S, pois o sequenciamento destes espécimes resultou em um fragmento curto de DNA (~712 pb), excluindo ~100 pb da parte inicial 5', que poderia vir a definir qual seria o haplótipo dessas amostras.

Genética populacional

Frequências e redes haplotípicas

COI-3P: Em relação à amostragem total, o haplótipo 1 foi o mais frequente (95,1%) e amplamente distribuído, tendo sido encontrado em todas as localidades amostradas (Tabelas 05 e 06). Já os haplótipos 2 e 3 foram pouco frequentes e mais restritos geograficamente, representando 2,7% e 2,2% da amostragem total, respectivamente (Tabelas 05 e 06).

Considerando a divisão das amostras em subpopulações (regiões geopolíticas), o haplótipo 1 esteve presente em todas as localidades conforme mencionado acima, sendo distribuído em escala global. Este haplótipo também sempre foi o mais frequente, compondo todas as subpopulações monomórficas e a maioria das populações polimórficas, com exceção de Townsville (Austrália) (Figura 05; Tabela 05).

Diferindo por apenas um passo mutacional do haplótipo 1 e com distribuição geográfica mais restrita, o haplótipo 2 foi encontrado em Porto Belo (SC) e Townsville (Austrália), sendo mais frequente nesta última (57,1%) (Figura 05; Tabela 05). Já o haplótipo 3, diferindo do haplótipo 1 também por um passo mutacional, foi encontrado restrito à costa brasileira e sempre em menor frequência em relação ao haplótipo 1, nas subpopulações de Cabo Frio (RJ) e Vitória (ES) (Figura 05; Tabela 05).

Figura 05: Rede haplotípica das subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial COI-3P.

Figura 06: Rede haplotípica das metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial COI-3P.

Ao levar em consideração as metapopulações (ecorregiões), o haplótipo 1 também esteve presente em todas as localidades e foi o mais frequente em todas elas, excetuando-se o Mar de Coral (Austrália) (Figura 06; Tabela 06). O haplótipo 2 foi encontrado no Sudeste do Brasil (SC), com uma frequência baixa (1,2%) e, com a maior frequência, no Mar de Coral (57,1%). O haplótipo 3 foi encontrado somente no Leste do Brasil (ES, RJ) (5,7%) (Figura 06; Tabela 06).

Tabela 05: Composição e frequência haplotípica para as subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial COI-3P. Legenda: nt = número total de indivíduos; nx = número de indivíduos por haplótipo; nx% = frequência do haplótipo por subpopulação.

COI-3P			Haplótipo 1		Haplótipo 2		Haplótipo 3	
Subpopulações	Regiões geopolíticas	nt	n1	n1%	n2	n2%	n3	n3%
1	Fortaleza, CE	2	2	100	-	-	-	-
2	Natal, RN	10	10	100	-	-	-	-
3	Salvador, BA	12	12	100	-	-	-	-
4	Ilha de Itaparica, BA	8	8	100	-	-	-	-
5	Ilhéus, BA	7	7	100	-	-	-	-
6	Vitória, ES	14	13	92,9	-	-	1	7,1
7	Cabo Frio, RJ	9	6	66,7	-	-	3	33,3
8	Arraial do Cabo, RJ	10	10	100	-	-	-	-
9	Angra dos Reis, RJ	10	10	100	-	-	-	-
10	Ubatuba, SP	7	7	100	-	-	-	-
11	São Sebastião, SP	36	36	100	-	-	-	-
12	Ilhabela, SP	9	9	100	-	-	-	-
13	São Vicente, SP	14	14	100	-	-	-	-
14	São Francisco do Sul, SC	6	6	100	-	-	-	-
15	Penha, SC	9	9	100	-	-	-	-
16	Porto Belo, SC	8	7	87,5	1	12,5	-	-
17	Flórida, EUA	3	3	100	-	-	-	-
18	Savona, Itália	3	3	100	-	-	-	-
19	Ilhas Baleares, Espanha	2	2	100	-	-	-	-
20	Townsville, Austrália	7	3	42,9	4	57,1	-	-
Total		186	177	95,1	5	2,7	4	2,2

Tabela 06: Composição e frequência haplotípica para as metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial COI-3P. Legenda: Legenda: nt = número total de indivíduos; nx = número de indivíduos por haplótipo; nx% = frequência do haplótipo por metapopulação.

COI-3P			Haplótipo 1		Haplótipo 2		Haplótipo 3	
Metapopulações	Ecorregiões	nt	n1	n1%	n2	n2%	n3	n3%
1'	Flórida	3	3	100	-	-	-	-
2'	Nordeste do Brasil	12	12	100	-	-	-	-
3'	Leste do Brasil	70	66	94,3	-	-	4	5,7
4'	Sudeste do Brasil	89	88	98,8	1	1,2	-	-
5'	Mar Mediterrâneo Oeste	5	5	100	-	-	-	-
6'	Mar de Coral	7	3	42,9	4	57,1	-	-
Total		186	177	95,1	5	2,7	4	2,2

16S: Considerando a amostragem total, o haplótipo 1 foi o mais frequente (89,9%) e amplamente distribuído, encontrado em todas as localidades amostradas (Tabelas 07 e 08). Os outros seis haplótipos encontrados foram pouco frequentes e mais restritos geograficamente (de 0,5% a 2,7%) (Tabelas 07 e 08).

Para as subpopulações, o haplótipo 1 esteve presente em todos os pontos amostrais conforme mencionado anteriormente, evidenciando uma distribuição em escala global. Este haplótipo também foi o mais frequente, compondo todas as subpopulações monomórficas e a maioria das populações polimórficas, exceto para Savona (Itália) e Townsville (Austrália) (Figura 07; Tabela 07).

Diferindo dois passos mutacionais em relação ao haplótipo 1, o haplótipo 2 apresentou distribuição geográfica restrita à costa brasileira, sendo encontrado apenas em Natal (RN), Vitória (ES) e Cabo Frio (RJ). O haplótipo 3, diferindo do haplótipo 1 por um passo mutacional, foi encontrado somente em Vitória (ES). O haplótipo 4, também diferindo um passo em relação ao haplótipo 1, ficou restrito ao litoral paulista, em Ubatuba (SP) e Ilhabela (SP). O haplótipo 5, o mais diferenciado em relação ao haplótipo 1 com 3 passos mutacionais, foi encontrado somente em Townsville (Austrália). O haplótipo 6 também só foi encontrado em Townsville, sendo o mais frequente (57,1%) nesta subpopulação, e divergindo 2 passos mutacionais em relação ao haplótipo 1. Finalmente, o haplótipo 7, com um passo mutacional em relação ao haplótipo 1, só foi encontrado em Savona (Itália), sendo o haplótipo mais frequente nesta subpopulação (66,7%) (Figura 07; Tabela 07).

No que diz respeito às metapopulações, o haplótipo 1 esteve presente em todas as ecorregiões, só sendo o menos frequente para o Mar de Coral (Austrália) (28,6%) (Figura 08; Tabela 08). O haplótipo 2 foi encontrado no Nordeste (9,1%) (RN) e Leste (5,8%) (ES, RJ) do Brasil. Já os demais haplótipos (3 a 7) só foram encontrados para uma metapopulação cada, sendo haplótipos 5 (14,3%) e 6 (57,1%) ambos restritos ao Mar de Coral. Os haplótipos 3 e 4 ficaram restritos ao Leste (ES) (4,3%) e Sudeste (SP) (3,6%) do Brasil, respectivamente, e o haplótipo 7 ao Mar Mediterrâneo Oeste (Itália) (40,0%) (Figura 08; Tabela 08).

Figura 07: Rede haplotípica das subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial 16S.

Figura 08: Rede haplotípica das metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial 16S.

Tabela 07: Composição e frequência haplotípica para as subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial 16S.

Legenda: nt = número total de indivíduos na população correspondente; nx = nt = número total de indivíduos; nx = número de indivíduos por haplótipo; nx% = frequência do haplótipo por subpopulação.

16S			Haplótipo 1		Haplótipo 2		Haplótipo 3		Haplótipo 4		Haplótipo 5		Haplótipo 6		Haplótipo 7	
Subpopulações	Regiões geopolíticas	nt	n1	n1%	n2	n2%	n3	n3%	n4	n4%	n5	n5%	n6	n6%	n7	n7%
1	Fortaleza, CE	2	2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Natal, RN	9	8	88,9	1	11,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Salvador, BA	12	12	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Ilha de Itaparica, BA	8	8	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Ilhéus, BA	7	7	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Vitória, ES	13	9	69,3	1	7,7	3	23,0	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Cabo Frio, RJ	9	6	66,7	3	33,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Arraial do Cabo, RJ	10	10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Angra dos Reis, RJ	10	10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Ubatuba, SP	7	5	71,4	-	-	-	-	2	28,6	-	-	-	-	-	-
11	São Sebastião, SP	35	35	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Ilhabela, SP	9	8	88,9	-	-	-	-	1	11,1	-	-	-	-	-	-
13	São Vicente, SP	10	10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	São Francisco do Sul, SC	6	6	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Penha, SC	9	9	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Porto Belo, SC	8	8	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Flórida, EUA	3	3	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Savona, Itália	3	1	33,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	66,7
19	Ilhas Baleares, Espanha	2	2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Townsville, Austrália	7	2	28,6	-	-	-	-	-	-	1	14,3	4	57,1	-	-
Total		179	161	89,9	5	2,7	3	1,7	3	1,7	1	0,5	4	2,2	2	1,1

Tabela 08: Composição e frequência haplotípica para as metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial 16S.

Legenda: nt = número total de indivíduos; nx = número de indivíduos por haplótipo; nx% = frequência do haplótipo por metapopulação.

16S			Haplótipo 1		Haplótipo 2		Haplótipo 3		Haplótipo 4		Haplótipo 5		Haplótipo 6		Haplótipo 7	
Metapopulações	Ecorregiões	nt	n1	n1%	n2	n2%	n3	n3%	n4	n4%	n5	n5%	n6	n6%	n7	n7%
1'	Flórida	3	3	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2'	Nordeste do Brasil	11	10	90,9	1	9,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3'	Leste do Brasil	69	62	89,9	4	5,8	3	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-
4'	Sudeste do Brasil	84	81	96,4	-	-	-	-	3	3,6	-	-	-	-	-	-
5'	Mar Mediterrâneo Oeste	5	3	60,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	40,0
6'	Mar de Coral	7	2	28,6	-	-	-	-	-	-	1	14,3	4	57,1	-	-
Total		179	161	89,9	5	2,7	3	1,7	3	1,7	1	0,5	4	2,2	2	1,1

Diversidade genética populacional

COI-3P: Populações polimórficas para este gene foram detectadas em apenas quatro das 20 subpopulações consideradas: Vitória (ES) ($h=2$), Cabo Frio (RJ) ($h=2$), Porto Belo (SC) ($h=2$) e Townsville (Austrália) ($h=2$) (Tabela 09). As subpopulações de Cabo Frio (RJ) e Townsville (Austrália) foram as que apresentaram maior valor de π (0,001), sendo também de Townsville o maior valor de H_d (0,57) (Tabela 09).

Analisando as metapopulações, três das seis consideradas neste estudo são polimórficas: Leste do Brasil (ES, RJ) ($h=2$), Sudeste do Brasil (SC) ($h=2$) e Mar de Coral (Austrália) ($h=2$) (Tabela 10). A metapopulação do Mar de Coral foi a mais diversa geneticamente, apresentando os maiores valores de π (0,0012) e H_d (0,57) (Tabela 10).

16S: Não foi possível calcular os índices de diversidade nucleotídica considerando os *gaps* das sequências como um quinto estado do caráter, uma vez que o programa *ARLEQUIN* não os considera; por isso, esses dados foram calculados excluindo-se os mesmos da análise. Das 20 subpopulações, sete apresentaram polimorfismo para este gene: Natal (RN) ($h=2$), Vitória (ES) ($h=3$), Cabo Frio (RJ) ($h=2$), Ubatuba (SP) ($h=2$), Ilhabela (SP) ($h=2$), Savona (Itália) ($h=2$) e Townsville (Austrália) ($h=3$) (Tabela 11). Assim como para COI-3P, Cabo Frio e Townsville foram as que apresentaram um maior valor para π (0,001), sendo de Townsville e Savona os maiores valores encontrados para H_d (0,66) (Tabela 11).

Com exceção da Flórida (EUA), todas as metapopulações se apresentaram polimórficas para o 16S (Tabela 12). O Mar de Coral (Austrália) apresentou os maiores valores para H_d (0,66) e π (0,0014) (Tabela 12).

Tabela 09: Índices de diversidade genética e testes de desvio de neutralidade para as subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial COI-3P. Legenda: n, número de sequências; S, número de sítios polimórficos; h, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica; D, Teste de Tajima; Fs, Teste de Fu. Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Regiões geopolíticas: 1, Fortaleza (CE); 2, Natal (RN); 3, Salvador (BA); 4, Ilha de Itaparica (BA); 5, Ilhéus (BA); 6, Vitória (ES); 7, Cabo Frio (RJ); 8, Arraial do Cabo (RJ); 9, Angra dos Reis (RJ); 10, Ubatuba (SP); 11, São Sebastião (SP); 12, Ilhabela (SP); 13, São Vicente (SP); 14, São Francisco do Sul (SC); 15, Penha (SC); 16, Porto Belo (SC); 17, Flórida (EUA); 18, Savona (Itália); 19, Ilhas Baleares (Espanha); 20, Townsville (Austrália).

COI-3P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
n	2	10	12	8	7	14	9	10	10	7	36	9	14	6	9	8	3	3	2	7
S	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
h	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2
Hd	0	0	0	0	0	0,14	0,50	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0,57
π	0	0	0	0	0	0,0003	0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0005	0	0	0	0,001
D	0	0	0	0	0	-1,15	0,98	0	0	0	0	0	0	0	0	-1,05	0	0	0	1,34
Fs	0	0	0	0	0	-0,59	0,86*	0	0	0	0		0	0	0	-0,18	0	0	0	0,85

Tabela 10: Índices de diversidade genética e testes de desvio de neutralidade para as metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial COI-3P. Legenda: n, número de sequências; S, número de sítios polimórficos; h, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica; D, Teste de Tajima; Fs, Teste de Fu. Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Ecorregiões: 1', Flórida; 2', Nordeste do Brasil; 3', Leste do Brasil; 4', Sudeste do Brasil; 5', Mar Mediterrâneo Oeste; 6', Mar de Coral.

COI-3P	1'	2'	3'	4'	5'	6'
n	3	12	70	90	5	7
S	0	0	1	1	0	1
h	1	1	2	2	1	2
Hd	0	0	0,10	0,02	0	0,57
π	0	0	0,0002	0,00005	0	0,0012
D	0	0	-0,58	-1,04	0	1,34
Fs	0	0	-0,38	-2,12*	0	0,85

Tabela 11: Índices de diversidade genética e testes de desvio de neutralidade para as subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial 16S. Legenda: n, número de sequências; S, número de sítios polimórficos; h, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica; D, Teste de Tajima; Fs, Teste de Fu. Nenhum dos valores para os testes D e Fs foram estatisticamente significativos. Regiões geopolíticas: 1, Fortaleza (CE); 2, Natal (RN); 3, Salvador (BA); 4, Ilha de Itaparica (BA); 5, Ilhéus (BA); 6, Vitória (ES); 7, Cabo Frio (RJ); 8, Arraial do Cabo (RJ); 9, Angra dos Reis (RJ); 10, Ubatuba (SP); 11, São Sebastião (SP); 12, Ilhabela (SP); 13, São Vicente (SP); 14, São Francisco do Sul (SC); 15, Penha (SC); 16, Porto Belo (SC); 17, Flórida (EUA); 18, Savona (Itália); 19, Ilhas Baleares (Espanha); 20, Townsville (Austrália).

16S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
n	2	9	12	8	7	13	9	10	10	7	35	9	10	6	9	8	3	3	2	7
S	0	3	0	0	0	4	3	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	4
h	1	2	1	1	1	3	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	3
Hd	0	0,22	0	0	0	0,50	0,50	0	0	0,47	0	0,22	0	0	0	0	0	0,66	0	0,66
π	0	0,0006	0	0	0	0,0009	0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,001
D	0	-1,36	0	0	0	-0,89	1,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,16
Fs	0	1,31	0	0	0	0,43	3,00	0	0	0,58	0	-0,26	0	0	0	0	0	0,20	0	1,22

Tabela 12: Índices de diversidade genética e testes de desvio de neutralidade para as metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial 16S. Legenda: n, número de sequências; S, número de sítios polimórficos; h, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica; D, Teste de Tajima; Fs, Teste de Fu. Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Ecorregiões: 1', Flórida; 2', Nordeste do Brasil; 3', Leste do Brasil; 4', Sudeste do Brasil; 5', Mar Mediterrâneo Oeste; 6', Mar de Coral.

16S	1'	2'	3'	4'	5'	6'
n	3	11	69	84	5	7
S	0	3	4	1	1	4
h	1	2	3	2	2	3
Hd	0	0,18	0,19	0,06	0,60	0,66
π	0	0,0005	0,0004	0	0	0,0014
D	0	-1,42*	-0,98	0	0	1,16
Fs	0	1,13	0,17	-0,88	0,62	1,22

Testes de desvio de neutralidade e diferenciação genética entre populações

Os testes de desvio de neutralidade D e F_s não apresentaram resultados estatisticamente significativos para a maioria das subpopulações (Tabelas 09 e 11) e metapopulações analisadas (Tabelas 10 e 12), considerando ambos os genes. Entretanto, alguns valores estatisticamente significativos foram encontrados: $F_s = 0,86$ para o COI-3P, subpopulação de Cabo Frio (RJ) (Tabela 9); $F_s = -2,12$ para o COI-3P, metapopulação Sudeste do Brasil (Tabela 10); e $D = -1,42$ para o 16S, metapopulação Nordeste do Brasil (Tabela 12).

Os valores dos índices de F_{st} revelaram estrutura genética significativa entre distintos pares de populações, tanto polimórficas como monomórficas e para os dois genes analisados. Considerando a divisão das colônias amostradas em subpopulações, estrutura genética significativa muito alta (WRIGHT, 1978) foi encontrada ao longo do litoral brasileiro, entre São Sebastião (SP) e Cabo Frio (RJ) (COI-3P e 16S), São Sebastião (SP) e Ubatuba (SP) (16S), e Cabo Frio (RJ) e São Vicente (SP) (COI-3P) (Tabelas 13 e 14); e moderada entre São Sebastião (SP) e Vitória (ES) (16S).

Entretanto, as subpopulações que mais revelaram estrutura genética populacional relativa foram as de Savona (Itália) e Townsville (Austrália), todas com valores muito altos, segundo critério de WRIGHT (1978). Savona diferenciou-se geneticamente de outras nove subpopulações, apenas para o gene 16S (Tabela 14), incluindo: Natal (RN), Salvador (BA), Vitória (ES), Arraial do Cabo (RJ), Angra dos Reis (RJ), São Sebastião (SP), Ilhabela (SP), São Vicente (SP) e Penha (SC).

E, finalmente, as comparações pareadas entre Townsville e 15 outras subpopulações resultaram em diferenciação genética significativa, ao menos para um dos genes: Natal (RN) (COI-3P e 16S); Salvador (BA) (COI-3P e 16S); Itaparica (BA) (COI-3P e 16S); Ilhéus (BA) (COI-3P e 16S); Vitória (ES) (COI-3P e 16S); Cabo Frio (RJ) (COI-3P e 16S); Arraial do Cabo (RJ) (COI-3P e 16S); Angra dos Reis (RJ) (COI-3P e 16S); Ubatuba (SP) (16S); São Sebastião (SP) (COI-3P); Ilhabela (SP) (COI-3P e 16S); São Vicente (SP) (COI-3P e 16S); São Francisco do Sul (SC) (16S); Penha (SC) (COI-3P e 16S); e Porto Belo (SC) (16S) (Tabelas 13 e 14).

As comparações pareadas entre as diversas subpopulações apresentadas acima que resultaram em valores significativos refletiram nos cálculos de F_{st} para as seis metapopulações consideradas (Tabela 03). Estrutura genética populacional foi encontrada entre o Leste e o Sudeste do Brasil (moderado para COI-3P; baixo para 16S); Nordeste do Brasil e Mar de Coral (muito alto para COI-3P e 16S); Leste do Brasil e Mar de Coral (muito alto para COI-3P); Sudeste do Brasil e Mar de Coral (muito alto para COI-3P); Leste do Brasil e Mar Mediterrâneo Oeste (alto para 16S); Sudeste do Brasil e Mar Mediterrâneo Oeste (muito alto para 16S); e Mar Mediterrâneo Oeste e Mar de Coral (muito alto para 16S).

Tabela 13: Índice F_{ST} do cálculo de diferenciação populacional entre as subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial COI-3P. Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Regiões geopolíticas: 1, Fortaleza (CE); 2, Natal (RN); 3, Salvador (BA); 4, Ilha de Itaparica (BA); 5, Ilhéus (BA); 6, Vitória (ES); 7, Cabo Frio (RJ); 8, Arraial do Cabo (RJ); 9, Angra dos Reis (RJ); 10, Ubatuba (SP); 11, São Sebastião (SP); 12, Ilhabela (SP); 13, São Vicente (SP); 14, São Francisco do Sul (SC); 15, Penha (SC); 16, Porto Belo (SC); 17, Flórida (EUA); 18, Savona (Itália); 19, Ilhas Baleares (Espanha); 20, Townsville (Austrália).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	-																			
2	0	-																		
3	0	0	-																	
4	0	0	0	-																
5	0	0	0	0	-															
6	-0,32	-0,02	-0,01	-0,04	-0,05	-														
7	-0,05	0,26	0,30	0,22	0,20	0,13	-													
8	0	0	0	0	0	-0,02	0,26	-												
9	0	0	0	0	0	-0,02	0,26	0	-											
10	0	0	0	0	0	-0,05	0,20	0	0	-										
11	0	0	0	0	0	0,07	0,52*	0	0	0	-									
12	0	0	0	0	0	-0,03	0,25	0	0	0	0	-								
13	0	0	0	0	0	0	0,32*	0	0	0	0	0	-							
14	0	0	0	0	0	-0,07	0,18	0	0	0	0	0	0	-						
15	0	0	0	0	0	-0,03	0,25	0	0	0	0	0	0	0	-					
16	-0,31	0,02	0,05	0	-0,01	0,01	0,17	0,02	0,02	-0,01	0,22	0,01	0,07	-0,04	0,01	-				
17	0	0	0	0	0	-0,19	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,17	-			
18	0	0	0	0	0	-0,19	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,17	0	-		
19	0	0	0	0	0	-0,32	-0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,31	0	0	-	
20	0,25	0,56*	0,60*	0,52*	0,50*	0,52*	0,41*	0,56*	0,56*	0,50	0,79*	0,54*	0,62*	0,47	0,54*	0,26	0,34	0,34	0,25	-

Tabela 14: Índice F_{ST} do cálculo de diferenciação populacional entre as subpopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) , considerando o gene mitocondrial 16S. Legenda: Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Regiões geopolíticas: 1, Fortaleza (CE); 2, Natal (RN); 3, Salvador (BA); 4, Ilha de Itaparica (BA); 5, Ilhéus (BA); 6, Vitória (ES); 7, Cabo Frio (RJ); 8, Arraial do Cabo (RJ); 9, Angra dos Reis (RJ); 10, Ubatuba (SP); 11, São Sebastião (SP); 12, Ilhabela (SP); 13, São Vicente (SP); 14, São Francisco do Sul (SC); 15, Penha (SC); 16, Porto Belo (SC); 17, Flórida (EUA); 18, Savona (Itália); 19, Ilhas Baleares (Espanha); 20, Townsville (Austrália).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	-																			
2	-0,32	-																		
3	0	0,03	-																	
4	0	-0,01	0	-																
5	0	-0,03	0	0	-															
6	-0,24	-0,02	0,07	0,03	0,01	-														
7	-0,05	0,02	0,30	0,22	0,20	0,11	-													
8	0	0,01	0	0	0	0,05	0,26	-												
9	0	0,01	0	0	0	0,05	0,26	0	-											
10	-0,13	0,07	0,27	0,19	0,16	0,09	0,20	0,23	0,23	-										
11	0	0,18	0	0	0	0,21*	0,52*	0	0	0,51*	-									
12	-0,32	0	0,03	-0,01	-0,03	0,04	0,22	0,01	0,01	-0,03	0,18	-								
13	0	0,01	0	0	0	0,05	0,26	0	0	0,23	0	0,01	-							
14	0	-0,05	0	0	0	-0,002	0,18	0	0	0,13	0	-0,05	0	-						
15	0	0	0	0	0	0,04	0,25	0	0	0,21	0	0	0	0	-					
16	0	-0,01	0	0	0	0,03	0,22	0	0	0,19	0	-0,01	0	0	0	-				
17	0	-0,18	0	0	0	-0,12	0,05	0	0	-0,009	0	-0,18	0	0	0	0	-			
18	0,36	0,33*	0,80*	0,73	0,70	0,29*	0,26	0,77*	0,77*	0,43	0,92*	0,55*	0,77*	0,67	0,75*	0,73	0,50	-		
19	0	-0,32	0	0	0	-0,24	-0,05	0	0	-0,13	0	-0,32	0	0	0	0	0	0,36	-	
20	0,28	0,47*	0,62*	0,54*	0,52*	0,48*	0,43*	0,58*	0,58*	0,45*	0,80	0,52*	0,58*	0,49*	0,56*	0,54*	0,37	0,43	0,28	-

Tabela 15: Índice F_{ST} do cálculo de diferenciação populacional entre as metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial COI-3P. Legenda: Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Ecorregiões: 1', Flórida; 2', Nordeste do Brasil; 3', Leste do Brasil; 4', Sudeste do Brasil; 5', Mar Mediterrâneo Oeste; 6', Mar de Coral.

	1'	2'	3'	4'	5'	6'
1'	-					
2'	0	-				
3'	-0,16	-0,01	-			
4'	-0,19	-0,04	0,04*	-		
5'	0	0	-0,08	-0,11	-	
6'	0,34	0,60*	0,68*	0,84*	0,43	-

Tabela 16: Índice F_{ST} do cálculo de diferenciação populacional entre as metapopulações de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822), considerando o gene mitocondrial 16S. Legenda: Valores em negrito seguidos por * são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Ecorregiões: 1', Flórida; 2', Nordeste do Brasil; 3', Leste do Brasil; 4', Sudeste do Brasil; 5', Mar Mediterrâneo Oeste; 6', Mar de Coral.

	1'	2'	3'	4'	5'	6'
1'	-					
2'	-0,18	-				
3'	-0,16	-0,04	-			
4'	-0,18	0,14	0,04*	-		
5'	0,11	0,15	0,22*	0,61*	-	
6'	0,37	0,50*	0,68	0,85	0,44*	-

Análises filogenéticas

Os terminais utilizados nas análises filogenéticas, representados por haplótipos de genes individuais (COI-3P, Figura 09; 16S, Figura 10) e concatenação de haplótipos (COI-3P + 16S, Figura 11), serão apresentados a seguir de acordo com as metapopulações definidas na Tabela 03, referindo-se às ecorregiões e destacando as regiões biogeográficas descritas em SPALDING *et al.* (2007). Adicionalmente, a única amostra coletada no México e não definida na Tabela 03, está representada nas presentes análises pela ecorregião Mar de Cortês e respectiva região biogeográfica Pacífico Norte Temperado, também definidas em Spalding *et al.* (2007).

As três análises filogenéticas (COI-3P, Figura 09; 16S, Figura 10; COI-3P+16S, Figura 11) suportam o monofiletismo de *Z. verticillatum*, todas com pp=100% para o clado da espécie (grupos externos não ilustrados na filogenia). Adicionalmente, mostram que o táxon *Z. verticillatum* representa uma única espécie globalmente distribuída, e não um complexo de espécies crípticas, com comprimentos de ramos internos sempre menores que 0,01 substituição por sítio (Figuras 09, 10 e 11).

COI-3P: A árvore filogenética deste gene resultou em uma tricotomia (Figura 09), revelando ausência de estrutura geográfica. A árvore mostra um terminal composto por colônias provenientes dos Oceanos Atlântico e Pacífico que compartilham o haplótipo 1, incluindo o Atlântico Tropical (Flórida, Nordeste e Leste do Brasil); América do Sul Temperada (Sudeste do Brasil); Atlântico Norte Temperado (Mar Mediterrâneo Oeste); e Indo-Pacífico Central (Mar de Coral). O outro terminal é exclusivo do Atlântico Tropical (Leste do Brasil; haplótipo 3), e o terceiro representado por colônias que compartilham o haplótipo 2 oriundas do Oceano Pacífico, incluindo o Indo-Pacífico Central (Mar de Coral) e Pacífico Norte Temperado (Mar de Cortês).

16S: A árvore representativa deste gene (Figura 10) mostrou relacionamentos filogenéticos mais definidos e geograficamente estruturados em relação ao COI-3P. Um terminal basal é retratado na filogenia, exclusivo do Atlântico

Tropical (Nordeste e Leste do Brasil) para colônias que possuem o haplótipo 2. Embora moderadamente suportado (pp=53%), um clado irmão deste terminal basal foi recuperado na filogenia, composto pelos demais haplótipos. Compondo este clado e sem relacionamentos definidos, estão as metapopulações representativas do Atlântico Tropical (Leste do Brasil, haplótipos 1 e 3; Nordeste do Brasil e Flórida, haplótipo 1); América do Sul Temperada (Sudeste do Brasil, haplótipos 1 e 4); Atlântico Norte Temperado (Mar Mediterrâneo do Oeste, haplótipos 1 e 7); Indo-Pacífico Central (Mar de Coral, haplótipo 1); e, finalmente, um clado altamente suportado (pp=95%), formado pelos terminais representativos dos haplótipos 5 (Mar de Coral, Indo-Pacífico Central) e 6 (Mar de Coral, Indo-Pacífico Central; Mar de Cortês, Pacífico Norte Temperado).

COI-3P + 16S: Diferentemente das análises de genes individuais, para os quais determinados haplótipos foram compartilhados por distintas ecorregiões e até mesmo regiões biogeográficas (Figuras 09 e 10), as concatenações dos haplótipos foram exclusivas a cada região biogeográfica. Adicionalmente, à exceção da concatenação 1 que foi compartilhada por colônias provenientes do Nordeste, Leste e Sudeste do Brasil, Flórida, Mar Mediterrâneo Oeste e Mar de Coral, e da concatenação 9, representada pelo Mar de Coral e Mar de Cortês, as demais concatenações foram exclusivas inclusive à cada ecorregião (Tabela 03, Figura 11).

A análise filogenética dos dados concatenados (Figura 11) revelou uma estrutura geográfica bastante semelhante à análise do 16S (Figura 10). Embora sempre com suporte moderado (pp entre 59 e 86%), todas as regiões pertencentes a distintas regiões biogeográficas do Atlântico (Atlântico Tropical, América do Sul Temperada e Atlântico Norte Temperado) ocuparam sempre as posições basais na filogenia (concatenações 1, 2, 3, 4, 6, 7 e 10), e todas as regiões biogeográficas pertencentes ao Oceano Pacífico (Indo-Pacífico Central e Pacífico Norte Temperado) foram encontradas exclusivamente nas posições terminais (concatenações 5, 8 e 9) (Figura 11). A única exceção refere-se à ecorregião Mar de Coral do Indo-Pacífico Central, que apareceu em uma posição basal da filogenia como parte da concatenação 1.

Figura 09: Árvore filogenética de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial COI-3P. O comprimento do ramo abaixo da árvore indica a escala do número de substituições por sítio. As probabilidades posteriores acima de 50% são mostradas em cada ramo respectivo. As localidades se referem às ecorregiões e regiões biogeográficas descritas em Spalding *et al.* (2007). Legenda: Regiões biogeográficas – AT, Atlântico Tropical; AST, América do Sul Temperada; ANT, Atlântico Norte Temperado; IPC, Indo-Pacífico Central; PNT, Pacífico Norte Temperado.

Figura 10: Árvore filogenética de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando o gene mitocondrial 16S. O comprimento do ramo abaixo da árvore indica a escala do número de substituições por sítio. As probabilidades posteriores acima de 50% são mostradas em cada ramo respectivo. As localidades se referem às ecorregiões e regiões biogeográficas descritas em Spalding *et al.* (2007). Legenda: Regiões biogeográficas – AT, Atlântico Tropical; AST, América do Sul Temperada; ANT, Atlântico Norte Temperado; IPC, Indo-Pacífico Central; PNT, Pacífico Norte Temperado.

Figura 11: Árvore filogenética de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) considerando os genes mitocondriais COI-3P e 16S concatenados. O comprimento do ramo abaixo da árvore indica a escala do número de substituições por sítio. As probabilidades posteriores acima de 50% são mostradas em cada ramo respectivo. As localidades se referem às ecorregiões e regiões biogeográficas descritas em Spalding *et al.* (2007). Legenda: CONC, Concatenação; Regiões biogeográficas – AT, Atlântico Tropical; AST, América do Sul Temperada; ANT, Atlântico Norte Temperado; IPC, Indo-Pacífico Central; PNT, Pacífico Norte Temperado.

Discussão

Registros de ocorrência e dados biológicos

Neste estudo, os registros de ocorrência da espécie foram ampliados para duas localidades do litoral brasileiro: os estados de Ceará e Espírito Santo. O mais provável é que a espécie simplesmente não foi encontrada anteriormente devido ao baixo esforço amostral empregado nessas localidades, e não devido a episódios de introdução recentes. Do mesmo modo, o fato de *Z. verticillatum* não ter sido mais assinalada no litoral de Santa Catarina desde que foi reportada por MÜLLER em 1860, quando então era considerada como bem estabelecida para o local, pode ser explicado pela ausência de esforços de coleta de briozoários na região.

Dentre as amostras com dados a respeito do substrato (177 amostras), 94% das colônias encontravam-se direta ou indiretamente sobre substratos duros, naturais (diretamente sobre rochas ou epibionte em algas, esponjas, hidrozoários) ou artificiais (pilastras de pilares de concreto, boias etc.). Apenas dez amostras indicavam que as colônias estavam em substratos inconsolidados, o que possivelmente indica que cresciam apoiadas em seixos, conchas ou tubos de invertebrados, como ocorre sobre a porção do tubo exposto do poliqueta *Chaetopterus variopedatus* (Renier, 1804) (observação pessoal), uma vez que não há registro de a espécie ocorrer diretamente em substratos moles.

A ocorrência em substratos artificiais móveis, como boias, cabos e casco de embarcações (9,5 % das amostras), suporta a ideia de que a espécie pode se estabelecer em substratos antropogênicos móveis e com isso se dispersar (WINSTON, 1982; WIRTZ & CANNING-CLODE, 2009; FARRAPEIRA, 2011).

Alguns autores relatam que *Z. verticillatum* desaparece ou se reduz a colônias menores durante o inverno devido a intolerância a temperaturas inferiores a ~22°C (WATERS, 1910; BULLIVAN, 1968; WINSTON, 1995; ABDEL-SALAM & RAMADAN, 2008; FARRAPEIRA, 2011). No entanto, foram coletadas neste trabalho, colônias grandes (>15 centímetros) tanto nos meses de inverno, no estado de São Paulo (São Sebastião e Ilhabela) (Anexo 01), quanto em locais onde a média da temperatura anual da água é entre 18 e 23°C (KREMER *et al.*, 2010) – Santa Catarina:

São Francisco do Sul, Penha e Porto Belo. Também foram recebidos espécimes coletados nos meses de inverno da Flórida (EUA) e Townsville/Mar de Coral (Austrália).

Distribuição em larga escala de *Zoobotryon verticillatum*

Espécies cosmopolitas são aquelas distribuídas por todo o mundo, em todos (ou quase todos) os continentes ou oceanos (PARENTI & EBACH, 2009). *Zoobotryon verticillatum* tem sido reportada, com base em dados de observação morfológica, como uma espécie de briozoário cosmopolita, ocorrendo em águas tropicais, subtropicais e temperadas dos Oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (vide Tabela 01 para referências bibliográficas). Vários estudos com base em análises moleculares têm revelado que algumas espécies de briozoários, aparentemente cosmopolitas, representam complexos de espécies crípticas não detectadas morfológicamente, com padrões de distribuição diferenciados e geralmente em escalas geográficas bastante mais restritas (e.g. DAVIDSON & HAYGOOD, 1999; HOARE *et al.*, 2001; MCGOVERN & HELLBERG, 2003; MACKIE *et al.*, 2006, 2012; NIKULINA *et al.*, 2007; SCHWANINGER, 2008; FEHLAUER-ALE *et al.*, 2014).

As análises filogenéticas realizadas neste estudo, tanto dos genes individuais quanto dos dados em concatenação, além de suportarem o monofiletismo de *Z. verticillatum*, possuem um formato geral de 'estrela' com ramos curtos, sugerindo que esta linhagem representa uma única espécie globalmente distribuída, e não um complexo de espécies crípticas indistinguíveis morfológicamente e geograficamente estruturadas, embora seja possível reconhecer uma fraca estrutura genética em larga escala, entre os Oceanos Atlântico e Pacífico (HARTL & CLARK, 2010). Segregação genética em escalas espaciais pequenas e estrutura populacional/filogeográfica marcante são padrões esperados para espécies sésseis com larvas com capacidade de dispersão muito restrita (MACKIE *et al.*, 2006), como é o caso de *Z. verticillatum* (SANTAGATA, 2008a). Assim, a ampla distribuição geográfica de *Z. verticillatum* poderia ser, a princípio, um padrão inesperado para um briozoário com capacidade de dispersão limitada.

No entanto, a capacidade de propagação de *Z. verticillatum* tanto em substratos móveis naturais como por ramos flutuantes em estado de latência (WATERS, 1910; ZIRPOLO, 1933; MARCUS, 1937; BULLIVANT, 1968) pode ter lhe conferido um meio dispersivo natural que possibilitou a sua ampla distribuição. Além disso, a própria biologia da espécie poderia favorecer o seu estabelecimento em novos locais: crescimento rápido, hermafroditismo, regeneração a partir de fragmentos do estolão em períodos de dormência, e resistência a variações de temperatura e salinidade.

Os resultados obtidos são compatíveis com a expectativa de que as distribuições haplotípicas encontradas para cada um dos genes seja um reflexo da introdução antropogênica de *Z. verticillatum*, em escala global. Estes resultados incluem: a (i) habilidade da espécie em colonizar uma variedade de substratos artificiais, incluindo cascos de navios (CALRTON & ELDREDGE, 2009; WIRTZ & CANNING-CLODE, 2009); (ii) a falta de uma estrutura geográfica evidente nas redes haplotípicas e análises filogenéticas; (iii) ausência majoritária de relacionamentos dicotômicos e clados altamente suportados (pp $\geq 95\%$) nas árvores filogenéticas; (iv) a falta de resultados significativos na maioria dos teste D e Fs realizados; (v) a baixa diversidade genética em nível populacional (Tabelas 09 a 12); (vi) e a falta de diferenciação genética entre a maioria das sub (Tabelas 13 e 14) e metapopulações (Tabelas 15 e 16) comparadas.

Somado a isso, as ecorregiões de onde as colônias estudadas são provenientes caracterizam-se por intenso fluxo de embarcações. Segundo KALUZA *et al.* (2010), no ano de 2007, passaram pelo litoral do Nordeste e Leste do Brasil mais de 3.000 navios considerados de grande porte (>10.000 toneladas). O Sudeste do Brasil possui ainda o Porto de Santos (SP), um dos 20 maiores portos do mundo, chegando a mais de 5.000 navios de grande porte em 2007, por exemplo. A Flórida (EUA) e o Mar de Coral (Austrália) também caracterizaram rotas com elevadas taxas de fluxo marítimo desse nível ($\sim 1.000-3.000$), assim como o Mar Mediterrâneo (>5.000). O Mar de Cortês, por sua vez, apesar de ser uma região abrigada por uma península, está situado geograficamente cercada por uma área (costa da Califórnia,

EUA e costa oeste de Baja California e Baja California Sul, México) onde o fluxo é tão intenso quanto o do Mar Mediterrâneo e do Sudeste do Brasil.

Genética populacional

Embora o esforço amostral ideal deva ser equilibrado em relação às ecorregiões – neste estudo representadas por metapopulações –, os números amostrais para as seis ecorregiões consideradas não foram balanceados. Foram sequenciadas por ordem crescente: Flórida (n=3 para os dois genes); Mar Mediterrâneo Oeste (n=5 para os dois genes); Mar de Coral (n=7 para os dois genes); Nordeste do Brasil (n=12, COI-3P; n=11, 16S); Leste do Brasil (n=70, COI-3P; n=69, 16S); e Sudeste do Brasil (n=89, COI-3P; n=84, 16S).

Com a finalidade de testar a possibilidade de os n amostrais discrepantes enviesarem as análises populacionais, uma segunda estratégia de divisão populacional foi aplicada. Esta divisão alternativa considerou as divisões geopolíticas tradicionais, ou seja, os municípios foram considerados como divisores populacionais de forma que o número amostral ficasse o mais balanceado possível entre os grupos, mesmo sem refletir necessariamente uma divisão natural entre eles, denominados aqui de subpopulações. Desta forma, as subpopulações inferidas perfizeram, em sua totalidade, populações menores que por sua vez formaram as metapopulações. Contudo, as análises de genética populacional em geral não revelaram resultados contraditórios entre as sub e metapopulações, sugerindo que o n amostral discrepante entre as ecorregiões não enviesou os resultados obtidos; houve ainda casos em que uma divisão geográfica foi mais informativa que a outra. Sendo assim, a discussão será abordada a seguir considerando tanto as sub quanto as metapopulações definidas, levando em consideração o potencial de informação de cada resultado obtido, de acordo com a análise realizada.

Embora no geral as redes haplotípicas e as análises filogenéticas não revelaram sub e metapopulações bem estruturadas, foi possível observar uma fraca estruturação em larga escala, entre as regiões biogeográficas que compõem os Oceanos Atlântico e Pacífico. Ainda assim, os cálculos de F_{ST} revelaram estrutura genética populacional significativa entre algumas metapopulações, inclusive dentro

do Oceano Atlântico (Leste x Sudeste do Brasil, moderado para COI-3P e baixo para 16S; Leste do Brasil x Mar Mediterrâneo Oeste, alto para 16S; Sudeste do Brasil x Mar Mediterrâneo Oeste, muito alto para 16S), e também muito alta entre os Oceanos Atlântico e Pacífico (Nordeste do Brasil x Mar de Coral, COI-3P e 16S; Leste do Brasil x Mar de Coral, COI-3P; Sudeste do Brasil x Mar de Coral, COI-3P; Mar Mediterrâneo Oeste x Mar de Coral, 16S), sugerindo diferentes níveis de fluxo gênico entre elas.

Além disso, haplótipos com distintas abrangências geográficas foram encontrados neste estudo, tanto para o COI-3P quanto para o 16S. Haplótipos privados foram detectados nas metapopulações do Leste do Brasil (haplótipo 3, COI-3P; haplótipo 3, 16S), Sudeste do Brasil (haplótipo 4, 16S), Mar Mediterrâneo Oeste (haplótipo 7, 16S) e Mar de Coral (haplótipos 5 e 6, 16S). Haplótipos com distribuição em escala geográfica mais ampla, porém não global, também foram encontrados: para o COI-3P, o haplótipo 2 foi compartilhado entre o Sudeste do Brasil e o Mar de Coral e, para o 16S, o haplótipo 2 foi encontrado no Nordeste e Leste do Brasil. E, finalmente, o haplótipo 1 do COI-3P e o haplótipo 1 do 16S foram encontrados em todas as localidades amostradas neste estudo, com exceção do Mar de Cortês no Pacífico Norte Temperado, para o qual só foi coletada uma amostra que foi desconsiderada para as análises populacionais.

A teoria coalescente prevê que os haplótipos ancestrais são aqueles mais frequentes na amostragem total (*e.g.* TAJIMA, 1983; HARTL & CLARK, 2010). Com base nisso, é plausível sugerir que o haplótipo 1 do COI-3P e o haplótipo 1 do 16S sejam os ancestrais. A distribuição em escala global destes haplótipos, a sua maior frequência na maioria das sub e metapopulações, e a presença de sua combinação (concatenação 1) nas seis ecorregiões consideradas sugerem que ao menos a maioria das populações introduzidas de *Z. verticillatum* surgiram originalmente de uma mesma região, na qual estes haplótipos são encontrados.

Utilizando diversidade genética como um indicativo de possível região de origem da espécie e/ou fonte inicial de colônias introduzidas em outros locais, a ecorregião do Mar de Coral, representada aqui pela localidade de Townsville (Austrália), no Oceano Indo-Pacífico Central, poderia ser esta região. Embora

representado por apenas sete colônias, o Mar de Coral foi a região mais geneticamente diversa, sempre apresentando os maiores valores de H_d e π , independentemente da divisão populacional aplicada e considerando os dois genes sequenciados. Esta população apresentou dois haplótipos para o COI-3P (haplótipos 1 e 2) e três para o 16S (haplótipos 1, 5 e 6). As frequências haplotípicas também foram peculiares para esta ecorregião uma vez que, embora os globalmente distribuídos haplótipo 1 de COI-3P e haplótipo 1 de 16S foram lá encontrados, estes não foram os mais frequentes. Em contrapartida, para as demais metapopulações, estes haplótipos ou compunham as metapopulações monomórficas, ou sempre foram os mais frequentes nas metapopulações polimórficas, sugerindo que vêm sendo introduzidos com sucesso em ecorregiões que não o Mar de Coral.

Considerando ainda os dados concatenados, o maior número ($n=4$) de concatenações entre os genes também foi obtido para o Mar de Coral. Adicionalmente, a maioria das comparações do índice F_{ST} entre Townsville/Mar de Coral e as demais sub e metapopulações foi significativa, todas com valores muito altos. Quanto maiores os valores de F_{ST} , maior é a diferenciação genética entre as populações comparadas e, conseqüentemente, há menos fluxo gênico entre elas (WRIGHT, 1978). Sendo assim, estes resultados sugerem que a população do Mar de Coral seja antiga e bem estruturada, diferenciada da maioria das demais. Um padrão muito similar foi encontrado para a espécie críptica globalmente distribuída 'Tipo S' de *Bugula neritina* para a região da Califórnia (FEHLAUER-ALE *et al.*, 2014), levando os autores a sugerirem que esta seja a região nativa e fonte inicial de introdução do 'Tipo S' em larga escala. Em contrapartida, a diversidade mais alta da metapopulação de *Z. verticillatum* no Mar de Coral poderia ser resultante de múltiplas introduções de populações antigas e bem estabelecidas de diferentes origens geográficas, uma vez que esta região é caracterizada por um tráfego de navegações internacionais moderado (KALUZA *et al.*, 2010).

Alternativamente, o Leste do Brasil (Cabo Frio, RJ) ou o Mar Mediterrâneo Oeste (Savona, Itália) poderiam representar a região nativa da espécie e/ou a fonte original das introduções, uma vez que também apresentaram alguns indicadores de diversidade genética mais elevada em relação às demais metapopulações

analisadas. A subpopulação de Cabo Frio apresentou os mesmos valores mais altos de π em relação à Tonwnsville (Mar de Coral) para ambos os genes, sendo ainda muito altamente (COI-3P) e altamente (16S) diferenciada de São Sebastião (SP, Sudeste do Brasil), e muito altamente diferenciada (16) de São Vicente (SP, Sudeste do Brasil). Adicionalmente, Cabo Frio foi a única subpopulação a apresentar um valor positivo significativo de F_s , indicando um efeito de gargalo de garrafa populacional recente, ou seleção balanceadora do tipo sobredominante, caracterizada por um *fitness* maior de indivíduos heterozigotos em relação aos homozigotos, sendo os primeiros então mantidos na população. E, finalmente, Savona obteve o mesmo valor mais alto de H_d em relação à Townsville para o 16S, sendo muito altamente diferenciada de nove das 16 subpopulações amostradas no Nordeste, Leste e Sudeste do Brasil.

Em contrapartida, o teste de F_s para a metapopulação do Sudeste do Brasil (COI-3P) e o teste D para a do Nordeste do Brasil (16S) resultaram em valores negativos significativos, indicando expansão populacional recente e/ou efeito carona no caso de F_s , e expansão populacional recente e/ou seleção purificadora no caso de D. Expansões populacionais recentes são processos evolutivos característicos de populações de espécies não nativas (KISS & BÉRES, 2006), o que parece ser o caso ao menos para estas duas regiões, especialmente para a região Sudeste do Brasil, onde está localizado o Porto de Santos.

Para que as hipóteses de origem da espécie e/ou introdução de *Z. verticillatum* apresentadas acima sejam robustamente testadas, seria necessário um esforço de coleta bastante mais extenso ao redor das ecorregiões com n amostral baixo (Mar de Cortês, Flórida, Mar Mediterrâneo Oeste, Mar de Coral, Nordeste do Brasil) e, principalmente, de outras que ainda não o foram, dada a extensa ocorrência da espécie ao redor do globo. Desta forma, é cauteloso sugerir que *Z. verticillatum* deva ainda ser considerada uma espécie criptogênica (espécie com origem geográfica incerta; CARLTON, 1996), embora os presentes resultados apontem para o Mar de Coral como centro de origem e dispersão da espécie.

Sucesso de introdução em larga escala

O haplótipo 1 do COI-3P e o haplótipo 1 do 16S foram os únicos encontrados em todas as subpopulações consideradas, e a sua concatenação foi presente em todas as metapopulações. Um segundo haplótipo para cada gene também foi encontrado entre localidades geograficamente distantes, embora em escala mais restrita: para o COI-3P, o haplótipo 2 foi compartilhado entre o Sudeste do Brasil e o Mar de Coral; já para o 16S, o haplótipo 2 foi encontrado no Nordeste e Leste do Brasil; e, finalmente, os demais haplótipos encontrados foram privados a determinadas localidades. Um padrão muito similar de distribuição haplotípica foi encontrado para o gene COI-5P da espécie críptica 'Tipo S' de *B. neritina*, para o qual o haplótipo S1a foi encontrado em escala global, o haplótipo S1b entre regiões com distâncias mais restritas, e os demais haplótipos privados (FEHLAUER-ALE *et al.*, 2014). Adaptação diferencial a fatores ambientais tais como temperatura e salinidade têm sido reportadas para várias populações de invertebrados aquáticos, com base na variabilidade genética do DNA mitocondrial (*e.g.* LEE *et al.*, 2007; FOLINO-ROREM *et al.*, 2009; BOCK *et al.*, 2012; MACKIE *et al.*, 2012; FEHLAUER-ALE *et al.*, 2014). FEHLAUER-ALE *et al.* (2014) sugeriram, com base em análises das temperaturas de superfície dos mares (*Sea surface temperature analysis*, SST) e testes de Mantel, que o sucesso de distribuição global destes dois haplótipos, particularmente de S1a, está relacionado à tolerância térmica de seus genomas mitocondriais correspondentes. Sendo assim, é plausível sugerir que as colônias que possuem genoma mitocondrial de *Z. verticillatum* com haplótipo 1 de COI-3P e/ou haplótipo 1 de 16S sejam mais tolerantes a variações de temperatura em relação aos demais, já que foram encontradas em áreas tropicais (Flórida, EUA; Nordeste e Leste do Brasil; Mar de Coral, Pacífico sul) e temperadas (Sudeste do Brasil e Mar Mediterrâneo Oeste). Entretanto, futuros testes fisiológicos e/ou de correlação com distribuição haplotípica x variação de temperatura ao longo das estações serão necessários para testar esta hipótese.

Considerações finais

1. As análises filogenéticas suportam o monofiletismo de *Zoobotryon verticillatum* e sugerem, juntamente com as análises populacionais, que o táxon não é um complexo de espécies crípticas, sendo representado por uma única espécie.
2. A distribuição haplotípica encontrada indica que o cosmopolitismo de *Z. verticillatum* se deu através de ação antrópica.
3. O haplótipo 1 do gene COI-3P, o haplótipo 1 do gene 16S e a concatenação de ambos (concatenação 1) foram os mais frequentes na maioria das sub e metapopulações indicando que estes podem ser os haplótipos ancestrais da espécie.
4. Das populações amostradas, Townsville/Mar de Coral (Austrália) foi a que apresentou a maior diversidade haplotípica e nucleotídica, sugerindo que esta poderia ser a região de origem e centro de dispersão de *Z. verticillatum*. Contudo, até se obtenha mais evidências nesse sentido, sugere-se que a espécie seja considerada criptogênica.
5. Estudos moleculares considerando um maior número de genes, maior número de espécimes e abrangendo escala global, poderão fornecer evidências sobre o centro de origem e prováveis rotas de dispersão de *Z. verticillatum*. No entanto, o entendimento dessa questão pode ser dificultado ou impossibilitado devido ao alto fluxo de transporte por mediação antrópica que dispersariam a espécie de tal forma a mascarar os sinais evolutivos mais antigos, que poderiam trazer evidências sobre a ancestralidade das populações.

Referências bibliográficas

- ABDEL-SALAM, K. H. M.; RAMADAN, S. H. E. Fouling Bryozoa from some Alexandria harbours, Egypt - (I) Erect species. **Mediterranean Marine Science**, v. 9, n. 1, p. 31-47, 2008.
- AGARDH, I. G. **Systema Algarum**. Parisiis, 1824.
- AKAIKE, H. Information Theory and an Extension of the Maximum Likelihood Principle. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON INFORMATION THEORY, 2., 1973, Budapeste. **Akademiai Kiado**, 1973. p. 267-281.
- ALVAREZ-LÉOOD, R.; BANTA, W. C. Briozoarios de três esteros adyacentes a Mazatlán, Costa Noroeste de México. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 19, n. 4, p. 209-218, 1984.
- AMAT, J. N.; TEMPERA, F. *Zoobotryon verticillatum* Della Chiaje, 1822 (Bryozoa), a new occurrence in the archipelago of the Azores (North-Eastern Atlantic). **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 5, p. 761-764, 2009.
- AMINI, Z. Z.; ADABI, M. H.; BURRETT, C. F.; QUILTY, P. G. Bryozoan distribution and growth form associations as a tool in environmental interpretation, Tasmania, Australia. **Sedimentary Geology**, v. 167, p. 1-15, 2004.
- ANTIT, M.; GOFAS, S.; SALAS, C.; AZZOUNA, A. One hundred years after Pinctada: An update on alien Mollusca in Tunisia. **Mediterranean Marine Science**, v. 12, n. 1, p. 53-73, 2011.
- ARDIZZONE, G.; RIGGIO, S. Similitudine e diversità nelle biocenosi bentoniche del Porto di Palermo in relazione al substrato di insediamento. **Quaderni del Laboratorio di Tecnologia della Pesca**, v. 3, n. 1, p. 587-603, 1981.
- AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, p. 489-522, 1987.
- BALLARD, J.; WHITLOCK, M. The incomplete natural history of mitochondria. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 729-744, 2004.

- BARNES, D. K. A.; GRIFFITHS, H. J. Biodiversity and biogeography of southern temperate and polar bryozoans. **Global Ecology and Biogeography**, v. 17, p. 84-99, 2008.
- BARROSO, M. G. Briozoos de la Estación de Biología Marítima de Santander. **Trabajos del Museo de Ciencias Naturales**, n. 5, p. 1-63, 1912.
- BARROSO, M. G. Contribución al conocimiento de los Briozoos marinos de España. **Boletín de la Real Sociedad Española**, v. 15, p. 413-420, 1915.
- BARROSO, M. G. Notas sobre Briozoos marinos españoles. **Boletín de la Real Sociedad Española**, v. 22, p. 88-101, 1922.
- BHAVE, V.; APTE, D. First record of *Okenia pellucida* Burn, 1967 (Mollusca: Nudibranchia) from India. **Natural History**, v. 4, n. 14, p. 3362-3365, 2012.
- BINGHAM, B. L. Life Histories in an Epifaunal Community: Coupling of Adult and Larval Processes. **Ecology**, v. 73, n. 6, p. 2244-2259, 1992.
- BOCK, D. G.; MACISAAC, H. J.; CRISTESCU, M. E. Multilocus genetic analyses differentiate between widespread and spatially restricted cryptic species in a model ascidian. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 279, p. 2377-2385, 2012.
- BROCK, B. J. South Australian fouling bryozoans. **s.l.**, p. 45-49, 1985.
- BULLIVANT, J. S.; BILS R. F. The pharyngeal cells of *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje) a gymnolaemate bryozoans. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 2, n. 3, p. 438-446, 1968.
- CALVET, L. Nouvelle contribution à l'histoire de la faune des Bryozoaires de la Méditerranée occidentale. **Archives de Zoologie Expérimentale et Générale**, v. 1151, p. 1-6, 1927.
- CARLTON, J. T. Biological Invasions and Cryptogenic Species. **Ecology**, v. 77, n. 6, p. 1653-1655, 1996.
- CARLTON, J. T.; ELDREDGE, L. G. The introduced and cryptogenic marine and estuarine animals and plants of the Hawaiian Archipelago. **Bishop Museum Bulletin in Cultural and Environmental Studies**, v. 4, p. 1-203, 2009.
- CARUS, J. V. **Prodomus faunae Mediterraneae**: descriptio animalium Maris Mediterranei incolorum quam comparata silva rerum quatenus innotuit

adiectis locis et nominibus vulgaribus eorumque auctoribus in commodum Zoologorum. Stuttgart: Koch, 1889-1893. p. 1-854.

CLEMENTE, S. R. **Ensayo sobre las variedades de la vid común que vegetan en Andalucía, con un índice etimológico y tres listas de plantas en que se caracterizan varias especies nuevas.** Madrid: Villalpando, 1807.

CLEMENTE, M.; POSADA, D.; CRANDALL, K. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. **Molecular Ecology**, v. 9, n. 10, p. 1657-1660, 2000.

COHEN, A. N.; CARLTON, J. T. Nonindigenous aquatic species in a United States estuary: A case study of the biological invasions of the San Francisco Bay and Delta. Report for the United States fish and wildlife service, Washington D.C. and National Sea Grant Program, Washington. **Biological Study**, 1995.

COLLEMAN, F. S. Note on *Zoobotryon verticillatum* (Bryozoa) in a solar saltfield. **International Journal of Salt Lake Research**, v. 8, p. 71-74, 1999.

COOK, P. L. Bryozoa from Ghana. A preliminary survey. **Zoologische Wetenschappen**, v. 238, p. 1-315, 1985.

CORRIERO, G.; LONGO, C.; MERCURIO, M.; MARCHINI, A.; OCCHIPINTI-AMBROGI, A. Porifera and Bryozoa on artificial hard bottoms in the Venice Lagoon: Spatial distribution and temporal changes in the northern basin. **Italian Journal of Zoology**, v. 74, n. 1, p. 21-29, 2007.

CRANFIELD, H. J.; GORDON, D. P.; WILLIAN, R. C.; MARSHALL, B. A.; BATTERSHILL, C. N.; FRANCIS, M. P.; NELSON, W. A.; GLASBY, C. J.; READ, G. B. **Adventive Marine Species in New Zealand**, NIWA Technical Report 34, p. 1-48, 1998.

CREARY, M. M. Spatial distribution of epibenthic bryozoans found on the roots of *Rhizophora mangle*, Kingston Harbour, Jamaica, W.I. **Bulletin of Marine Science**, v. 73, n. 2, p. 477-490, 2002.

CREMADES, J. **El herbario de algas marinas de Simón de Rojas Clemente y Rubio (1777-1827).** 1990. Tesis – Universidade de Santiago, 1990.

DAVIDSON, S. K.; HAYGOOD, M. G. Identification of sibling species of the bryozoan *Bugula neritina* that produce different anticancer bryostatins and harbour distinct strains of the bacterial symbiont "*Candidatus endobugula sertula*". **Biological Bulletin**, v. 196, p. 273-280, 1999.

- DELLE CHIAJE, S. **Memorie sulla storia e notomia degli animali senza vertebre del Regno di Napoli I.** Napoli: Stamperia Della Societa Tipografica, 1822.
- DELLE CHIAJE, S. **Memorie sulla storia e notomia degli animali senza vertebre del Regno di Napoli III.** Napoli: Stamperia Della Societa Tipografica, 1828.
- DELLE CHIAJE, S. **Descrizione e notomia degli animali invertebrati della Sicilia citeriore osservati negli anni 1822-1830.** Napoli: Stamperia Della Societa Tipografica, 1841.
- DE-TONI, J. B. **Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum I.** Padua: Patavii, 1889. p. 1-1325.
- DRUMMOND, A. J.; ASHTON, B.; BUXTON, S.; CHEUNG, M.; COOPER, A.; DURAN, C.; FIELD, M.; HELED, J.; KEARSE, M.; MARKOWITZ, S.; MOIR, R.; STONES-HAVAS, S.; STURROCK, S.; THIERER, T.; WILSON, A. **Geneious v5.5.7.** 2011. Disponível em: <<http://www.geneious.com>>.
- EDMONDSON, C. H.; INGRAN, W. M. Fouling Organisms in Hawaii. **Occasional Papers of Bernice P. Bishop Museum**, v. 14, n. 14, 1939.
- EHRENBERG, C.G. **Symbolae physicae seu Animalia evertabrata icons et descriptions animalium avium, insectorum et animalium evertabrata quae in itinere per per Africa bor. et Asian occid. studio nova aut illustr. redierunt.** Berolini, 1828.
- EHRENBERG, C. G. **Symbolae Physicae, seu Icones et descriptions Corporum Naturalium.** Berolini, 1831.
- ELKHORN Slough and the Montrey Bay Area. **Least Wanted Aquatic Invaders**, 2002. Disponível em: <http://www.elkhornslough.org/invader>.
- EL-KOMI, M. M. Incidence and Ecology of marine fouling organisms in the Eastern Harbour of Alexandria, Egypt. **Bulletin of National Institute of Oceanography and Fisheries**, v. 17, n. 1, p. 1-16, 1991.
- EL-KOMI, M. M. Field and laboratory studies on the ecology of marine fouling in Alexandria harbour, Egypt. **Bulletin of National Institute of Oceanography and Fisheries**, v.18, p. 115-140, 1992.
- EL-KOMI, M. M. Spatiotemporal distribution of fouling and plankton composition in coastal waters of Alexandria, Egypt. **Journal of the Egyptian German**

- Society of Zoology, Invertebrate Zoology & Parasitology**, v. 27, p. 183-207, 1998.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial-DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479-491, 1992.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin version 3.1: an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics**, v. 1, p. 47-50, 2005.
- FARRAPEIRA, C. M. R.; TENÓRIO, D. O.; MELO, A. V. O. M. Inventário de espécies bentônicas na área do Porto de Suape, Pernambuco: em busca de espécies exóticas. *In*: PROCEEDINGS OF THE 3RD CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 3., 2008, Florianópolis. **AOCEANO**, 2008, p. 1-3.
- FARRAPEIRA, C. M. R. The introduction of the bryozoan *Zoobotryon vericillatum* (delle Chiaje, 1822) in northeast of Brazil: a cause for concern. **Biological Invasions**, v. 13, p. 13-16, 2011.
- FEHLAUER-ALE, K. H.; VIEIRA, L. M.; WINSTON, J. E. Molecular and morphological characterizaton of *Amathia distans* Busk and *Amathia brasiliensis* Busk (Bryozoa:Ctenostomata) from the tropical and subtropical Western Atlantic. **Zootaxa**, v. 2962, p. 49-62, 2011.
- FEHLAUER-ALE, K. H.; MACKIE, J. A.; LIM-FONG, G. E.; ALE, E.; PIE, M. R.; WASCHENBACH, A. Cryptic species in the cosmopolitan *Bugula neritina* complex (Bryozoa, Cheilostomata). **Zoologica Scripta**, v. 43, n. 2, p. 193-205, 2014.
- FERNÁNDEZ-PULPEIRO, E.; CREMADES, J.; REVERTER-GIL O. Tipificación de *Ulva intricata* Clemente (1807). **Historia Naturale**, v. 91, p. 581-585, 1992.
- FLOERL, O.; INGLIS, G. J.; GORDON, D. P. Patterns of taxonomic diversity and relatedness among native and non-indigenous bryozoans. **Diversity and Distributions**, v. 15, p. 438-499, 2009.

- FOLINO-ROREM, N. C.; DARLING, J. A.; D'AUSILIO, C. A. Genetic analysis reveals multiple cryptic invasive species of the hydrozoan genus *Cordylophora*. **Biological Invasions**, v. 11, p. 1869-1882, 2009.
- FU, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v. 147, p. 915-925, 1997.
- GALIL, B.; GEVILI, R. *Zoobotryon verticillatum* (Bryozoa: Ctenostomatida: Vesiculariidae), a new occurrence on the Mediterranean coast of Israel. **Marine Biodiversity Records**, v. 7, p. 1-4, 2014.
- GALTIER, N.; NABHOLZ, B.; GLEMIN, S.; HURST, D. D. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. **Molecular Ecology**, v. 18, p. 4541-4550, 2004.
- GANAPHATHI, P. N.; SATYANARAYANA R. K. Fouling bryozoans in Visakhapatnam Harbour. **Current Science**, v. 37, p. 81-89, 1968.
- GAONKAR, C. A.; SAWANT, S. S.; ANIL, A. C.; VENKAT HARKANTRA K.; SADANAND N. H. Changes in the occurrence of hard substratum fauna: A case study from Mumbai harbour, India. **Indian Journal of Marine Sciences**, v. 39, p. 74-84, 2010.
- GAUTIER, Y. V. Premiér faunule des bryozoaires des cotes syriennes. **Vie et Milieu**, v. 7, p. 556 -561, 1956.
- GODWIN, L. Hull fouling of maritime vessels as a pathway for marine species invasions to the Hawaiian Islands. **Biofouling**, v. 19, n. 808, p. 123-131, 2003.
- GORDON, D. P. A report on the ectoproct polyzoa of some Auckland shores. **Journal of Auckland University Field Club**, v. 13, p. 43-76, 1967.
- GORDON, D. P.; MAWATARI, S. F. Atlas of marine-fouling Bryozoa of New Zealand ports and harbours. **Miscellaneous Publications of the New Zealand Oceanographic Institute**, v. 107, p. 1-52, 1992.
- GORDON, D. P.; SPENCER JONES, M. The amathiiiform Ctenostomata (phylum Bryozoa) of New Zealand—including four new species, two of them of probable alien origin. **Zootaxa**, v. 3647, n.1, p. 75-95, 2013.

- GOSSETT, L.; LESTER, J.; GONZALEZ, L. **Galveston Bay Invasive Species Risk Assessment Final Report**. Texas: Environmental Institute of Houston, University of Houston-Clear Lake, 2004.
- HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- HASTINGS, A. B. Report on the Polyzoa of the Suez Canal. **Transactions of the Zoological Society of London**, v. 22, n. 8, p. 331-354, 1927.
- HAYES, K.; SLIWA, C.; MIGUS, S.; MCENNULTY, F.; DUNSTAN, P. **National priority pests**: Part II - Ranking of Australian marine pests. Department of Environment and Heritage by CSIRO Marine Research, 2005.
- HEWITT, C. L.; CAMPBELL, M. L.; THRESHER, R. E.; MARTIN, R. B.; BOYD, S.; COHEN, B. F.; CURRIE, D. R.; GOMON, M. F.; KEOUGH, M. J.; LEWIS, J. A.; LOCKETT, M. M.; MAYS, N.; MCARTHUR, M. A.; O'HARA, T. D.; POORE, G. C. B. D.; ROSS, J.; STOREY, M. J.; WATSON, J. E.; WILSON, R. S. Introduced and cryptogenic species in Port Phillip Bay, Victoria, Australia. **Marine Biology**, v. 144, p. 183-202, 2004.
- HIPÓLITO, C.; TORRES, P.; COSTA, A. Aspectos da biologia da espécie invasora *Zoobotryon verticillatum* (Della Chiaje, 1822) em São Miguel Açores. In: XVI SIMPÓSIO IBÉRICO DE ESTUDOS DE BIOLOGIA MARINHA, 2010, Alicante, Espanha, p. 166.
- HOARE, K.; GOLDSOHN, A. J.; GIANNASI, N.; HUGHES, R. N. Molecular phylogeography of the cosmopolitan bryozoan *Celleporella hyalina*: cryptic speciation? **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 18, p. 488-492, 2001.
- HOLLAND, B. S. Genetics of marine bioinvasions. **Hydrobiologica**, v. 420, p. 63-71, 2000.
- HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics**, v. 17, p. 754-755, 2001.
- INTERNATIONAL Code of Zoological Nomenclature. 4. ed. London: International Trust for Zoological Nomenclature, 1999.
- IKIN, R.; DOGLEY, D. Invasive Alien Species Review for UNDP-GEF PDF-B Project. **Mainstreaming Biodiversity in Seychelles Final Report**, p. 81, 2005.

- INGLIS, G; GUS, N.; FITRIDGE, I.; FLOERL, O.; WOODS, C.; HAYDEN, B.; FENWICK, G.
Gulf Harbour Marina: Baseline survey for non-indigenous marine species.
Biosecurity New Zealand Technical Paper, v. 12, p. 1-76, 2005.
- JELLY, E. C. **A synonymic catalogue of the recent marine Polyzoa**. London, 1889.
- JOLIET, L. Bryozoaires nouveaux de Roscoff et Bryozoaires de Menton. **Archives de Zoologie Expérimentale et Générale**, v. 2, n. 6, p. 103-109. 1888.
- JUNQUEIRA, A. O. R; LAVRADO, H. P.; VIANA, M. S.; PINTO, M. M. Zoobentos de substrato consolidado. *In*: VILLAC, M. C.; FERNANDES, F. C.; JABLONSKI, S.; LEAL NETO, A. C.; COUTINHO, B. H. **Biota da área sob influência do Porto de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil**: Levantamento de dados pretéritos. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2004, p. 7-56.
- KALUZA, P.; KOLZSCH, A.; GASTNER, M. T.; BLASIUS, B. The complex network of global cargo ship movements. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 7, p. 1093-1103, 2010.
- KELMO, F.; ATTRILL, M. J.; GOMES, R. C. T.; JONES, M. B. El Niño induced local extinction of coral reef bryozoan species from Northern Bahia, Brazil. **Biological Conservation**, v. 118, n. 5, p. 609-617, 2004.
- KINZIE, R. A. Aloha also means goodbye: a cryptogenic stomatopod in Hawaii. **Pacific Science**, v. 38, p. 298-311, 1984.
- KISS, L. BÉRES, I. Anthropogenic factors behind the recent population expansion of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) in Eastern Europe: is there a correlation with political transitions? **Journal of biogeography**, v. 33, n. 12, p. 2156-2157, 2006
- KIT, D. L. T. Étude du milieu pollué: Le vieux-port de Marseille influence des conditions physiques et chimiques sur la physionomie du peuplement de Quai. **Tethys**, v. 3, n. 4, p. 767-826, 1972.
- KNAPP, I. S.; GODWIN, L. S.; SMITH, J. E.; WILLIAMS, C. J.; BELL, J. J. Records of non-indigenous marine species at Palmyra Atoll in the US Line Islands. **Marine Biodiversity Records**, v. 4, p. 1-7, 2011.

- KREMER, L. P.; ROCHA, R. M.; ROPER, J. J. An experimental test of colonization ability in the potentially invasive *Didemnum perlucidum* (Tunicata, Ascidiacea). **Biological Invasions**, v. 12, p., 1581-1590, 2010.
- KUKLINSKI, P.; BARNES, D. K. A. First bipolar benthic brooder. **Marine Ecology Progress Series**, v. 401, p. 15-20, 2010.
- LÁRUSON, A. J.; CRAIG, S. F.; MESSER, K. J.; MACKIE, J. A. Rapid and reliable inference of mitochondrial phylogroups among *Watersipora* species, an invasive group of ship-fouling species (Bryozoa, Cheilostomata). **Conservation Genetics Resources**, v. 4, n. 3, p. 617-619, 2012.
- LEE, H. J.; KWAN, Y. S.; KONG, S. R.; MIN, B. S.; SEO, J. E.; WON, Y. J. DNA barcode examination of Bryozoa (class: Gymnolaemata) in Korean seawater. **Korean Journal of Systematic Zoology**, v. 27, p. 159-163, 2011.
- LI, C. Bryozoa in the fouling organisms in water from Xisha Islands to the southern Hainan Island. **Marine Science Bulletin**, v. 6, 1983.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1451-1452, 2009.
- LIPKIN Y.; SAFRIEL U. Intertidal zonation on rocky shores at Mikhmoret (Mediterranean, Israel). **Journal of Ecology**, v. 59, p. 1-30, 1971.
- MACK, R. N.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, W. M.; EVANS, H.; CLOUT M.; BAZZAZ F. A. Biotic Invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. **Ecological Applications**, v. 10, n. 3, p. 689-710, 2000.
- MACKIE, J. A.; KEOUGH, M. J.; CHRISTIDIS, L. Invasion patterns inferred from cytochrome oxidase I sequences in three bryozoans, *Bugula neritina*, *Watersipora subtorquata*, and *Watersipora arcuata*. **Marine Biology**, v. 149, p. 285-295, 2006.
- MACKIE, J. A.; DARLING, J. A.; GELLER, J. B. Ecology of cryptic invasions: latitudinal segregation among *Watersipora* (Bryozoa) species. **Scientific reports**, v. 2, p. 871, 2012.
- MAMAYEV, O. I. **Temperature Salinity analysis of world ocean waters**. Amsterdam: Elsevier, 1975.

- MARCUS, E. Briozoários Marinhos Brasileiros 1. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, v. 1, p. 1-221, 1937.
- MARCUS, E. Briozoários Marinhos Brasileiros 2. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, v. 2, p. 1-196, 1938.
- MAWATARI, S.; MAWATARI, S. F. **Bryozoans**, *In*: Studies of fouling organisms. Koseisha-Koseikaku, Tokyo, 1986, p. 71-106.
- MCGOVERN, T.; HELLBERG, M. E. Cryptic species, cryptic endosymbionts, and geographic variation in chemical defenses in the bryozoan *Bugula neritina*. **Molecular Ecology**, v. 12, p. 1207-1215, 2003.
- MCKINNEY, F. K.; JACKSON, J. B. C. **Bryozoan Evolution**. Chicago: University of Chicago Press, 1991.
- MEGALLY, A. H. **Ecological study on marine fouling organisms in the Eastern Harbour of Alexandria**. 1970. 240 f. Thesis (Masters) - Faculty of Science, Alexandria University, 1970.
- MENON, N. R. Species of the Sub-ordem Ctenostomata Busk (Bryozoa) from Indian Waters. **International Review of Hydrobiology**, v. 57, n. 4, p. 599-629, 1972.
- MIGOTTO, A. E.; WINSTON, J. E. Briozoários marinhos do litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil: inventário preliminar. *In*: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DEL MAR, 11., 2005, Viña del Mar. **Exposiciones Póster – Bentos**. Viña del Mar: Escuela de Ciências del Mar. Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso, 2005. p. 2-4.
- MINCHIN, D. Rapid assessment of the bryozoan, *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1822) in marinas, Canary Islands. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, p. 2146-2150, 2012.
- MINCHIN, D.; LODOLA, A.; OCCHIPINTI-AMBROGI, A. The occurrence of *Caprella scaura* (Amphipoda: Caprellidae) in marinas in Lanzarote Island (Canary Archipelago, Macaronesia). **Marine Biodiversity Records**, v. 5, p. 113, 2012.
- MORTON, J.; MILLER, M. **The New Zealand Seashore**. London: Collins, 1968.
- MÜLLER, F. Das Kolonialnervensystem der Moosthiere, nachgewiesen an *Serialaria coutinhii* n. sp. **Desterro**, v. 13, p. 311-319, 1860.

- MÜLLER, F. On the Common nervous System (Kolonialnervensystem) of the Bryozoa (Polyzoa) exemplified in *Serialaria continhii* n. sp. **Quarternaly Journal of Microbiology**, v. 1, p. 300, 1861.
- NANDAKUMAR, K. Importance of timing of panel exposure on the competitive outcome and succession of sessile organisms. **Marine Ecology Progress Series**, v. 131, n. 191-203, 1996.
- NIKULINA, E. A.; HANEL R.; SCHÄFER P. Cryptic speciation and paraphyly in the cosmopolitan bryozoans *Electra pilosa* — Impact of the Tethys closing on species evolution. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 45, p. 765-776, 2007.
- O'DONOGHUE, C. H.; WATTEVILLE, D. E. The fishery grounds near Alexandria. XX - Bryozoa. **Fouadi Institute of Hydrobiology & Fisheries, Notes & Memoirs**, v. 34, p. 1-58, 1939.
- OCCHIPINTI-AMBROGI, A. Recent developments in the history of the bryozoans of the lagoon of Venice: biodiversity and environmental stress. *In*: PROCEEDINGS OF THE 11TH INTERNATIONAL BRYOZOOLOGY ASSOCIATION CONFERENCE. 11. 2000. Lawrence Kansas: Allen Press, 2000. p. 305-315.
- OLENIN, S.; MINCHIN, D. Biological introductions to the systems: macroorganisms. *In*: ELLIOTT, M.; KENNISH, M. J. **Human-Induced Problems (Uses and Abuses) Treatise on Estuarine and Coastal Science**. Elsevier, v. 8, p. 149-183, 2011.
- ORTEGA, M. J.; ZUBIA, E.; SALVA, J. A new brominated indole-3-carbaldehyde from the marine bryozoan *Zoobotryon verticillatum*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 4, p. 633-636, 1993.
- OSBURN, R. C. The Bryozoa of the Woods Hole Region. **Bulletin Bureau Fisheries**, v. 30, n. 1910, p. 205, 1912.
- OSBURN, R. C. The Bryozoa of Curaçao. **Bijdragen tot de Dierkunde**, v. 25, p. 123-132, 1927.
- OSBURN, R. C. Scientific survey of Porto Rico and the Vingin Islands. **The New York Academy of Sciences**, v. 16, n. 3, p. 323-486, 1940.

- PARENTI, L. R.; EBACH, M. C. **Comparative biogeography**: discovering and classifying biogeographical patterns of a dynamic Earth. University of California Press, 2009.
- PEREIRA, F. R.; BERLINCK, R. G. S.; FILHO, E. R.; VELOSO, K.; FERREIRA, A. G.; PADULA, V. Metabólitos secundários dos nudibrânquios *Tambja stegosauriformis*, *Hypselodoris lajensis* e *Okenia zoobotryon* e dos briozoários *Zoobotryon verticillatum* e *Bugula dentata* da costa do Brasil. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2194-2201, 2012.
- PERGENS, E. Notes Succintes sur les Bryozoaires. **Bulletin de la Société Royale de Malacol de Belgique.**, v. 151, p. 57-62, 1889.
- PHILIPPS, E. G. Report on the Polyzoa. **Zoological Results Based on Material from New Britain, New Guinea, Loyalty Islands and Elsewhere by Arthur Willey**, v. 4, 1889.
- POSADA, D. jModelTest: phylogenetic model averaging. **Molecular Biology and Evolution**, v. 25, n. 1253-1256, 2008.
- PRENANT, M.; BOBIN, G. **Bryozoaires**: 1° partie – Entoproctes, Phylactolèmes, Cténostomes. In: LECHEVALIER, P. Faune de France. Paris, 1956.
- QUOY & GAIMARD, 1824. In: MARCUS, E. Briozoários Marinhos Brasileiros **1. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, v. 1, p. 141, 1937.
- RAMADAN, S. H. E. **Ecological and systematic studies on the marine fouling of the northern part of the Suez canal**. 1986. 428 f. Thesis (Ph.D.) - Faculty of Science, Mansoura University, 1986.
- RAMALHO, L. V.; MURICY, G.; TAYLOR, P. D. Taxonomic revision of some lepraliomorph cheilostome bryozoans (Bryozoa: Lepraliomorpha) from Rio de Janeiro State, Brazil. **Journal of Natural History**, v. 45, n. 13, p. 767-798, 2011.
- RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, p. 355-364, 2007.

- REICHERT, K. B. **Vergleichende anatomische Untersuchungen über *Zoobotryon pellucidus* (Ehrenberg)**. Berlim: Buchdruckerei der Koniglichen Akademik der Wissenschaften, 1870.
- RELINI, G. Le comunità dominanti nel 'fouling' portuale di Genova. **Nature**, v. 57, p. 136-156, 1966.
- RIES, E.; SCHOLZEL, G. **Beitrage zu problemen der vitalen farbung**. Marinen Biologischen Station der Balearen, Palma de Mallorca, und dem Laboratorium ffir experimentelle Histologie des Zoologischen Instituts der Reichsuniversitat Utrecht, 1934.
- ROBERTSON, A. Report on a collection of Bryozoa from the Bay of Bengal and other eastern seas. **Records of the Indian Museum**, v. 22, p. 33-65, 1921.
- ROBINSON, N. M. **Interactions between the nudibranch *Okenia zoobotryon* and its bryozoan prey *Zoobotryon verticillatum***. 2000. 75 f. Thesis (Marter of Science) – College of Arts and Sciences, University of Central Florida, Orlando, 2000.
- RUIZ, G. M.; FOFONOFF, P. W.; CARLTON, J. T.; WONHAM, M. J.; HINES, A. H. Invasion of coastal marine communities in North America: apparent patterns, processes and biases. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 31, p. 481-531, 2000.
- SANTAGATA, S. The morphology and evolutionary significance of the ciliary fields and musculature among marine bryozoan larvae. **Journal of Morphology**, v. 269, p. 349-364, 2008a.
- SANTAGATA, S. Evolutionary and structural diversification of the larval nervous system among marine bryozoans. **Biological Bulletin**, v. 215, p. 3-23, 2008b.
- SATO, A.; FENICAL, W. Gramine-derived bromo-alkaloids from the marine bryozoan *Zoobotryon verticillatum*. **Tetrahedron Lett**, v. 24, p. 481-484, 1983.
- SATYANARAYANA, R.; GANAPHATHI, P. N. Ecology of fouling bryozoans at Visakhapatnam harbour. **Indian Academy of Sciences Animal**, v. 87, n. 3, p. 63-75, 1978.
- SCHWANINGER, H. R. Population structure of the widely-dispersing marine bryozoan *Membranipora membranacea* (Cheilostomata): implications for population

- history, biogeography, and taxonomy. **Marine Biology**, v. 135, p. 411-423, 1999.
- SCHWANINGER, H. R. Global mitochondrial DNA phylogeography and biogeographic history of the antitropically and longitudinally disjunct marine bryozoan *Membranipora membranacea* L. (Cheilostomata): Another cryptic marine sibling species complex? **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, p. 893-908, 2008.
- SHARP, J. H.; WINSON, M. K.; PORTER, J. S. Bryozoan metabolites: an ecological perspective. **Natural product reports**, v. 24, p. 659-673, 2007.
- SMALLWOOD, 1910. In: ZIRPOLO, G. S. C. *Zoobotryon verticillatum* Delle Chiaje. Roma: Scuola Tipografica Pio X, 1933.
- SOULE, J. D. Results of the Puritan-American Museum of Natural History Expedition to Western Mexico. **American Museum of Natural History**, v. 2144, 1963.
- SOULE, D. F.; SOULE, J. D. Bryozoan fouling organisms from Oahu, Hawaii with a new species of *Watersipora*. **Bulletin of the Southern California Academy of Sciences**, v. 67, n. 4, p. 203-218, 1968.
- SOUTO, J.; FERNÁNDEZ-PULPEIRO, E.; REVERTER-GIL, O. The genus *Amathia* Lamouroux (Bryozoa: Ctenostomata) in Iberian waters. **Cahiers de Biologie Marine**, v. 51, p. 181-195, 2010.
- SOUTO, J.; FERNÁNDEZ-PULPEIRO, E.; REVERTER-GIL, O. Presence of rhizoids in two species of the genus *Bowerbankia* (Bryozoa: Ctenostomata) and their systematic relevance. **Journal of Natural History**, v. 45, p. 2543-2557, 2011.
- SPALDING, M. D.; FOX, H. E.; ALLEN, G. R.; DAVIDSON, N.; FERDANA, Z. A.; FINLAYSON, M.; HALPERN, B. S.; JORGE, M. A.; LOMBANA, A.; LOURIE, S. A.; MARTIN, K. D.; MCMANUS, E.; MOLNAR, J.; RECCHIA, C. A.; ROBERTSON, J. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. **BioScience**, v. 57, n. 7, p. 573, 2007.
- SWAMI, B. S.; UDHAYAKUMAR, M. Seasonal influence on settlement, distribution and diversity of fouling organisms at Mumbai harbor. **Indian Journal of Marine Sciences**, v. 39, p. 57-67, 2010.

- TAJIMA, F. Evolutionary Relationship of DNA sequences in finite populations. **Genetics Society of America**, v. 105, p. 437-460, 1983.
- TAJIMA, F. Statistical-Method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics Society of America**, v. 123, n. 3, p. 585-595, 1989.
- TAMSOURI, N.; CARMONA, L.; MOUKRIM, A.; CERVERA, J. L. *Polycerella emertoni* and *Favorinus ghanensis*: two new alien sea slug molluscs from the Moroccan Atlantic coasts. **Marine Biodiversity Records**, v. 7, p. 13, 2014.
- TILBROOK, K. J. Bryozoa, Cheilostomata: First records of two invasive species in Australia and the northerly range extension for a third. **Checklist**, v. 8, n. 1, p. 181-183, 2012.
- UNGARTE, J. C. Contribuição al conocimiento de la obra ficológica de Simón de Rojas Clemente (1777-1827): **Tipificación de los nuevos nombres de su Ensayo. Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 51, n. 1, p. 3-32, 1993.
- VIEIRA, L. M. Sistemática e distribuição dos briozoários marinhos do litoral de Maceió, Alagoas. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- VIEIRA, L. M.; MIGOTTO, A. E.; WINSTON, J. E. Synopsis and annotated checklist of recent marine Bryozoa from Brazil. **Zootaxa**, v. 1810, p. 1-39, 2008.
- VIEIRA, L. M.; MIGOTTO, A. E.; WINSTON, J. E. Ctenostomatous Bryozoa from São Paulo, Brazil, with descriptions of twelve new species. **Zootaxa**, v. 4, p. 485-524, 2014.
- VON MARTENS, G. **Italien - Bd III**. Stuttgart, 1844.
- WAESCHENBACH, A; TAYLOR, P. D.; LITTLEWOOD, D. T. J. A molecular phylogeny of bryozoans. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 62, p. 718-735, 2012.
- WAESCHENBACH, A.; VIEIRA, L.; REVERTER-GIL, O.; SOUTO-DERUNGS, J.; NASCIMENTO, K.; FEHLAUER-ALE, K. A phylogeny of Vesiculariidae (Bryozoa, Ctenostomata) supports synonymisation of three genera and reveals possible cryptic diversity. **Zoological Scripta**. (Submetido em março de 2015).

- WALTERS, L. J.; ABGRALL, M. J. Impact of drift species (*Gracilaria compressa*, *Zoobotryon verticillatum*) on the recruitment and fitness of sessile invertebrates. **American Zoologist**, v. 40, n. 6, p. 925-1273. 2000.
- WATERS, A. W. Reports on the marine biology of the Sudanese Red Sea. XV – The Bryozoa Cyclostomata, Ctenostomata and Endoprocyta. **Journal of the Linnean Society of London**, n. 31, p. 231-256, 1910.
- WATERS, A. W. The marine fauna of British East- Africa and Zanzibar, from collections made by Cyril Crossland in the years 1901-1902. **Journal of the Linnean Society of London**, p. 458-537, 1914.
- WATERS, A. W. Some collections of the littoral marine fauna of the Cape Verde Islands, made by Cyril Crossland – Bryozoa. **Journal of the Linnean Society of London**, v. 34, p. 1-45, 1918.
- WHITELEGGE, T. List of the Marine and Fresh-water Invertebrate Fauna of Port Jackson and Neighbourhood. **Journal and proceedings of the Royal Society of New South Wales**, v. 23, p. 282, 1889.
- WILLIAMS, S. L. Introduced species in seagrass ecosystems: Status and concerns. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 350, p. 89-110, 2007.
- WINSTON, J. E. Marine bryozoans (Ectoprocta) of the Indian River area, Florida. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 173, p. 99-176, 1982.
- WINSTON, J. E. Ectoproct diversity of the Indian River coastal lagoon. **Bulletin Marine Science**, v. 57, n. 1, p. 84-93, 1995.
- WINSTON, J. E. Diversity and distribution of bryozoans in the Pelican Cays, Belize, Central America. **Attol research bulletin**, v. 546, p. 1-24, 2008.
- WINSTON, J. E. Stability and Change in the Indian River Area Bryozoan Fauna over a Twenty-Four Year Period. **Smithsonian Contributions to the Marine Sciences**, v. 38, p. 229-239, 2009.
- WINSTON, J. E.; VIEIRA, L. M. Systematics of interstitial encrusting bryozoans from southeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 3710, n. 2, p. 101-146, 2013.

- WIRTZ, P.; CANNING-CLODE, J. The invasive bryozoans *Zoobotryon verticillatum* has arrived at Madeira Island. **Aquat Invasions**, v. 4, n. 4, p. 669-670, 2009.
- WRIGHT, S. **Evolution and the Genetics of Populations: Variability Within and Among Natural Populations**. Chicago: University of Chicago Press, 1978.
- YEDUKONDALA R. P.; SARMA, C. R. Some biochemical compounds of bryozoan, *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1828) in the inner harbor of Visakhapatnam, east coast of India. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, n. 5, p. 355-362, 2013.
- ZIMMER, R.; WOOLLACOTT, R. Anatomy of the larva of *Amathia vidovici* (Bryozoa: Ctenostomata) and phylogenetic significance of the vesiculariform larva. **Journal of Morphology**, v. 215, p. 1-29, 1993.
- ZIRPOLO, G. S. C. Ricerche sulla rigenerazione del *Zoobotryon pellucidum*, Ehrenberg. **Associazione et Convezione Unione Zoologica**, n. 20, p. 12-15, 1921.
- ZIRPOLO, G. S. C. Le restituzioni dei rami coloniali del *Zoobotryon pellicidum*, Ehrenberg. **Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli**, v. 5, p. 97-113. 1924.
- ZIRPOLO, G. S. C. ***Zoobotryon verticillatum* Delle Chiaje**. Roma: Scuola Tipografica Pio X, 1933.

Resumo

Zoobotryon verticillatum (delle Chiaje, 1822) é um briozoário cosmopolita amplamente distribuído em regiões tropicais e temperadas em todos os oceanos. Por possuir meios de distribuição natural restritos, é possível supor que o táxon se trate de um complexo de espécies crípticas ou de uma espécie vastamente introduzida por ação antrópica. Para elucidar essa questão, foram realizadas análises populacionais e filogenéticas utilizando-se dois genes mitocôndrias, citocromo c oxidase subunidade 1 região 3' (COI-3P) e subunidade ribossomal RNA 16S (16S). As análises filogenéticas suportaram o monofiletismo de *Z. verticillatum* e, juntamente com as análises populacionais, indicam que é uma única espécie distribuída mundialmente. A falta de uma estrutura geográfica evidente nas redes haplotípicas, a ausência majoritária de relacionamentos dicotômicos e clados altamente suportados (pp $\geq 95\%$) nas árvores filogenéticas, a falta de resultados significativos na maioria dos teste D e Fs realizados, a baixa diversidade genética em nível populacional e a falta de diferenciação genética entre a maioria das populações comparadas são compatíveis com um processo distribuição antrópico para *Z. verticillatum*. No entanto, com base nos resultados obtidos durante esta pesquisa, não é possível inferir um possível centro de dispersão ou local de origem para a espécie.

Abstract

Zoobotryon verticillatum (delle Chiaje, 1822) is a cosmopolitan bryozoan largely distributed in tropical and temperate waters of all oceans. With limited natural dispersal capabilities, it is reasonable to suppose that the taxon is a complex of cryptic species or a widespread species due to anthropogenic activity. In order to elucidate this question, analyses of two mitochondrial genes, cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) and ribosomal RNA subunit (16S) were conducted. Phylogenetic data supported the monophyletism of *Z. verticillatum* and, together with the population analysis, indicated that it is one species with worldwide distribution. The absence of geographical structure in the haplotype networks, the majority absence of dichotomous relationships, and highly supported clades (pp $\geq 95\%$) in phylogenetic trees, the lack of significance in the D test and Fs statistics, the low genetic diversity at the population level and the lack of genetic differentiation between most of the population comparison are consistent with anthropogenic introduction process for *Z. verticillatum*. However, based on the results obtained during this study, it is not yet possible to infer the center of dispersion for the species.

Anexos

Anexo 01: Códigos e localidades de coleta dos espécimes de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) (Bryozoa, Ctenostomata, Vesiculariidae) utilizados no presente trabalho. Legenda: Coletores – A.E.M., Alvaro E. Migotto; A.W., Andrea Waeschenbach; B.S.A., Bruno S. Aguiar; C.M.C., Carlos M. Cunha; C.G.T., Cláudio G. Thiago; C.L., Chiara Lombardi; J.E.W., Judith E. Winston; K.H.F.A., Karin H. Fehlaue-Ale; K.T., Kevin Tilbrook; L.A.H.S., Larissa A. H. Santos, L.M.V., Leandro M. Vieira; L.O.S., Lícia O. Sales; M.T.H., María Tovar-Hernández; R.C.D., Rafael C. Duarte; O.R.G., Oscar Reverter-Gil; R.R., Rosana Rocha. Substrato – A, alga; B/C, boia ou corda; E, esponja; F, flutuante; H, hidrozoário; N, casco de navio; P, píer; Pn, pneu; R, rocha; S, sedimento.

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
BRASIL						
Z127	CE, Fortaleza, Marina Park	3°38'57.14"S	38°36'21.85"W	set/11	L.M.V	P
Z128	CE, Fortaleza, Marina Park	3°38'57.14"S	38°36'21.85"W	set/11	L.M.V	P
Z133	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z134	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z135	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z136	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z137	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z138	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z139	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	P
Z140	RN, Natal, Praia da Rendinha Velha	5°45'28.72"S	35°12'24.11"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	A

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z141	RN, Natal, Praia do Forte	5°45'21.26"S	35°11'44.15"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	A
Z142	RN, Natal, Praia do Forte	5°45'21.26"S	35°11'44.15"W	dez/13	B.S.A.; L.A.H.S.	A
Z181	BA, Salvador, Marina Sol Victória	12°59'23.82"S	38°31'34.40"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	E
Z182	BA, Salvador, Marina Sol Victória	12°59'23.82"S	38°31'34.40"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	E
Z183	BA, Salvador, Marina Sol Victória	12°59'23.82"S	38°31'34.40"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	E
Z184	BA, Salvador, Marina Sol Victória	12°59'23.82"S	38°31'34.40"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	E
Z201	BA, Salvador, Marina Sol Victória	12°59'23.82"S	38°31'34.40"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z175	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z176	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z177	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z178	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z179	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z180	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z200	BA, Salvador, Praia da Ribeira	12°54'50.03"S	38°29'30.28"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	S
Z185	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z186	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z187	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z188	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z189	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z190	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z191	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z192	BA, Ilha de Itaparica, Píer Ferry Boat	12°55'33.40"S	38°37'13.12"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z193	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z194	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z195	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z196	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z197	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z198	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z199	BA, Ilhéus, Porto de Ilhéus	14°46'57.10"S	39° 1'57.61"W	nov/13	B.S.A.; K.B.N.	P
Z87	ES, Vitória, Iate Clube Espírito Santo	20°17'56.88"S	40°17'24.24"W	dez/12	B.S.A.	E
Z88	ES, Vitória, Iate Clube Espírito Santo	20°17'56.88"S	40°17'24.24"W	dez/12	B.S.A.	E
Z89	ES, Vitória, Iate Clube Espírito Santo	20°17'56.88"S	40°17'24.24"W	dez/12	B.S.A.	E
Z90	ES, Vitória, Iate Clube Espírito Santo	20°17'56.88"S	40°17'24.24"W	dez/12	B.S.A.	P
Z91	ES, Vitória, Iate Clube Espírito Santo	20°17'56.88"S	40°17'24.24"W	dez/12	B.S.A.	P
Z78	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z79	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z80	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z81	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z82	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z83	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z84	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z85	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z86	ES, Vitória, Praia Curva da Jurema	20°18'34.25"S	40°17'2.68"W	dez/12	B.S.A.	P
Z100	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z92	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z93	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z94	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z95	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z96	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z97	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z98	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z99	RJ, Canal de Cabo Frio	22°52'36.93"S	42° 0'24.47"W	dez/12	B.S.A.	B/C
Z101	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Enseada do Forno	22°57'59.34"S	42° 0'27.44"W	dez/12	B.S.A.	F
Z102	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Enseada do Forno	22°57'59.34"S	42° 0'27.44"W	dez/12	B.S.A.	F
Z103	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Enseada do Forno	22°57'59.34"S	42° 0'27.44"W	dez/12	B.S.A.	F
Z104	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Enseada do Forno	22°57'59.34"S	42° 0'27.44"W	dez/12	B.S.A.	F
Z105	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Enseada do Forno	22°57'59.34"S	42° 0'27.44"W	dez/12	B.S.A.	F
Z106	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Porto do Forno	22°58'13.37"S	42° 1'5.81"W	dez/12	B.S.A.	Pn
Z129	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Porto do Forno	22°58'13.37"S	42° 1'5.81"W	dez/12	B.S.A.	P
Z130	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Porto do Forno	22°58'13.37"S	42° 1'5.81"W	dez/12	B.S.A.	P
Z131	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Porto do Forno	22°58'13.37"S	42° 1'5.81"W	dez/12	B.S.A.	P
Z132	RJ, Arraial do Cabo, Búzios, Porto do Forno	22°58'13.37"S	42° 1'5.81"W	dez/12	B.S.A.	P
Z34	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z35	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z36	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z37	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z38	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z39	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z40	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z41	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z42	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Pier Matariz	23° 6'56.31"S	44°15'32.47"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z43	RJ, Angra dos Reis, Ilha Grande, Praia Araçatibinha	23° 9'22.35"S	44°20'2.24"W	out/12	A.E.M.; A.W.; B.S.A.; J.E.W.; K.H.F.A.; L.M.V.	P
Z107	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	R
Z108	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	R
Z109	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	P
Z110	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	P
Z111	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	P
Z112	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	P
Z113	SP, Ubatuba, Saco da Ribeira	23°29'55.82"S	45° 7'0.22"W	jan/13	B.S.A.; K.B.N.; L.O.S.; R.C.D.	S
Z120	SP, Caraguatatuba, Praia do Camaroeiro	23°37'29.64"S	45°24'29.05"W	jan/13	K. B.N.	R
Le1	SP, São Sebastião, Canal de São Sebastião	23°49'40.85"S	45°24'39.72"W		L.M.V	
Z03	SP, São Sebastião, Pier Pontal da Cruz	23°46'52.96"S	45°23'47.79"W	dez/09	L.M.V	P
Z06	SP, São Sebastião, Pier Pontal da Cruz	23°46'52.96"S	45°23'47.79"W	dez/09	L.M.V	P
Z205	SP, São Sebastião, Praia Barequeçaba	23°49'37.78"S	45°26'12.79"W	jan/14	B.S.A.	
Z206	SP, São Sebastião, Praia Barequeçaba	23°49'37.78"S	45°26'12.79"W	jan/14	B.S.A.	
Z114	SP, São Sebastião, Praia Calhetas	23°49'52.40"S	45°31'18.85"W	jan/13	B.S.A.	R
Z115	SP, São Sebastião, Praia Calhetas	23°49'52.40"S	45°31'18.85"W	jan/13	B.S.A.	R
Z116	SP, São Sebastião, Praia Calhetas	23°49'52.40"S	45°31'18.85"W	jan/13	B.S.A.	R
Z117	SP, São Sebastião, Praia Calhetas	23°49'52.40"S	45°31'18.85"W	jan/13	B.S.A.	R
Z118	SP, São Sebastião, Praia Calhetas	23°49'52.40"S	45°31'18.85"W	jan/13	B.S.A.	R
Z119	SP, São Sebastião, Praia Calhetas	23°49'52.40"S	45°31'18.85"W	jan/13	B.S.A.	R
Z11	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	abr/12	C.G.T.	

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z12	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	
Z13	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z14	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z15	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z16	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z17	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z18	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z19	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z20	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z21	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	jul/12	C.G.T.	R
Z01	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	nov/09	C.G.T.	R
Z02	SP, São Sebastião, Praia do Araçá	23°48'54.72"S	45°24'22.44"W	nov/09	C.G.T.	R
Z57	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z45	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z46	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z47	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z48	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z49	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z50	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z51	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z52	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z53	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z54	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z55	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z56	SP, São Sebastião, Praia do Cabelo Gordo	23°49'38.48"S	45°25'18.81"W	nov/12	R.C.D.	A
Z29	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/11	A.E.M.; B.S.A.	P
Z22	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z23	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z24	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z25	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z26	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z27	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z28	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z30	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z31	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	ago/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z58	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	nov/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z59	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	nov/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z60	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	nov/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z61	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	nov/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z62	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	nov/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z63	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	nov/12	A.E.M.; B.S.A.	P
Z158	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	dez/09	A.E.M.; B.S.A.	P
Z159	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	dez/09	A.E.M.; B.S.A.	P
Z160	SP, Ilhabela, Iate Clube Ilhabela	23°46'28.16"S	45°21'18.51"W	dez/09	A.E.M.; B.S.A.	P
Z64	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z65	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z66	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z67	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z68	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z69	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z70	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z71	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z72	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z73	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z74	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z75	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z76	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Z77	SP, São Vicente	23°58'26.39"S	46°23'6.51"W	nov/12	C.M.C.	
Sf40	SC, São Francisco do Sul	26°13'45.75"S	48°37'37.67"W	mar/09	R.R.	P
Z161	SC, São Francisco do Sul, Praia da Figueira	26°13'45.75"S	48°37'37.67"W	out/13	B.S.A.	P
Z162	SC, São Francisco do Sul, Praia da Figueira	26°13'45.75"S	48°37'37.67"W	out/13	B.S.A.	P
Z163	SC, São Francisco do Sul, Praia da Figueira	26°13'45.75"S	48°37'37.67"W	out/13	B.S.A.	P
Z164	SC, São Francisco do Sul, Praia da Figueira	26°13'45.75"S	48°37'37.67"W	out/13	B.S.A.	P
Z165	SC, São Francisco do Sul, Praia da Figueira	26°13'45.75"S	48°37'37.67"W	out/13	B.S.A.	P
Z171	SC, Penha, Praia da Armação	26°46'50.76"S	48°36'13.51"W	out/13	B.S.A.	S
Z172	SC, Penha, Praia da Armação	26°46'50.76"S	48°36'13.51"W	out/13	B.S.A.	R
Z173	SC, Penha, Praia da Armação	26°46'50.76"S	48°36'13.51"W	out/13	B.S.A.	S
Z174	SC, Penha, Praia da Armação	26°46'50.76"S	48°36'13.51"W	out/13	B.S.A.	S
Z166	SC, Penha, Praia do Trapiche	26°47'11.57"S	48°36'16.61"W	out/13	B.S.A.	P

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
Z167	SC, Penha, Praia do Trapiche	26°47'11.57"S	48°36'16.61"W	out/13	B.S.A.	P
Z168	SC, Penha, Praia do Trapiche	26°47'11.57"S	48°36'16.61"W	out/13	B.S.A.	P
Z169	SC, Penha, Praia do Trapiche	26°47'11.57"S	48°36'16.61"W	out/13	B.S.A.	P
Z170	SC, Penha, Praia do Trapiche	26°47'11.57"S	48°36'16.61"W	out/13	B.S.A.	P
Z144	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z143	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z145	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z146	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z147	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z148	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z149	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z150	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
Z151	SC, Porto Belo, Praia de Porto Belo	27° 9'14.76"S	48°32'42.45"W	mar/13	B.S.A.	P
EUA						
Z211	Flórida, Fort Pierce, Coon Island	27°47'14.26"N	80°30'11.60"W	set/13	L.A.H.S.	
Z08	Flórida, Fort Pierce, Little Jim	27°26'48.14"N	80°19'32.16"W	fev/11	J.E.W.	H
Z09	Flórida, Fort Pierce, Little Jim	27°26'48.14"N	80°19'32.16"W	fev/11	J.E.W.	H
Z10	Flórida, Fort Pierce, Little Jim	27°26'48.14"N	80°19'32.16"W	fev/11	J.E.W.	H
Z209	Flórida, Fort Pierce, Little Jim	27°26'48.14"N	80°19'32.16"W	jul/13	L.A.H.S.	
Z212	Flórida, Fort Pierce, Little Jim	27°26'48.14"N	80°19'32.16"W	set/13	L.A.H.S.	
Z208	Flórida, Fort Pierce, Jack Island	27°49'64.25"N	80°31'58.83"W	jul/13	L.A.H.S.	
Z210	Flórida, Fort Pierce, Jupiter	27°42'87.87"N	80°34'11.18"W	ago/13	L.A.H.S.	
Z207	Flórida, Peacock's Pocket	28°60'54.36"N	80°73'71.85"W	mar/13	L.A.H.S.	

Continuação do Anexo 01

Código da amostra	Local de coleta	Coordenadas geográficas		Data	Coletor	Substrato
		Latitude	Longitude			
ITÁLIA						
Z202	Savona, New Darsena, Porto de La Spezia	44°6'0.00"N	9°49'60.00"E	ago/13	C.L.	
Z203	Savona, New Darsena, Porto de La Spezia	44°6'0.00"N	9°49'60.00"E	ago/13	C.L.	
Z204	Savona, New Darsena, Porto de La Spezia	44°6'0.00"N	9°49'60.00"E	ago/13	C.L.	
ESPANHA						
Z32	Ilhas Baleares, Menorca, Cala em Brut	40°00'03.036"N	03°48'23.959"E	jul/12	O.R.G	R
Z33	Ilhas Baleares, Menorca, Cala em Brut	40°00'03.036"N	03°48'23.959"E	jul/12	O.R.G	R
AUSTRÁLIA						
Z44	Queensland, Townsville, Nelly Bay	19°9'33.50"S	146°51'8.20"L	out/11	K.T.	
Z121	Queensland, Townsville, TSV boat club marina	19°15'31"S	146°49'21"E	jun/11	K.T.	
Z122	Queensland, Townsville, TSV boat club marina	19°15'31"S	146°49'21"E	jun/11	K.T.	
Z123	Queensland, Townsville, TSV boat club marina	19°15'31"S	146°49'21"E	jun/11	K.T.	
Z124	Queensland, Townsville, TSV boat club marina	19°15'31"S	146°49'21"E	jun/11	K.T.	
Z125	Queensland, Townsville, TSV boat club marina	19°15'31"S	146°49'21"E	jun/11	K.T.	
Z126	Queensland, Townsville, TSV boat club marina	19°15'31"S	146°49'21"E	jun/11	K.T.	
MÉXICO						
Z153	Baja California Sur, Golfo da Califórnia, API La Paz	24°16.447'N	110°19.852'W	ago/11	M.T.H.	C
Z154	Baja California Sur, Golfo da Califórnia, API La Paz	24°16.447'N	110°19.852'W	ago/11	M.T.H.	C
Z155	Baja California Sur, Golfo da Califórnia, Marina La Paz	24°09.296'N	110°19.566'W	ago/11	M.T.H.	P
Z157	Baja California Sur, Golfo da Califórnia, Palmira La Paz	24°10.886'N	110°18.213'W	ago/11	M.T.H.	P
Z152	Sonora, Golfo da Califórnia, Guayanas	27°56.732'N	111°05.547'W	ago/11	M.T.H.	P
Z156	Sonora, Golfo da Califórnia, Guayanas	27°56.732'N	111°05.547'W	ago/11	M.T.H.	P

Anexo 02: Dados moleculares dos espécimes de *Zoobotryon verticillatum* (delle Chiaje, 1822) (Bryozoa, Ctenostomata, Vesiculariidae) utilizados no presente trabalho. Amostras com os campos em branco não resultaram em boas extrações e/ou sequenciamento do DNA. Amostras com asterisco foram publicadas por FEHLAUER-ALE *et al.* (2011).

Código da amostra	Designação do haplótipo		Combinações dos haplótipos COI-3P + 16S	Número de acesso ao GenBank	
	COI-3P	16S		COI-3P	16S
BRASIL					
Z127	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438817	KM438616
Z128	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438816	KM438615
Z133	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438815	KM438614
Z134	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438814	KM438613
Z135	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438813	KM438612
Z136	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438812	KM438611
Z137	Hap1	Hap2	Concatenação 2	KM438811	KM438610
Z138	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438810	KM438609
Z139	Hap1			KM438809	
Z140	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438808	KM438608
Z141	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438807	KM438607
Z142	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438806	KM438606
Z181	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438818	KM438617
Z182	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438798	KM438598
Z183	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438797	KM438597
Z184	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438796	KM438596
Z201	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438795	KM438595
Z175	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438805	KM438605
Z176	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438804	KM438604
Z177	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438803	KM438603
Z178	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438802	KM438602
Z179	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438801	KM438601
Z180	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438800	KM438600
Z200	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438799	KM438599
Z185	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438794	KM438594
Z186	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438793	KM438593
Z187	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438792	KM438592
Z188	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438791	KM438591
Z189	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438790	KM438590
Z190	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438789	KM438589
Z191	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438788	KM438588
Z192	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438787	KM438587
Z193	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438786	KM438586
Z194	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438785	KM438585
Z195	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438784	KM438584

Continuação do Anexo 02

Código da amostra	Designação do haplótipo		Combinações dos haplótipos COI-3P + 16S	Número de acesso ao GenBank	
	COI-3P	16S		COI-3P	16S
Z196	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438783	KM438583
Z197	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438782	KM438582
Z198	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438781	KM438581
Z199	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438780	KM438580
Z87	Hap1	Hap3	Concatenação 3	KM438779	KM438579
Z88	Hap1	Hap3	Concatenação 3	KM438778	KM438578
Z89	Hap3	Hap2	Concatenação 10	KM438777	KM438577
Z90	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438776	KM438576
Z91	Hap1	Hap3	Concatenação 3	KM438775	KM438575
Z78	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438774	KM438574
Z79	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438773	KM438573
Z80	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438772	KM438572
Z81	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438771	KM438571
Z82	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438770	KM438570
Z83	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438769	KM438569
Z84	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438768	KM438568
Z85	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438767	KM438567
Z86	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438766	KM438566
Z100	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438757	KM438557
Z92	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438765	KM438565
Z93	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438764	KM438564
Z94	Hap3	Hap2	Concatenação 10	KM438763	KM438563
Z95	Hap3	Hap2	Concatenação 10	KM438762	KM438562
Z96	Hap3	Hap2	Concatenação 10	KM438761	KM438561
Z97	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438760	KM438560
Z98	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438759	KM438559
Z99	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438758	KM438558
Z101	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438756	KM438556
Z102	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438755	KM438555
Z103	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438754	KM438554
Z104	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438753	KM438553
Z105	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438752	KM438552
Z106	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438751	KM438551
Z129	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438750	KM438550
Z130	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438936	KM438732
Z131	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438935	KM438731
Z132	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438934	KM438730
Z34	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438933	KM438729
Z35	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438932	KM438728
Z36	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438931	KM438727

Continuação do Anexo 02

Código da amostra	Designação do haplótipo		Combinações dos haplótipos COI-3P + 16S	Número de acesso ao GenBank	
	COI-3P	16S		COI-3P	16S
Z37	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438930	KM438726
Z38	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438929	KM438725
Z39	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438928	KM438724
Z40	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438927	KM438723
Z41	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438926	KM438722
Z42	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438925	KM438721
Z43	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438924	KM438720
Z107	Hap1	Hap4	Concatenação 4	KM438921	KM438717
Z108	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438920	KM438716
Z109	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438919	KM438715
Z110	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438918	KM438714
Z111	Hap1	Hap4	Concatenação 4	KM438917	KM438713
Z112	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438923	KM438719
Z113	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438922	KM438718
Z120	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438916	KM438712
Le1	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438913	JF490050*
Z03	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438915	KM438711
Z06	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438914	KM438710
Z205	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438888	KM438685
Z206	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438887	KM438684
Z114	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438886	KM438683
Z115	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438885	KM438682
Z116	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438884	KM438681
Z117	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438883	KM438680
Z118	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438882	KM438679
Z119	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438881	KM438678
Z11	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438911	KM438707
Z12	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438910	KM438706
Z13	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438909	KM438705
Z14	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438908	KM438704
Z15	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438907	KM438703
Z16	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438906	KM438702
Z17	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438905	KM438701
Z18	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438904	KM438700
Z19	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438903	KM438699
Z20	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438902	KM438698
Z21	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438901	KM438697
Z01	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM373584*	JF490050*
Z02	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438912	JF490050*
Z57					

Continuação do Anexo 02

Código da amostra	Designação do haplótipo		Combinações dos haplótipos COI-3P + 16S	Número de acesso ao GenBank	
	COI-3P	16S		COI-3P	16S
Z45	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438900	KM438696
Z46	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438899	KM438695
Z47	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438898	KM438694
Z48	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438897	KM438693
Z49	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438896	KM438692
Z50	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438895	KM438691
Z51	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438894	KM438690
Z52	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438893	KM438689
Z53	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438892	KM438688
Z54	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438891	KM438687
Z55	Hap1			KM438890	
Z56	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438889	KM438686
Z29					
Z22	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438880	KM438677
Z23	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438879	KM438676
Z24	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438878	KM438675
Z25	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438877	KM438674
Z26	Hap1	Hap4	Concatenação 4	KM438876	KM438673
Z27	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438875	KM438672
Z28	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438874	KM438671
Z30	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438873	KM438670
Z31	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438872	KM438669
Z58					
Z59					
Z60					
Z61					
Z62					
Z63					
Z158					
Z159					
Z160					
Z64	Hap1			KM438871	
Z65	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438870	KM438668
Z66	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438869	KM438667
Z67	Hap1			KM438868	
Z68	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438867	KM438666
Z69	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438866	KM438665
Z70	Hap1			KM438865	
Z71	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438864	KM438664
Z72	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438863	KM438663

Continuação do Anexo 02

Código da amostra	Designação do haplótipo		Combinações dos haplótipos COI-3P + 16S	Número de acesso ao GenBank	
	COI-3P	16S		COI-3P	16S
Z73	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438862	KM438662
Z74	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438861	KM438661
Z75	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438860	KM438660
Z76	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438859	KM438659
Z77	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438858	KM438658
Sf40	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438857	KM438657
Z161	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438856	KM438656
Z162	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438855	KM438655
Z163	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438854	KM438654
Z164	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438853	KM438653
Z165	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438852	KM438652
Z171	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438846	KM438646
Z172	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438845	KM438645
Z173	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438844	KM438644
Z174	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438843	KM438643
Z166	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438851	KM438651
Z167	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438850	KM438650
Z168	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438849	KM438649
Z169	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438848	KM438648
Z170	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438847	KM438647
Z144					
Z143	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438842	KM438642
Z145	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438841	KM438641
Z146	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438840	KM438640
Z147	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438839	KM438639
Z148	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438838	KM438638
Z149	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438837	KM438637
Z150	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438836	KM438636
Z151	Hap2	Hap1	Concatenação 7	KM438835	KM438635
EUA					
Z211					
Z08	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438834	KM438634
Z09	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438833	KM438633
Z10	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438832	KM438632
Z209					
Z212					
Z208					
Z210					
Z207					

Continuação do Anexo 02

Código da amostra	Designação do haplótipo		Combinações dos haplótipos COI-3P + 16S	Número de acesso ao GenBank	
	COI-3P	16S		COI-3P	16S
ITÁLIA					
Z202	Hap1	Hap7	Concatenação 6	KM438821	KM438621
Z203	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438820	KM438620
Z204	Hap1	Hap7	Concatenação 6	KM438819	KM438619
ESPANHA					
Z32	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438831	KM438631
Z33	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438830	KM438630
AUSTRÁLIA					
Z44	Hap2	Hap6	Concatenação 9	KM438829	KM438629
Z121	Hap2	Hap6	Concatenação 9	KM438828	KM438628
Z122	Hap2	Hap6	Concatenação 9	KM438827	KM438627
Z123	Hap1	Hap6	Concatenação 5	KM438826	KM438626
Z124	Hap2	Hap5	Concatenação 8	KM438825	KM438625
Z125	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438824	KM438624
Z126	Hap1	Hap1	Concatenação 1	KM438823	KM438623
MÉXICO					
Z153					
Z154					
Z155					
Z157					
Z152					
Z156	Hap2	Hap6	Concatenação 9	KM438822	KM438622