



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro de Tecnologia e Ciências

Faculdade de Oceanografia

Brenda dos Santos Ramos

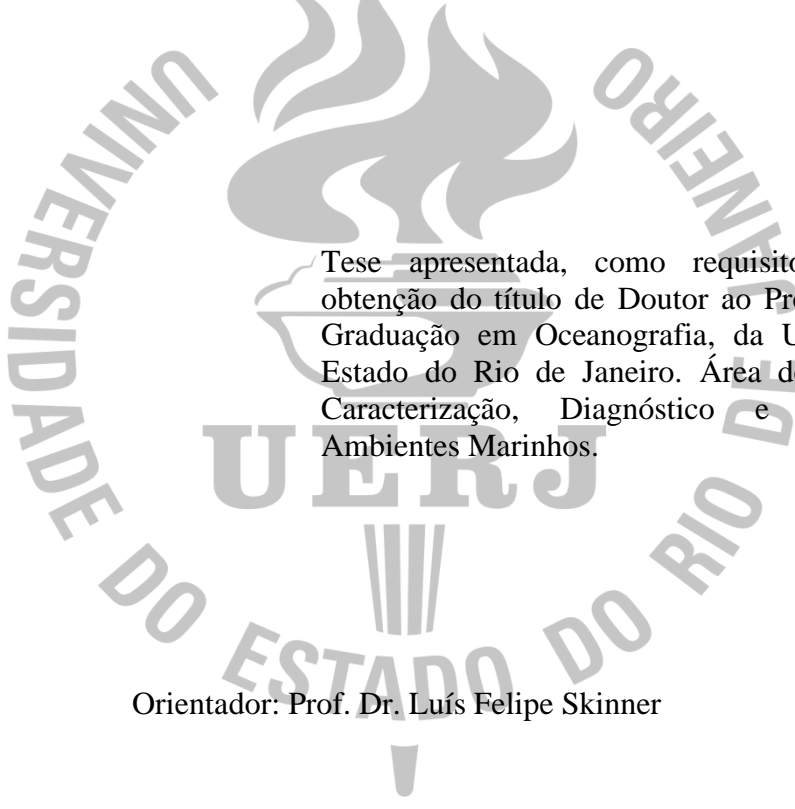
Simbiontes associados a ascídias solitárias na costa brasileira

Rio de Janeiro

2024

Brenda dos Santos Ramos

Simbiontes associados a ascídias solitárias na costa brasileira



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Caracterização, Diagnóstico e Evolução de Ambientes Marinhos.

Orientador: Prof. Dr. Luís Felipe Skinner

Rio de Janeiro

2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/C

R175 Ramos, Brenda dos Santos.
Simbiontes associados a ascídias solitárias na costa brasileira / Brenda dos Santos Ramos. – 2024.
104 f. : il.

Orientador: Luís Felipe Skinner.
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Faculdade de Oceanografia.

1. Gestão ambiental - Brasil - Teses. 2. Biodiversidade – Teses. 3. Macrofauna bentônica – Teses. 4. Impacto ambiental – Teses. 5. Organismo marinho - Teses. I. Skinner Luís Felipe. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Oceanografia. III. Título.

CDU: 639.64(81)

Bibliotecária Responsável: Priscila Freitas Araujo/ CRB-7: 7322

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Brenda dos Santos Ramos

Simbiontes associados a ascídias solitárias na costa brasileira

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Caracterização, Diagnóstico e Evolução de Ambientes Marinhos.

Aprovada em 29 de Fevereiro de 2024.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luís Felipe Skinner (Orientador)

Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof.^a Dr.^a. Gisele Lobo Hajdu

Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. André Resende de Senna

Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. Fabiano Paschoal de Oliveira

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof.^a Dr.^a. Rayane Sorrentino Ribeiro

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

Rio de Janeiro

2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que me ajudaram na caminhada da vida, em especial a minha família e a minha avó Maria de Lourdes (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar força e coragem para persistir e confiar que a realização desse trabalho seria possível, mesmo em meio a tantas adversidades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luís Felipe Skinner, mestre, pai na ciência e na vida, por todo comprometimento, ensinamentos, paciência e companheirismo ao me orientar. Pelas trocas sinceras e profundas em dias de campo, laboratório ou qualquer lugar, virtual ou presencialmente. Mas principalmente, por acreditar em mim desde a graduação e seguir ao meu lado me apoiando.

Às(aos) professora(e)s Gisele Lobo, Tatiana Bisi e Tito Lotufo, por todo cuidado e atenção, direcionamento, correções e incentivo no trabalho, durante os seminários internos e fora deles também.

À Prof. Dra. Helena Lavrado, pelas sugestões, conselhos, parceria e toda a disposição em me ajudar nesse trabalho.

Aos professores Dr. Fabiano Paschoal, pela identificação dos copépodes, Dr. André R. Senna, pela identificação dos crustáceos dos grupos Amphipoda e Tanaidacea, e Dra. Alexandra E. Rizzo, pela identificação dos poliquetas. Sem vocês este trabalho não seria o mesmo.

A todos amigos cientistas que auxiliaram e ajudaram nas coletas. Muito obrigada por disponibilizarem o tempo e o entusiasmo de vocês em cada ponto de coleta que estivemos juntos ou a distância. Obrigada, Humberto, por mediar as coletas em Abrolhos, Emílio Lanna e Vinicius Padula, por coletarem espécimes na Bahia e Alagoas. Obrigada, Melanie, por me abrigar na sua casa e me acompanhar arduamente na busca por ascídias na Região dos Lagos. Obrigada, Rayane S. e Guilherme que encararam uma viagem de carro pelo litoral paulista em busca de ascídias. Obrigada, Arthur, por também nos acolher na sua casa no Espírito Santo, na incansável busca ao lado do meu orientador. Obrigada, Géssica, Amanda e Rayane A., pela companhia e parceria nas coletas na Baía da Ilha Grande. Muito obrigada, todos vocês são parte fundamental na realização deste trabalho.

Um agradecimento especial aos meus amigos Paulo e Natália, que além de grandes companhias de coleta e da vida, foram grandes presentes que a UERJ me deu, me ajudando a seguir e ainda ver graça mesmo nos dias mais difíceis. Obrigada por todos os momentos incríveis, seja velejando por doze dias coletando, papeando sobre a vida ou se aventurando em qualquer lugar do mundo.

A toda equipe do Laboratório de Ecologia e Dinâmica Bêntica Marinha – UERJ, pelos momentos compartilhados, coletas realizadas e apoio constante, mesmo à distância durante a pandemia, para que esse trabalho fosse realizado. Obrigada, Dani, Vini, Tess, Joanny e Marcela.

Aos companheiros do Laboratório de Carcinologia da UERJ, que também compartilharam momentos em laboratório e campos, sempre solícitos e participativos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, por acreditar no meu potencial e me permitir converter o Mestrado em Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Finanças 001 pelas bolsas de estudos concedidas.

Ao Centro de Estudos Ambientais e Desenvolvimento Sustentável (CEADS/UERJ), ESEC Tamoios, Base Norte do IOUSP e Projeto Coral Vivo pelo apoio logístico durante os trabalhos de campo e buscas de *Phallusia nigra* pelo litoral brasileiro.

A todos os amigos, desde os mais recentes aos mais antigos, que entenderam e compartilharam momentos dessa fase da minha vida. Sabemos como foi desafiador, agradeço por permanecerem comigo. Obrigada Larissa, por sempre me motivar a descontar a ansiedade em atividade física e me tirar as risadas mais sinceras, você foi um verdadeiro presente. Obrigada Rayane A., Ana Carolina L. e Caroline C. também, que fizeram parte da minha turma de Mestrado e junto a mim idealizaram e construíram o SimPós Oceano – UERJ. Foi incrível realizar essa empreitada com vocês. Aos meus amigos de embarque, que não me deixaram perder o foco nessa reta final, vou sempre ser grata pela força que me deram.

Um agradecimento especial aos meus amigos Eduardo e Amanda, por estarem ao meu lado em todas as fases da minha vida, boas ou ruins, cultivando a amizade mais pura e sincera. Obrigada por tudo, vocês me provam dia após dia que são os melhores que eu poderia escolher para compartilhar a vida.

Aos meus pais, Márcia Ribeiro dos Santos e Julio Cesar Carvalho Ramos, por serem meus grandes apoiadores e fonte de todo amor que tenho em mim, e ao meu irmão Lucas, tão desejado e amado por mim. Eu não sou capaz de mensurar o quão gratificante é ter vocês ao meu lado. Sem vocês nada disso seria possível ou faria sentido.

A toda a minha família, primo e primas, tios e tias, pelos gestos de carinho e suporte em todos os momentos da minha vida. Principalmente ao meu avô, que sempre me incentivou a continuar, e a minha avó, que apesar de não estar mais aqui gostaria de ver tudo isso se realizar. Eu sei que todos vocês realizam parte desse feito comigo.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concluído com sucesso. Obrigada por estarem aqui.

Se uma pessoa é perseverante, por mais que seja dura de entendimento, se fará inteligente e por mais que seja fraca, se transformará em forte.

Leonardo da Vinci

RESUMO

RAMOS, Brenda dos Santos. **Simbiontes associados a ascídias solitárias na costa brasileira**. 2024. 104 f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Este estudo avaliou a distribuição e abundância de metazoários endossimbiontes nas cavidades internas de ascídias em duas escalas no litoral brasileiro. A primeira, abrangendo quatro espécies de ascídias solitárias: *Phallusia nigra* Savigny, 1816, *Herdmania pallida* (Heller, 1878), *Microcosmus exasperatus* Heller, 1878 e *Styela plicata* (Lesueur, 1823) em uma baía tropical localizada ao Sul do estado do Rio de Janeiro, testou a hipótese de que cada espécie tem uma fauna simbiótica única, sendo influenciada pela localidade e época do ano. A segunda, avalia, em específico, os simbiontes presentes na espécie *Phallusia nigra*, entre os domínios biogeográficos tropical e temperado-quente, na costa do Atlântico Sudeste, entre as latitudes de 9°S e 23°S, e testou a hipótese de que a composição taxonômica dos simbiontes seria influenciada pela localização geográfica. Na Baía da Ilha Grande, foram registrados a associação de um total de 4034 simbiontes, pertencentes a 26 táxons às quatro espécies de ascídias. Um total de 1377 indivíduos pertencentes a oito diferentes táxons foram registrados como simbiontes de *P. nigra* na costa do Atlântico Sudeste. O táxon mais abundante e frequente foi o gênero de anfípode *Leucothoe* (Classe Malacostraca, Ordem Amphipoda), que foi registrado em todas as cavidades corporais de *P. nigra*, ao longo de toda a área estudada. Os demais táxons foram bastante raros, mas apesar disso, Tanaidacea, Copepoda e indivíduos de Polychaeta dos mais diversos gêneros foram registrados pela primeira vez como endossimbiontes de ascídias solitárias no litoral brasileiro. Não observamos nenhum padrão latitudinal para a riqueza de táxons, nem na distribuição dos simbiontes ao longo da BIG. No entanto, a densidade de *Leucothoe* variou entre locais, independentemente do tamanho corporal das ascídias. A ampla distribuição de *P. nigra* nos vários oceanos e alta abundância de simbiontes observada no presente estudo pode viabilizar, no futuro, importantes comparações biogeográficas e ambientais.

Palavras-chave: ascidiacea; relações interespecíficas; endobiontes; Atlântico Sudeste.

ABSTRACT

RAMOS, Brenda dos Santos. **Symbionts associated with solitary sea squirts on the Brazilian coast.** 2024. 104 f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

This study evaluated the distribution and abundance of metazoan endosymbionts in the internal cavities of ascidians at two scales on the Brazilian coast. The first covering four species of solitary ascidians, namely: *Phallusia nigra* Savigny, 1816, *Herdmania pallida* (Heller, 1878), *Microcosmus exasperatus* Heller, 1878 and *Styela plicata* (Lesueur, 1823) in a tropical bay located in the south of the state of Rio de Janeiro, testing the hypothesis that each species has a unique symbiotic fauna, influenced by location and time of year. The second, specifically, evaluates the species *Phallusia nigra*, between the tropical and warm-temperate biogeographic domains, on the Southeast Atlantic coast, between latitudes 9°S and 23°S, testing the hypothesis that the taxonomic composition of the symbionts would be influenced by geographic location. In Ilha Grande Bay, was recorded the association of a total of 4034 symbionts, belonging to 26 taxa and the four species of ascidians. A total of 1377 individuals belonging to eight different taxa were recorded as symbionts of *P. nigra* on the Southeast Atlantic coast. The most abundant and frequent taxon was the amphipod genus *Leucothoe* (Class Malacostraca, Order Amphipoda), which was recorded in all body cavities of *P. nigra*, throughout the entire studied area. The other taxa were quite rare, but despite this, Tanaidacea, Copepoda and individuals of Polychaeta from the most diverse genera was recorded for the first time as endosymbionts of solitary ascidians on the Brazilian coast. We did not observe any latitudinal pattern for taxon richness, nor in the distribution of symbionts throughout the BIG, however, *Leucothoe* density varied between locations, regardless of the body size of the ascidians. The wide distribution of *P. nigra* in various oceans and the high abundance of symbionts observed in the present study may enable important biogeographic and environmental comparisons in the future.

Keywords: ascidiacea; interspecific relationships; endobionts; Southeast Atlantic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fotos das ascídias solitárias utilizadas neste estudo.....	21
Figura 2 –	Faringe e tentáculos das espécies estudadas.....	22
Figura 3 –	Mapa da América do Sul, indicando os três domínios biogeográficos do Brasil, segundo Spalding <i>et al.</i> , (2007)	26
Figura 4 –	Esquema da anatomia de uma ascídia solitária indicando os sifões, a túnica e as cavidades corporais utilizadas pelos simbioses.....	29
Figura 5 –	Mapa com a localização dos pontos de amostragem ao redor da Ilha Grande, no RJ.....	30
Figura 6 –	Mapa indicando os pontos de coleta no litoral do Brasil.....	31
Figura 7 –	Abundância relativa (%) dos <i>táxons</i> encontrados nas quatro espécies de ascídias solitárias da Baía da Ilha Grande (BIG).	35
Figura 8 –	Abundância relativa (%) dos <i>táxons</i> encontrados em <i>Phallusia nigra</i> nas localidades amostradas.....	36
Figura 9 –	Abundância relativa (%) dos <i>táxons</i> encontrados em <i>Microcosmus exasperatus</i> nas localidades amostradas.	37
Figura 10 –	Abundância relativa (%) dos <i>táxons</i> encontrados em <i>Styela plicata</i> nas localidades amostradas.....	38
Figura 11 –	Abundância relativa (%) dos <i>táxons</i> encontrados em <i>Herdmania pallida</i> nas localidades amostradas.....	39
Figura 12 –	Frequência de ocorrência (%) de simbioses nas quatro espécies de ascídias solitárias, em cada campanha, nas localidades amostradas.....	43
Figura 13 –	Abundância média (ind.mL ⁻¹) e desvio padrão dos simbioses associados às cavidades das quatro espécies de ascídias da Baía da Ilha Grande (BIG).....	44
Figura 14 –	Número total de simbioses associados em cada espécie de ascídia em relação ao volume corporal (mL) das mesmas.....	46
Figura 15 –	Densidade (ind.mL ⁻¹) e desvio médio padrão de simbioses de <i>P. nigra</i> nas localidades estudadas.....	47
Figura 16 –	Riqueza de simbioses de <i>Phallusia nigra</i> por localidades.....	48
Figura 17 –	Abundância relativa (%) dos <i>táxons</i> encontrados nas localidades amostradas.....	49

Figura 18 –	Frequência de ocorrência (%) de Simbiontes em <i>P. nigra</i> nas localidades amostradas.....	50
Figura 19 –	Dendrograma construído a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis dos grupos simbiontes de <i>Phallusia nigra</i> no litoral do Brasil.....	51
Figura 20 –	Abundância de simbiontes nas cavidades corporais de <i>Phallusia nigra</i> ...	52
Figura 21 –	Relação entre a abundância dos simbiontes e o volume corporal (mL) dos indivíduos de <i>Phallusia nigra</i> no litoral do Brasil.....	53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Abundância de simbioses por espécie de ascídia em cada localidade.....	34
Quadro 2 – Simbioses associados às cavidades das diferentes espécies de ascídias, independente da campanha e das localidades.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Alagoas
Av	Aventureiro
BA	Bahia
BIG	Baía da Ilha Grande
BR	Bracuhy
CA	Cavidade Atrial
CF	Cavidade Faríngea
cf.	Conforme
CIT	Cavidade Interna da Túnica
COVID-19	Coronavírus 2019
DR	Dois Rios
ES	Espírito Santo
ha	Hectare
Id	Identificado
Ind	Indivíduo
LAT	Latitude
LAEDBEM	Laboratório de Ecologia e Dinâmica Bêntica Marinha
LON	Longitude
LP	Lopes Mendes
Macro	Macro enseada
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Par	Parnaioca
PG	Portogalo
Pi	Piraquara de Fora
PL	Ponta Leste
PV	Praia Vermelha
RJ	Rio de Janeiro
SL	Cais de Santa Luzia
SP	São Paulo
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

UNESCO

Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura

Km

Quilômetro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	DIVERSIDADE DE SIMBIONTES DE ASCÍDIAS SOLITÁRIAS AO REDOR DE UMA BAÍA TROPICAL NO SUDOESTE DO ATLÂNTICO, BRASIL	20
1.1	Distribuição e abundância dos endossimbiontes de <i>Phallusia nigra</i> no litoral do Brasil	24
2	OBJETIVOS	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Coletas na Baía da Ilha Grande	29
3.2	Coletas no litoral do Brasil	30
3.3	Tratamento e análise de dados	32
4	RESULTADOS	33
4.1	Baía da Ilha Grande	33
4.1.1	<u>Campanhas – espécies e localidades</u>	39
4.1.1.1	Macro enseadas	40
4.1.1.2	Pouca alteração costeira.....	40
4.1.1.3	Portos e marinas.....	41
4.1.2	<u>Frequência de ocorrência de simbiontes</u>	42
4.1.3	<u>Presença de simbiontes nas cavidades corporais de ascídias</u>	44
4.1.4	<u>Relação volume corporal X quantidade de simbiontes</u>	46
4.2	Litoral do Brasil	46
4.2.1	<u>Frequência de ocorrência de simbiontes em <i>P. nigra</i></u>	49
4.2.2	<u>Presença de simbiontes nas cavidades corporais de <i>P. nigra</i></u>	51
4.2.3	<u>Volume</u>	52
5	DISCUSSÃO	54
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
	REFERÊNCIAS	64
	APÊNDICE A – Coletas de <i>Phallusia nigra</i> realizadas no litoral do Brasil ..	75

APÊNDICE B – Abundância total e distribuição dos simbioss encontrados nas cavidades corporais de <i>Phallusia nigra</i> nos pontos de amostragem do Litoral do Brasil.....	76
APÊNDICE C – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na Macro enseada 1 (Aventureiro/Parnaioca).....	77
APÊNDICE D – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na Macro enseada 2 (Dois Rios/Lopes Mendes)	78
APÊNDICE E – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas em Piraquara de Fora.....	79
APÊNDICE F – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas em Ponta Leste.....	80
APÊNDICE G – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na Praia Vermelha.....	81
APÊNDICE H – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na marina Portugal.....	82
APÊNDICE I – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na marina Bracuhy.....	83
APÊNDICE J – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas no Cais de Santa Luzia.....	84
ANEXO A – Artigo “A new ascidian-dwelling species of <i>Leucothoe</i> Leach, 1814 (Amphipoda: Leucothoidae) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro state, Brazil” publicado na revista Journal of Natural History (Senna, Andrade, Ramos & Skinner, 2021).....	85

INTRODUÇÃO

As ascídias, metazoários marinhos incluídos no Filo Chordata, Subfilo Tunicata, Classe Ascidiacea são animais bentônicos que se fixam e se desenvolvem em substrato natural ou artificial, podendo ser coloniais ou solitários, além de serem filtradores. Estão presentes em diferentes ecossistemas, podendo ser encontradas desde a região entremarés até regiões abissais, em costões rochosos, recifes de corais e até mesmo sedimentos inconsolidados como fundos lamosos, de cascalho ou areia (ROCHA; DIAS; LOTUFO, 2011). Esses animais estão distribuídos por todo o globo, competindo por espaço e se relacionando com outros organismos, desempenhando funções ecológicas essenciais como nas transferências tróficas (LAMBERT, 2005). São espécies engenheiras que aumentam a diversidade local, modificando a arquitetura do substrato e criando microhabitats, servindo de abrigo para simbioses (MORENO & ROCHA, 2006). As ascídias são envoltas externamente por uma túnica com tecido celularizado e vascularizado, de composição química variada, com diferentes concentrações de fibras de tunicina (celulose). Internamente à túnica, observamos a parede do corpo (manto) envolvendo a cesta branquial/faringe, uma estrutura respiratória e de filtração. Apresentam também dois sifões (aberturas), sendo um oral (inalante) e outro atrial (exalante), que conectam o meio externo à faringe e são responsáveis pela filtração que os indivíduos realizam.

A capacidade de filtração das ascídias é extremamente eficiente, podendo chegar até 540 mL de água por hora por grama de peso úmido do animal (JØRGENSEN, 1955). As ascídias se alimentam basicamente de fitoplâncton e partículas orgânicas em suspensão na água do mar (KARTHIKEYAN *et al.*, 2009), com capacidade de reter partículas até o tamanho de bactérias (FLOOD & FIALA-MÉDIONI, 1979; CONLEY *et al.*, 2018). Essa corrente circulatória em conjunto com as partículas filtradas, a amplitude da cavidade faríngea e da região atrial servem como hábitat para diversos grupos de organismos simbioses, desde microalgas e bactérias (HIROSE & MARUYAMA, 2004) até outros invertebrados marinhos como pequenos crustáceos (THIEL, 2000) e bivalves (CAÑETE & ROCHA, 2013).

Dentre as relações simbióticas interespecíficas que podem ocorrer entre organismos, as mais comuns são o comensalismo, o mutualismo e o parasitismo. Essas relações podem ser classificadas em neutras, positivas ou negativas para o hospedeiro, respectivamente (MARINE, 2016). Relações simbióticas obrigatórias já foram observadas entre ascídias e organismos do gênero *Prochloron* R.A.Lewin, 1977 (Filo Cyanobacteria, Ordem Chroococcales), uma cianobactéria que pode fornecer energia à ascídia através de sua atividade fotossintetizante,

enquanto a ascídia hospedeira pode ser fonte de nitrogênio para *Prochloron*. Este, por sua vez, é responsável pela produção de muitos metabólitos secundários detectados nas ascídias hospedeiras (CHEN & WANG, 2019). Esses metabólitos são encontrados em ascídias provenientes de suas associações, podendo ser úteis na biossíntese de novos compostos bioativos com interesse para a indústria farmacêutica (DOU & DONG, 2019). Além disso, os simbiontes podem ser herdados, ainda na fase larval, sendo muitas das vezes específicos de uma determinada espécie (HIROSE & MARUYAMA, 2004; CHEN & WANG, 2019).

Nas ascídias, os simbiontes podem colonizar áreas como a região circumcloacal e seus canais, a túnica ou ainda órgãos internos (MONNIOT *et al.*, 1991), estrategicamente utilizando-os como locais de abrigo temporário ou de busca de alimento. Esse alimento pode ser selecionado ou não, digerido ou não pela ascídia, podendo os simbiontes serem indicados como parasitos, predadores internos, ou ainda, comensais. Assim, apesar da túnica ser comumente incrustada externamente por invertebrados, bactérias (CHEN & WANG, 2019) e algas (LAMBERT; LAMBERT; WAALAND, 1996), toda a estrutura do animal possibilita a formação de cavidades corporais, formando um micro-habitat que também são utilizados pelos simbiontes.

A diversidade dos simbiontes de ascídias pode variar conforme o ambiente em que estão seus hospedeiros, podendo ser um indicador de qualidade ambiental, tanto em termos de taxa de infestação quanto das espécies simbiontes observadas (SHENKAR & LOYA, 2008). Parasitos, por exemplo, podem ser utilizados como bioindicadores de acúmulo de poluentes, podendo apresentar níveis mais elevados de contaminantes que o próprio ambiente e seu hospedeiro (NACHEV & SURES, 2016). As interações interespecíficas e seus diferentes tipos podem ser utilizados ainda para avaliar a qualidade ambiental (COOPER *et al.*, 2009), classificar ecorregiões (PEREIRA *et al.*, 2014) e estudar a biogeografia da espécie hospedeira (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 2012).

Dentre os grupos de animais marinhos que servem como hospedeiros para invertebrados, as ascídias estão entre os menos estudados. Apesar de já existirem registros de associação entre ascídias e poliquetas (Classe Polychaeta, Filo Annelida) (MARTIN, NYGREN & CRUZ-RIVERA, 2017), anfípodes (Sub-filo Crustacea, Classe Malacostraca, Ordem Amphipoda) (THOMAS & KLEBBA, 2007; SENNA *et al.*, 2021), copépodes (Sub-filo Crustacea, Classe Copepoda) (BRESCIANI & LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2001; JOHANSSON & NEVES, 2012), nemérteos (Filo Nemertea) (DALBY, 1996), e outros metazoários, os estudos nem sempre tem foco na distribuição conjunta do hospedeiro e de sua comunidade simbiote. A maioria dos estudos de metazoários em associação com ascídias, comumente tratam

especificamente do simbiote, indicando assim, o caráter taxonômico de grande parcela dos trabalhos. Isso sinaliza uma ausência de aprofundamento das relações ecológicas dessas interações. Na maioria dos casos, as ascídias são indicadas apenas como hospedeiras da espécie simbiote, muita das vezes nem sendo mencionada a espécie da ascídia, como já observado em Nogueira & Fukuda (2008), Jung, Yi & Yoon (2016) e Cummings *et al.*, (2021).

A Classe Ascidiacea é representada por aproximadamente 3.000 espécies marinhas conhecidas, sendo sua maior diversidade encontrada no Indo-Pacífico (SHENKAR & SWALLA, 2011). Na costa brasileira, Moreno *et al.*, (2014) registraram para o trecho São Paulo - Rio de Janeiro, 61 espécies, considerando o trecho como um dos picos de riqueza do Atlântico Ocidental. Na família Ascidiidae (Classe Ascidiacea) inclusive, a maior concentração de espécies de ascídias é conhecida para o trecho entre os estados da Bahia e São Paulo (BONNET & ROCHA, 2011). No Brasil, a diversidade conhecida para a Classe Ascidiacea estava próxima de 140 espécies em 2021 (SILVA, 2021), sendo conhecidas para o litoral de São Paulo, 70 espécies (ROCHA, DIAS E LOTUFO, 2011) e para o litoral do Rio de Janeiro, 63 espécies (SILVA, 2021).

É sabido que os ecossistemas tropicais abrigam a maior biodiversidade da Terra e, apesar dos inúmeros esforços dos últimos anos (BARLOW *et al.*, 2018), a situação ainda é de pouca informação, como já destacado para o Brasil desde o início do século por Migotto (2000) e Paiva (2015). No entanto, diferentemente do que ocorre em terra, as barreiras de dispersão no mar podem ser relativamente fracas, uma vez que larvas pelágicas de espécies bentônicas podem continuar flutuando na água por dias ou meses (ELLINGSEN & GRAY, 2002). Assim, as espécies se propagam e ampliam suas distribuições no ambiente marinho. Uma destas lacunas de conhecimento dos ecossistemas tropicais marinhos é a chamada diversidade críptica, como a observada em frestas e fendas de recifes de coral (PALOMINO-ALVAREZ *et al.*, 2023), e, também, a diversidade de invertebrados que vivem em simbiose com outros organismos, sobretudo com espécies com valor comercial geograficamente restrito, como é o caso das ascídias.

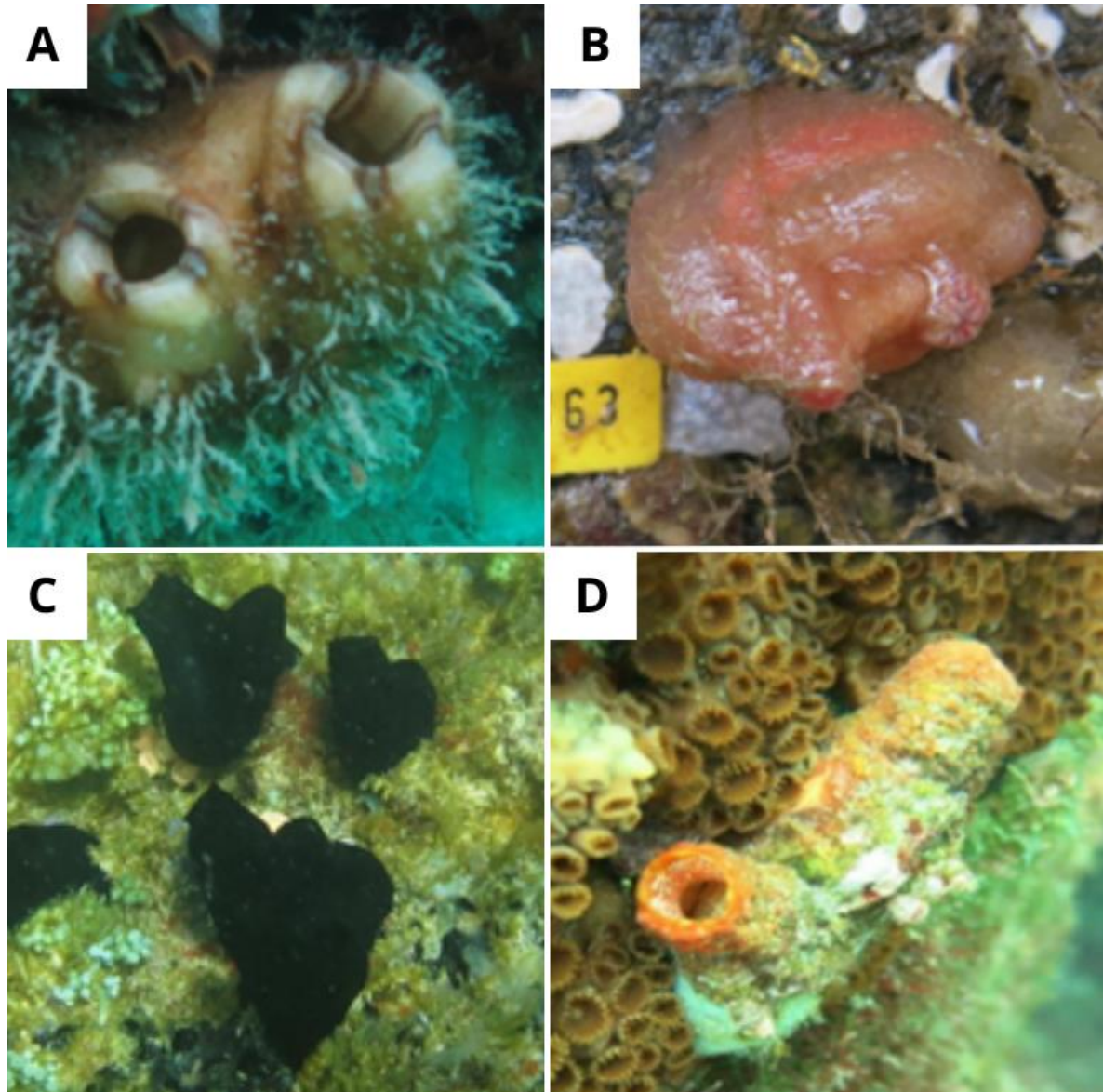
1 DIVERSIDADE DE SIMBIONTES DE ASCÍDIAS SOLITÁRIAS AO REDOR DE UMA BAÍA TROPICAL NO SUDOESTE DO ATLÂNTICO, BRASIL

No litoral do Rio de Janeiro há uma diversidade da classe Ascidiacea de cerca de 63 espécies (SILVA, 2021), entre elas, ascídias solitárias e coloniais, que podem desempenhar o papel de hospedeiras de simbiontes. A Baía da Ilha Grande (BIG), considerada em 2019 como Patrimônio Mundial pela UNESCO (Comitê do Patrimônio Mundial da Organização das Nações Unidas para Educação Ciência e Cultura), é conhecida por sua rica biodiversidade. Com áreas preservadas e unidades de conservação, a BIG é extremamente relevante na conservação de zonas costeiras e marinhas (CREED *et al.*, 2007a). Possui uma área estimada de 65.258 ha e cerca de 350 km de perímetro na linha d'água, estando localizada a oeste do estado do Rio de Janeiro (RJ), entre as latitudes de 22°55'S e 23°18'S e as longitudes de 44°00'W e 44°43'W. A temperatura da água de superfície da região varia entre 24°C a 28°C no verão e 24°C a 26°C no inverno (SEATEMPERATURE, 2020; CREED *et al.*, 2007a), podendo alcançar valores superiores a 30°C ou inferiores a 20°C (SKINNER, 2018). A precipitação anual é superior a 2.000 mm, sendo nos meses de verão a maior incidência de chuva (CEADS, 2012). As águas da BIG são consideradas oligotróficas, sendo caracterizadas, principalmente em sua região mais interna, como uma mistura entre águas costeiras e águas oriundas de rios e estuários, apresentando menores valores de salinidade (<33) e grande variação de temperatura (CREED *et al.*, 2007b). Nela há uma rica diversidade de espécies de ascídias, estimada em mais de 40 espécies (SKINNER *et al.*, 2016).

Quatro espécies de ascídias solitárias são bastante frequentes na BIG: *Phallusia nigra* Savigny, 1816, pertencente à família Ascidiidae, *Herdmania pallida* (Heller, 1878) e *Microcosmus exasperatus* Heller, 1878, incluídas na família Pyuridae, e *Styela plicata* (Lesueur, 1823) na família Styelidae (Figura 1). Esta última espécie é abundante e frequente em regiões portuárias, de marinas, áreas de cultivo ou eutrofizadas (IGNÁCIO *et al.*, 2010; MARINS *et al.*, 2010; SKINNER, BARBOZA & ROCHA, 2016), além de ser considerada invasora no Brasil (DE BARROS *et al.*, 2009). A espécie *P. nigra* pode atingir até 100 mm de comprimento, *S. plicata* e *H. pallida* até 90 mm, e *M. exasperatus* até 55 mm. Diferentemente de *P. nigra*, as espécies *H. pallida*, *M. exasperatus* e *S. plicata* não possuem túnica lisa e apresentam incrustações por outros organismos nesta estrutura. Outra característica importante que difere as quatro espécies são suas faringes e os tipos de tentáculos presentes. *Herdmania pallida* e *M. exasperatus* possuem tentáculos ramificados e ambas as espécies possuem a faringe

pregueada. *Styela plicata* também apresenta a faringe pregueada, mas possui tentáculos simples, assim como *P. nigra*. Essa, por sua vez, se difere por ser a única entre as quatro espécies a possuir a faringe plana, sem dobras (Figura 2).

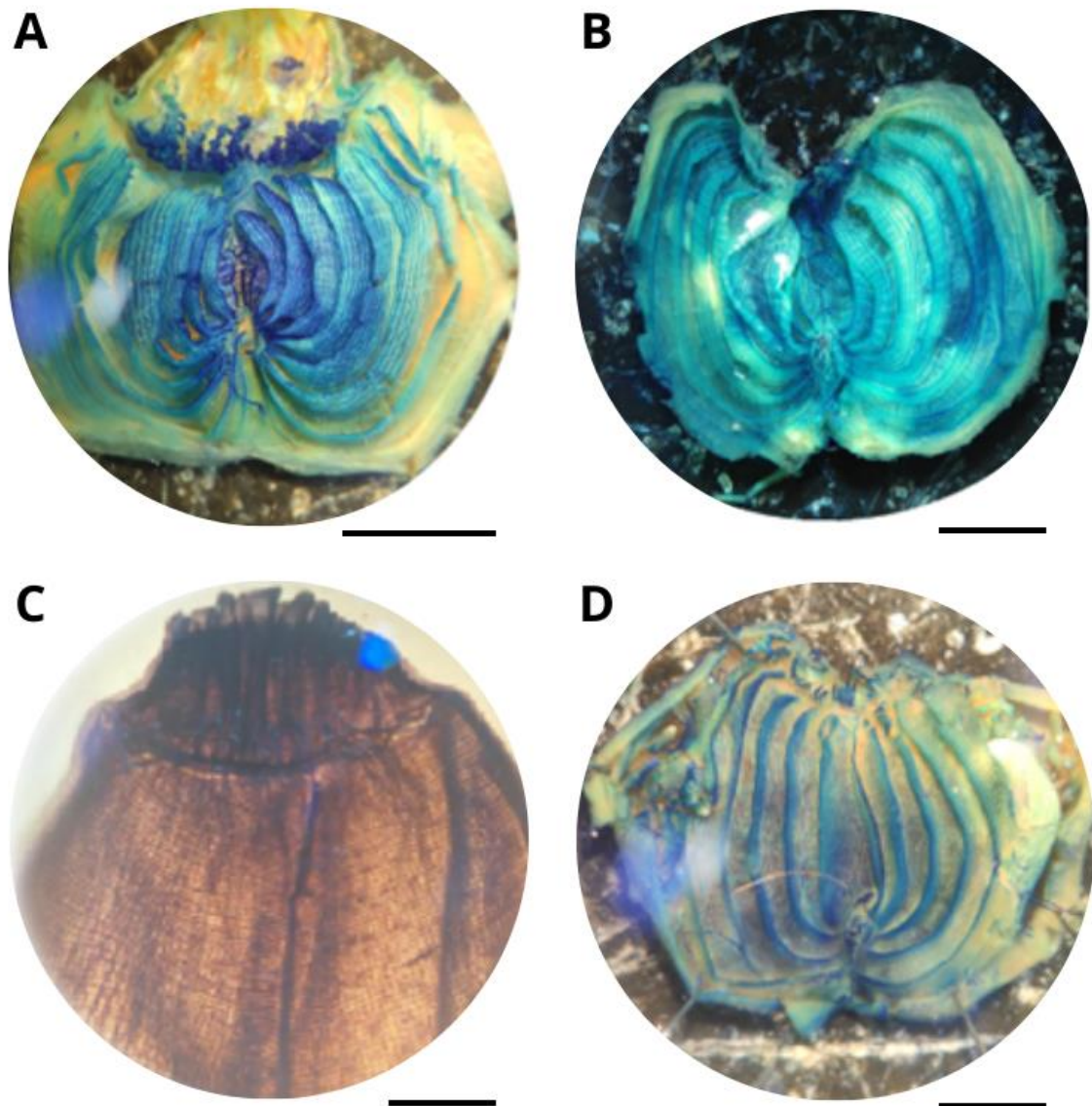
Figura 1 – Fotos das ascídias solitárias da Baía da Ilha Grande (BIG) utilizadas neste estudo



Legenda: Em A: *Styela plicata* (Lesueur, 1823), B: *Herdmania pallida* (Heller, 1878), C: *Phallusia nigra*, D: *Microcosmus exasperatus* Heller, 1878.

Fonte: L.F.Skinner, 2023.

Figura 2 – Faringe e tentáculos das espécies estudadas



Legenda: A: *Microcosmus exasperatus*; B: *Herdmania pallida*; C: *Phallusia nigra*; D: *Styela plicata*; Escala: 1 cm.

Fonte: A autora, 2023.

Na região da BIG, durante estudos taxonômicos do Laboratório de Ecologia e Dinâmica Bêntica Marinha da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (LAEDBEM-UERJ), foram registrados diversos organismos associados à faringe e às demais cavidades internas de ascídias. Dentre esses organismos, os mais frequentes são indivíduos pertencentes a espécies da Ordem Amphipoda (Sub-filo Crustacea, Classe Malacostraca) e da Classe Polychaeta (Filo Annelida), incluindo uma espécie de Amphipoda descrita em 2021 como *Leucothoe angraensis* Senna, Andrade, Ramos & Skinner, 2021, que habita *Phallusia nigra* (SENNA *et al.*, 2021). As relações simbióticas entre estes organismos e as ascídias hospedeiras são pouco estudadas, incluindo a classificação do tipo de interação, quanto aos efeitos na ascídia, podendo ser

positivos, neutros ou negativos. No entanto, já existem relatos de parasitismo exercido por copépodes (BRESCIANI & LOPEZ, 2001) e poliquetas sobre as ascídias hospedeiras (MARTIN, NYGREN & CRUZ-RIVERA, 2017).

Os gêneros das ascídias aqui estudadas já possuem registros de diferentes endossimbiontes em associação, sendo estes pertencentes às classes Malacostraca e Copepoda. Em *Phallusia* é possível encontrar anfípodes da família Leucothoidae Dana, 1852 estabelecendo relações de comensalismo (SENNA *et al.*, 2021), além de outros crustáceos, como decapodas das famílias Palaemonidae Rafinesque, 1815, Pinnotheridae De Haan, 1833 (OLIVEIRA, ALMEIDA & GONÇALVES, 2009; OOISHI, 2014; de GIER W & BECKER C, 2020) e copépodes das famílias Lichomolgidae Kossmann, 1877, Notodelphyidae Dana, 1853, Ascidicolidae Thorell, 1859 e Enteropsidae Thorell, 1859 (LÓPEZ-GONZÁLEZ, MEGINA & CONRADI, 1999; BOXSHALL & MARCHENKOV, 2005; KIM *et al.*, 2016), no entanto, sem estabelecer a classificação de suas interações.

No gênero *Herdmania* também já foram registrados indivíduos das duas famílias de Decapoda mencionadas para *Phallusia*, além de indivíduos de copépodes da família Archinotodelphyidae Lang, 1949. Este, por sua vez, também foi encontrado associado aos gêneros *Microcosmus* e *Styela* (KIM & BOXSHALL, 2020). Assim como para *Phallusia*, *Styela* também foram registrados o copépode da família Notodelphyidae (DUDLEY, 1968) e o Decapoda da família Palaemonidae. Este último também já foi registrado em *Microcosmus* (OOISHI, 2014). Dentre essas relações, apenas as associações de *Styela* com Notodelphyidae e com Leucothoidae foram classificadas, sendo parasitismo e comensalismo, respectivamente.

Ao longo deste estudo, estas quatro espécies de ascídias solitárias e frequentes na BIG (*P. nigra*, *M. exasperatus*, *H. pallida* e *S. plicata*) foram avaliadas a fim de compararmos a riqueza e abundância dos invertebrados associados às suas cavidades corporais nas diferentes localidades e épocas do ano. Assim, buscamos verificar a influência simultânea da localização das áreas amostrais e de diferentes épocas do ano na fauna de endossimbiontes associada aos quatro gêneros aqui representados.

1.1 Distribuição e abundância dos endossimbiontes de *Phallusia nigra* no litoral do Brasil

Phallusia nigra Savigny, 1816 é uma espécie de ascídia solitária, pertencente à família Ascidiidae, presente nas águas tropicais e subtropicais do Atlântico Oeste e Mar Vermelho (BONNET & ROCHA, 2011; VANDEPAS *et al.*, 2015). A distribuição registrada inclui ainda o Caribe e o Golfo do México (PALOMINO-ALVAREZ *et al.*, 2019). *Phallusia nigra* é encontrada tanto nos recifes rochosos como em estruturas artificiais, e possui como característica mais evidente sua túnica preta e lisa, que contrasta com o ambiente, sendo facilmente localizada quando presente nas localidades, e que levou muitos autores a descreverem-na erroneamente no lugar de outras espécies do gênero *Phallusia* (VANDEPAS *et al.*, 2015). Normalmente sua túnica não apresenta incrustações, inclusive estudos de microscopia de varredura já confirmaram que grande parte da túnica é livre, não somente de incrustações, como também de bactérias (MAYZEL, HABER & ILAN, 2014). Além disso, a acidez da túnica de *P. nigra* confere proteção química contra seus predadores (HIROSE, 2001), o que curiosamente torna a espécie e as suas cavidades internas um bom abrigo para endossimbiontes.

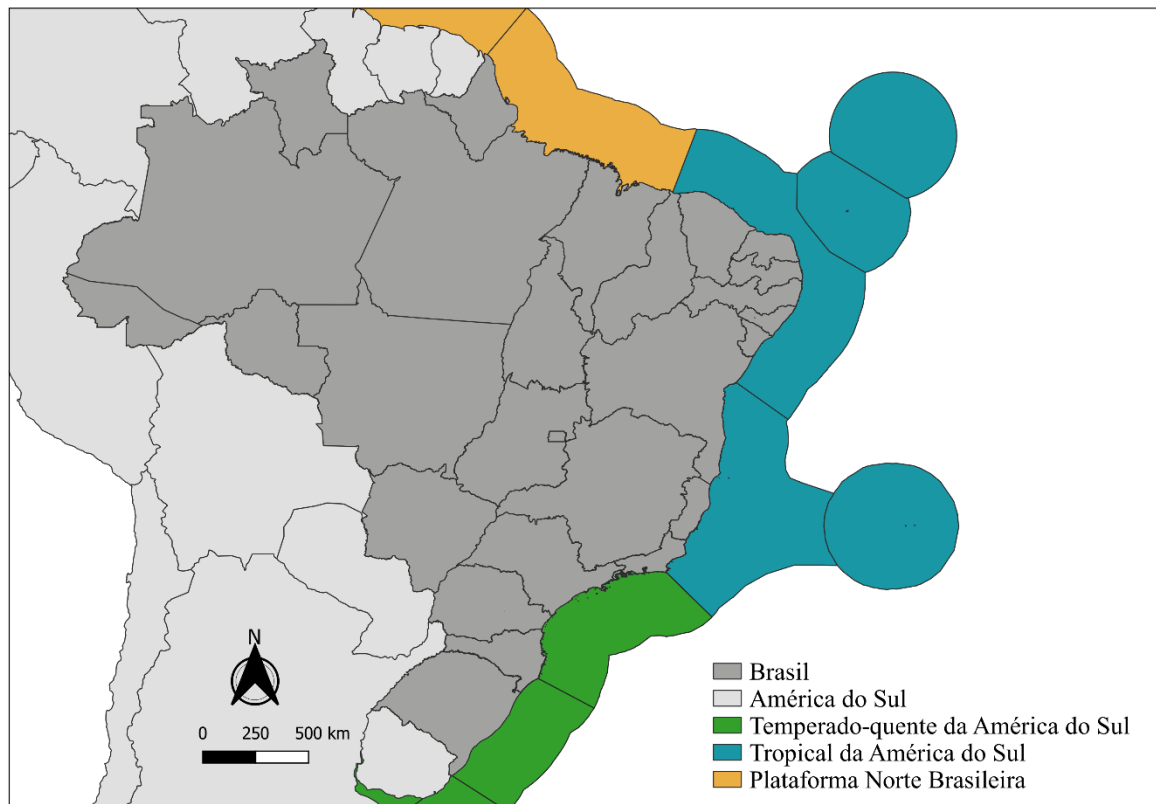
É conhecida a associação de diferentes crustáceos às cavidades de *P. nigra*, *Phallusia mammillata* (Cuvier, 1815), *Phallusia fumigata* (Grube, 1864) e *Phallusia julinea* Sluiter, 1915 (OLIVEIRA, ALMEIDA & GONÇALVES, 2009; OOISHI, 2014; KIM *et al.*, 2016). Até o momento, grande parte das associações não são classificadas como benéficas ou não para as ascídias. No entanto, algumas famílias de copépodes, como Ascidicolidae e Notodelphyidae são usualmente tratadas, de forma generalista e pouco aprofundada, como parasitos em ascídias (CRUZ-RIVERA *et al.*, 2022). No gênero *Phallusia*, as duas famílias de copépodes mencionadas anteriormente já foram encontradas associadas, assim como indivíduos da família Enteropsidae e Lichomolgidae, todos encontrados em *P. mammillata* (KIM *et al.*, 2016). Em *P. nigra*, também já foram encontrados copépodes da família Lichomolgidae e Notodelphyidae associados (LÓPEZ-GONZÁLEZ, MEGINA & CONRADI, 1999; BOXSHALL & MARCHENKOV, 2005). Também houveram registros de anfípodes da família Leucothoidae (SENNA *et al.*, 2021) e decápodes das famílias Palaemonidae e Pinnotheridae (OOISHI, 2014; de GIER W & BECKER C, 2020).

Phallusia nigra é considerada como amplamente distribuída no Brasil, com registros do Ceará a Santa Catarina (BONNET & ROCHA, 2011; AUED, 2018). A linha de costa do Brasil

se estende por mais de 8.500km, sendo a maior costa predominantemente tropical do planeta (DIAS *et al.*, 2013). Considera-se que a costa brasileira abrange três domínios biogeográficos marinhos, *sensu* Spalding *et al* (2007): Plataforma Norte Brasileira, Atlântico Tropical e Temperado-quente da América do Sul (Figura 3). Ao longo deste gradiente latitudinal, observamos diferentes ambientes e ecossistemas, que incluem grandes extensões de manguezais, lagoas, estuários, recifes de corais, costões rochosos e inúmeros substratos artificiais, sobretudo nas proximidades de portos e marinas. A costa brasileira entre 9 e 23°S é banhada pela Corrente do Brasil, originada a partir das águas quentes da Corrente Sul Equatorial (SANTOS & SCHIAVETTI, 2014). Na região de Cabo Frio (23°S) configura-se uma região de transição, sentido Norte-Sul, para o Domínio Temperado-quente do Sudoeste do Atlântico. Um dos fenômenos que causam grande influência nessa transição é a ressurgência do Cabo Frio, cujas águas afloram de aproximadamente 200 a 500 m de profundidade e com temperaturas entre 12 e 18°C (VALENTIN *et al.*, 1987; LIU & TANHUA, 2021). Eventualmente, este fenômeno chega a exercer influência na região da Baía da Ilha Grande (BIG) (CREED *et al.*, 2007a) e até mesmo em regiões mais distantes como a Ilha de São Sebastião (SP).

Mesmo com a grande diferença de ambientes e ecossistemas ao longo da costa brasileira, *P. nigra* consegue se estabelecer nas mais diversas localidades. Por este motivo, a espécie foi escolhida neste estudo como modelo das interações simbióticas em Ascidiacea no litoral brasileiro, pois, além de sua ampla distribuição, permite comparações biogeográficas mais abrangentes no futuro. Assim, estudando os organismos endossimbiontes de *Phallusia nigra*, estamos fornecendo dados que nos permitem comparar a composição, e os padrões de distribuição dos simbiontes entre os domínios Tropical e Temperado-quente do Atlântico Oeste, incluindo a região de transição entre estes (CANTOR *et al.*, 2009).

Figura 3 – Mapa da América do Sul, indicando os três domínios biogeográficos do Brasil, segundo Spalding *et al.*, (2007)



Fonte: A autora, 2023.

Com o intuito de destacar a importância e a diversidade destas associações entre ascídias e seus simbiossitos, e a ecologia destas relações, neste trabalho avaliamos espacialmente e temporalmente a riqueza e abundância de simbiossitos de quatro espécies de ascídias solitárias na Baía da Ilha Grande, no Rio de Janeiro, considerando simultaneamente o uso das diferentes cavidades corporais. Testamos a hipótese de que cada espécie de ascídia possui uma comunidade simbiótica única, a exemplo do que ocorre com a comunidade microbiana de diversas espécies de ascídias, embora essas possam compartilhar simbiossitos dependendo da localidade e época do ano. Além de descrevermos a composição e abundância dos principais táxons simbiossitos de *Phallusia nigra*, testamos biogeograficamente esta distribuição ao longo da costa brasileira em função das características oceanográficas associadas às ecorregiões descritas para o Atlântico Central e Sudoeste, como em Spalding *et al.*, (2007).

2 OBJETIVOS

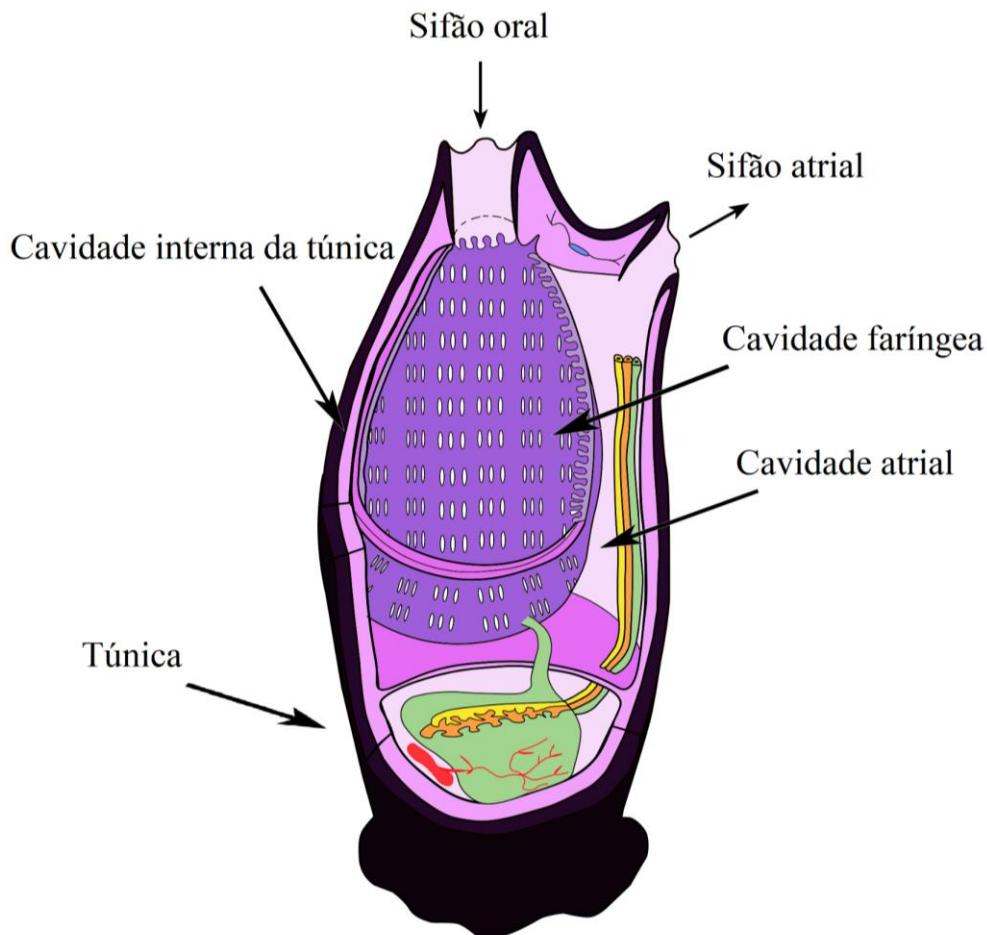
- a) Relacionar e comparar a riqueza e abundância, na Baía da Ilha Grande, dos simbiontes de *Phallusia nigra*, *Styela plicata*, *Microcosmus exasperatus* e *Herdmania pallida* nos diferentes locais de coleta e épocas do ano.
- b) Estabelecer qual a composição, riqueza e abundância das espécies/táxons simbiontes de *Phallusia nigra*, nos domínios Tropical e Temperado-quente do litoral brasileiro, entre Alagoas (09°39'57" S) e São Paulo (23°32'51" S);

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas foram realizadas manualmente em mergulhos livres ou autônomos ou ainda, pelo uso de coletores artificiais (MARINS *et al.*, 2010; SKINNER *et al.*, 2013). As ascídias ao serem coletadas foram colocadas em sacos individuais, anestesiadas com mentol ou cloreto de magnésio até que não fosse mais observado movimento sifonal, sinalizando o completo relaxamento do animal. Após a anestesia, os indivíduos foram preservados em etanol a 70%.

Em laboratório, as ascídias foram retiradas dos sacos, submersas em água no béquer de plástico para, por meio do deslocamento de água em mililitros (mL), estimar o volume/peso corporal dos indivíduos expresso também em mL. Em seguida, as ascídias foram dissecadas e as espécies de invertebrados marinhos encontrados associados à ascídia foram retiradas, contadas e classificadas taxonomicamente com o maior detalhamento possível. Além disso, a posição dos endossimbiontes nas cavidades internas da ascídia foram registradas, considerando-se três cavidades: a cavidade interna da túnica (CIT), espaço entre a túnica e o manto da ascídia, a cavidade faríngea (CF), onde propriamente ocorre a atividade de filtração, e a cavidade atrial (CA), por onde é expelida a água filtrada (Figura 4). A etapa de identificação taxonômica específica dos simbiontes foi realizada por especialistas. Os Crustacea Copepoda foram identificados pelo Dr. Fabiano Paschoal, os Amphipoda e Tanaidacea pelo Dr. André R. Senna e os Polychaeta pela Dra. Alexandra E. Rizzo.

Figura 4 – Esquema da anatomia de uma ascídia solitária indicando os sifões, a túnica e as cavidades corporais utilizadas pelos simbiosites



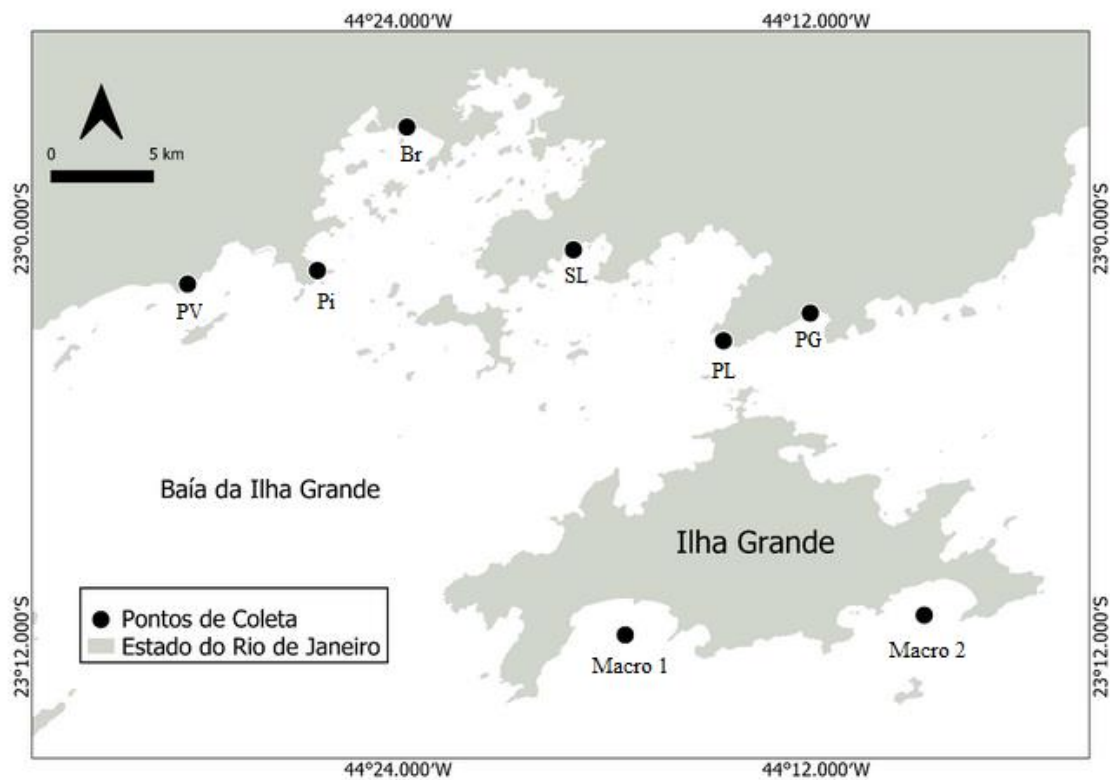
Fonte: A autora, 2023.

3.1 Coletas na Baía da Ilha Grande

Foram selecionadas oito diferentes localidades abrangendo a diversidade de usos e status de conservação da região da BIG. As localidades escolhidas representavam áreas de marinas (Bracuhy, Santa Luzia e Portugal), ambientes com baixa alteração costeira, ou seja, com poucas construções ou alteração de substratos naturais (Ponta Leste, Praia Vermelha e Piraquara de Fora, esta última sob efeito do efluente térmico da Usina Nuclear), e outros dois locais (Macro enseadas) com alteração antrópica rara e sob condições de mar aberto na Ilha Grande (Parnaioca/Aventureiro e Lopes Mendes/Dois Rios (Figura 5). Em cada uma delas, buscamos coletar 10 indivíduos de cada espécie: *Herdmania pallida*, *Phallusia nigra*,

Microcosmus exasperatus, e *Styela plicata*. No entanto, nem sempre estas espécies ocorrem nas mesmas localidades, já demonstrando, inicialmente, diferenças entre as áreas selecionadas (MARINS et al., 2010; IGNÁCIO et al., 2010). As coletas foram realizadas em períodos de verão e inverno entre os anos de 2019 e 2021, de forma a estabelecer diferenças entre épocas do ano contrastantes e entre anos. No entanto, em função das restrições devidas à pandemia do COVID-19, não houve coleta no período de inverno de 2020.

Figura 5 - Mapa com a localização dos pontos de amostragem ao redor da Ilha Grande, no RJ



Legenda: Macro 1: Aventureiro – Parnaioaca, Macro 2: Dois Rios – Lopes Mendes, PG: Marina Portugal, PL: Ponta Leste, SL: Cais de Santa Luzia, Br: Bracuhy, Pi: Piraquara de Fora e PV: Praia Vermelha.

Fonte: A autora, 2023.

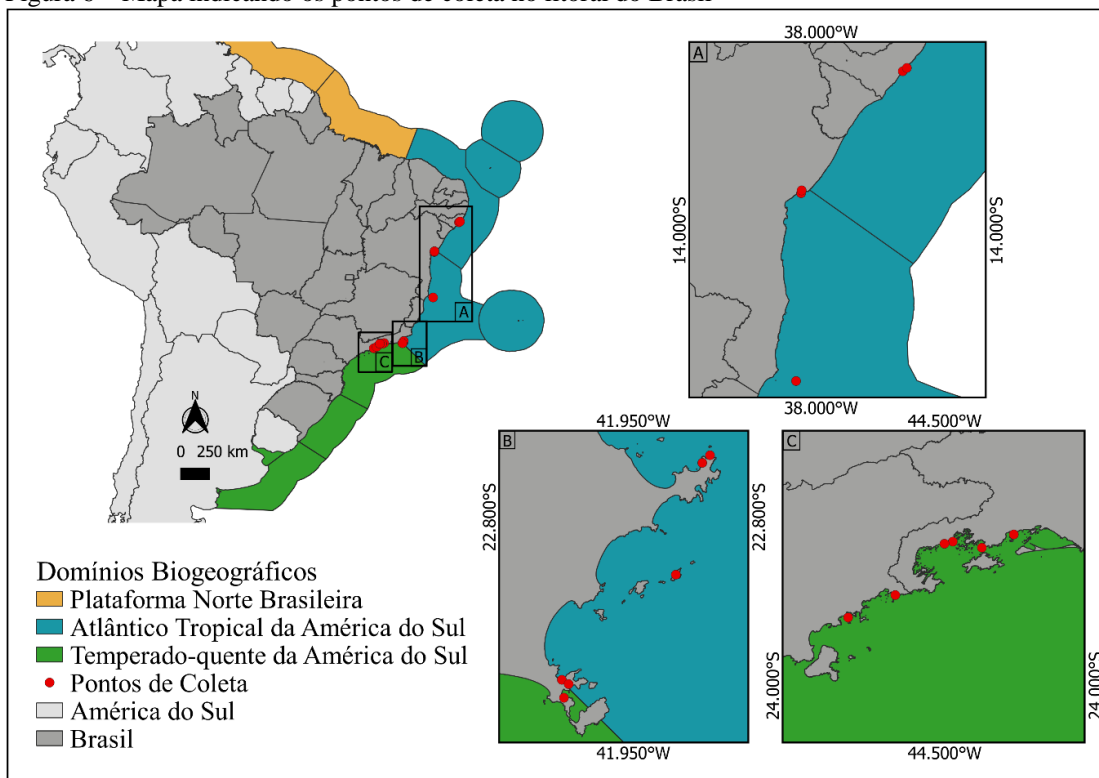
3.2 Coletas no litoral do Brasil

As coletas foram realizadas na mesma época do ano, correspondendo ao verão austral 2021-2022, em regiões costeiras do Atlântico Sudoeste, entre o Domínio do Atlântico Tropical (entre 9 e 21°S), o Domínio Temperado-quente (23 a 24°S) e da Região considerada como de

Transição entre estas duas (no entorno do Cabo Frio – entre 22 e 23°S). Esta abrangência espacial compreende, além de diferentes zonas termais, diferentes ecossistemas como recifes rochosos e coralíneos e também, substratos artificiais em portos e marinas, ou próximo a estes.

Foram investigadas 40 localidades ao longo da costa brasileira para a coleta de *P. nigra*, para assim avaliarmos sua fauna associada (Apêndice A). No entanto, em alguns trechos do litoral, não foram encontrados espécimes de *P. nigra* durante as buscas realizadas, apesar da provável ocorrência, conforme citado na literatura. Para o trecho entre 9 e 21°S, apesar do intenso esforço amostral, somente foram coletados 59 indivíduos. Todos os pontos que apresentaram *P. nigra* durante as coletas estão marcados no mapa da Figura 6.

Figura 6 – Mapa indicando os pontos de coleta no litoral do Brasil



Fonte: A autora, 2023.

3.3 Tratamento e análise de dados

A frequência de ocorrência de cada simbiote encontrado, tanto para as espécies de ascídias da BIG quanto em *P. nigra* no litoral, foram estimadas considerando-se todas as localidades. Para se verificar uma possível relação entre a quantidade total de simbioses e o volume corporal das ascídias, que variou entre locais e espécies, foi realizada uma correlação de Pearson. Em função da possível relação entre simbioses e volume, foi feito o cálculo da densidade de simbioses (número de indivíduos.volume⁻¹), para retirada do efeito do tamanho da ascídia na quantidade de simbioses, em todas as amostras, mesmo as espécies da BIG não tendo apresentado relação significativa. Para se testar a diferença na densidade de simbioses entre locais, espécies e cavidades, foi realizada a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, já que os dados não apresentaram distribuição normal mesmo após transformação logarítmica. Essas análises foram realizadas no programa Past 4.11. Também foi realizado um dendrograma a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis utilizando os grupos simbioses de *Phallusia nigra* para o litoral do Brasil, este por sua vez foi realizado no PRIMER-E.

4 RESULTADOS

4.1 Baía da Ilha Grande

Foram encontrados associados às quatro espécies de ascídias solitárias coletadas na Baía da Ilha Grande (BIG), entre os anos de 2019 e 2021, um total de 4034 espécimes de simbioses em 720 ascídias analisadas. Estes simbioses pertenciam a 26 táxons (Quadro 1). Do total de simbioses, 3367 foram encontrados em *Phallusia nigra*, espécie que apresentou densidade média de 192,81 ind.mL⁻¹, sendo esta a espécie com maior densidade e também a maior riqueza, com 14 táxons associados. *Microcosmus exasperatus* apresentou 467 simbioses e 10 táxons, alcançando densidade média de 33,59 ind.mL⁻¹. *Styela plicata* apresentou a menor densidade média (4,81 ind.mL⁻¹), com 68 simbioses pertencentes a 9 táxons. A menor riqueza foi encontrada em *Herdmania pallida*, com 132 indivíduos de 7 táxons diferentes e densidade média de 14,9 ind.mL⁻¹ (Quadro 1).

Quadro 1 – Abundância de simbioses por espécie de ascídia em cada localidade

Classe	Grupo	Simbioses		localidade								
		Sp. simbiote	Sp. hospedeira	Av -Par	DR-LP	PV	PL	Pi	SL	PG	Br	
Malacostraca	Amphipoda	Amphithoidae	<i>Herdmania pallida</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	
		Corophiidae	<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	
		<i>Leucothoe</i> sp.	<i>Herdmania pallida</i>	32	14	2	32	22	0	22	0	
			<i>Microcosmus exasperatus</i>	73	169	66	0	19	0	26	67	
			<i>Phallusia nigra</i>	340	626	468	914	277	647	69	0	
			<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	2	1	18	
		<i>Podocerus brasiliensis</i> (Dana, 1853)	<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	12	
			<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	
		Cumacea	<i>Phallusia nigra</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	
		Decapoda	Pleocyemata	<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	0	0	0	2	0
	Isopoda	Gnathiidae	<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	
	Tanaidacea	Tanaidacea	<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	1	2	0	1	0	1	1	
			<i>Phallusia nigra</i>	0	0	1	0	3	0	0	0	
			<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	
<i>Microcosmus exasperatus</i>			0	0	0	0	1	0	0	0		
<i>Tanais</i> sp.			<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	
Polychaeta	Polychaeta	<i>Herdmania pallida</i>	0	0	0	0	0	0	1	0		
		<i>Phallusia nigra</i>	1	0	1	2	1	1	0	0		
		<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	2	0	1		
	Eunicida	<i>Nicidion</i> cf. <i>Insularis</i> (Nogueira, Steiner & Amaral, 2001)	<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	
		<i>Protoaricia</i> sp.	<i>Phallusia nigra</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	
	Phyllodocida	<i>Scoletoma</i> sp.	<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	
	Sedentária	<i>Syllis</i> sp.	<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	
Copepoda	Copepoda	<i>Herdmania pallida</i>	1	0	0	0	0	0	0	0		
		<i>Microcosmus exasperatus</i>	1	0	1	0	1	0	0	1		
		<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	6	0	3		
	Cyclopoida	Ascidicolidae	<i>Herdmania pallida</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	
			<i>Doropygus pinguis</i> Oishi, 1962	<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	0	0	2
			<i>Doropygus</i> sp.	<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	19
			<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	0	0	14	
		Notodelphyidae	<i>Herdmania pallida</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	
			<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	
			<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	
			<i>Notodelphys ciliata</i> Schellenberg, 1922	<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	0	0	0	1	0
			<i>Notodelphys</i> sp.	<i>Microcosmus exasperatus</i>	0	0	0	0	0	0	1	0
			<i>Notodelphys steinitzi</i> Stock, 1967	<i>Phallusia nigra</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Styelicola</i> sp.	<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	0	0	5			
Nematoda	Nematoda	<i>Phallusia nigra</i>	1	1	0	0	0	0	2	0		
		<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	8	1	0		
Não id.	Não Identificado	<i>Herdmania pallida</i>	0	0	0	0	1	0	0	0		
		<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	0	0	0	2		

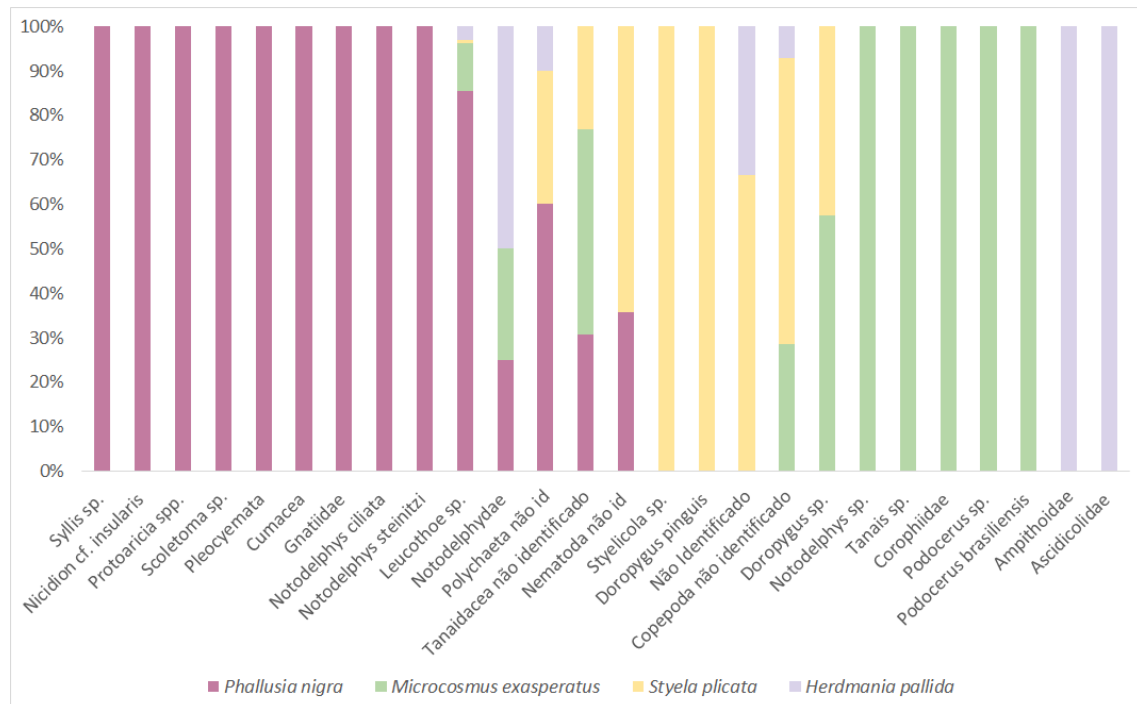
Legenda: Av-Par: Aventureiro – Parnaioca (Macro1), DR – LP: Dois Rios – Lopes Mendes (Macro2), PV: Praia Vermelha, PL: Ponta Leste, Pi: Piraquara de Fora, SL: Cais de Santa Luzia, PG: Marina Portugal, Br: Bracuhy. cf.: Conforme.

Fonte: A autora, 2023.

Os simbioses encontrados associados às quatro espécies de ascídias pertenciam a três Classes taxonômicas: Malacostraca Latreille, 1802, Copepoda Milne Edwards, 1840, Polychaeta Grube, 1850, e, também ao Filo Nematoda, totalizando quatro grupos taxonômicos. O simbiote mais abundante correspondeu ao gênero *Leucothoe* (Classe Malacostraca, Ordem Amphipoda) e esteve presente nas quatro espécies de ascídias. Dentre os 26 táxons associados, 18 foram exclusivos, estando associados a somente uma dentre as quatro espécies de ascídias. Assim, *Phallusia nigra* apresentou nove táxons exclusivos, enquanto *Microcosmus exasperatus* apresentou cinco e *Styela plicata* e *Herdmania pallida* apresentaram apenas dois (Figura 7). Em relação a riqueza de táxons apresentada por indivíduo, a maior riqueza registrada foi de três táxons nos indivíduos de *Phallusia nigra* e *Styela plicata*, dois táxons em *Microcosmus*

exasperatus e um para *Herdmania pallida* de todos os 720 indivíduos analisados. Além disso, a taxa de incidência de simbiontes foi mais alta em *P. nigra*, na qual 88% dos indivíduos examinados possuíam simbiontes. Para as demais espécies, a taxa de incidência foi inferior a 30%, na seguinte ordem: *S. plicata* = 27,6%, *M. exasperatus* = 4,75% e *H. pallida* = 3,53 %.

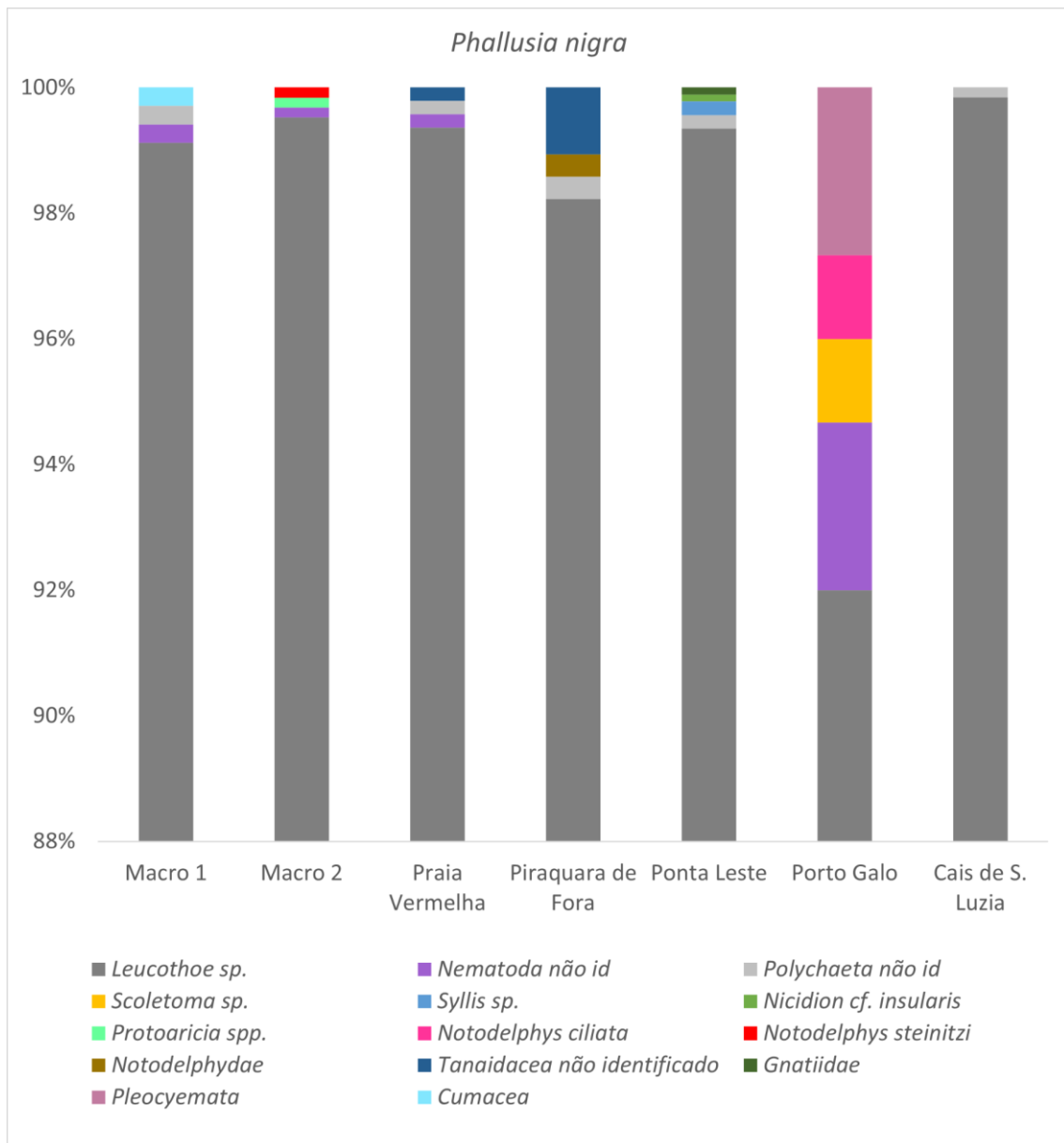
Figura 7 – Abundância relativa (%) dos táxons encontrados nas quatro espécies de ascídias solitárias da Baía da Ilha Grande (BIG).



Fonte: A autora, 2023.

Phallusia nigra só não foi coletada na localidade de Bracuhy. Sendo assim, as demais localidades apresentaram indivíduos de *P. nigra* e seus simbiontes. As localidades com mais táxons associados a *P. nigra* foram Ponta Leste e Porto Galo com cinco táxons, seguida de Piraquara de Fora e as duas Macro enseadas com quatro táxons, além da Praia Vermelha com três táxons simbiontes, e por fim, Cais de Santa Luzia com dois (Figura 8).

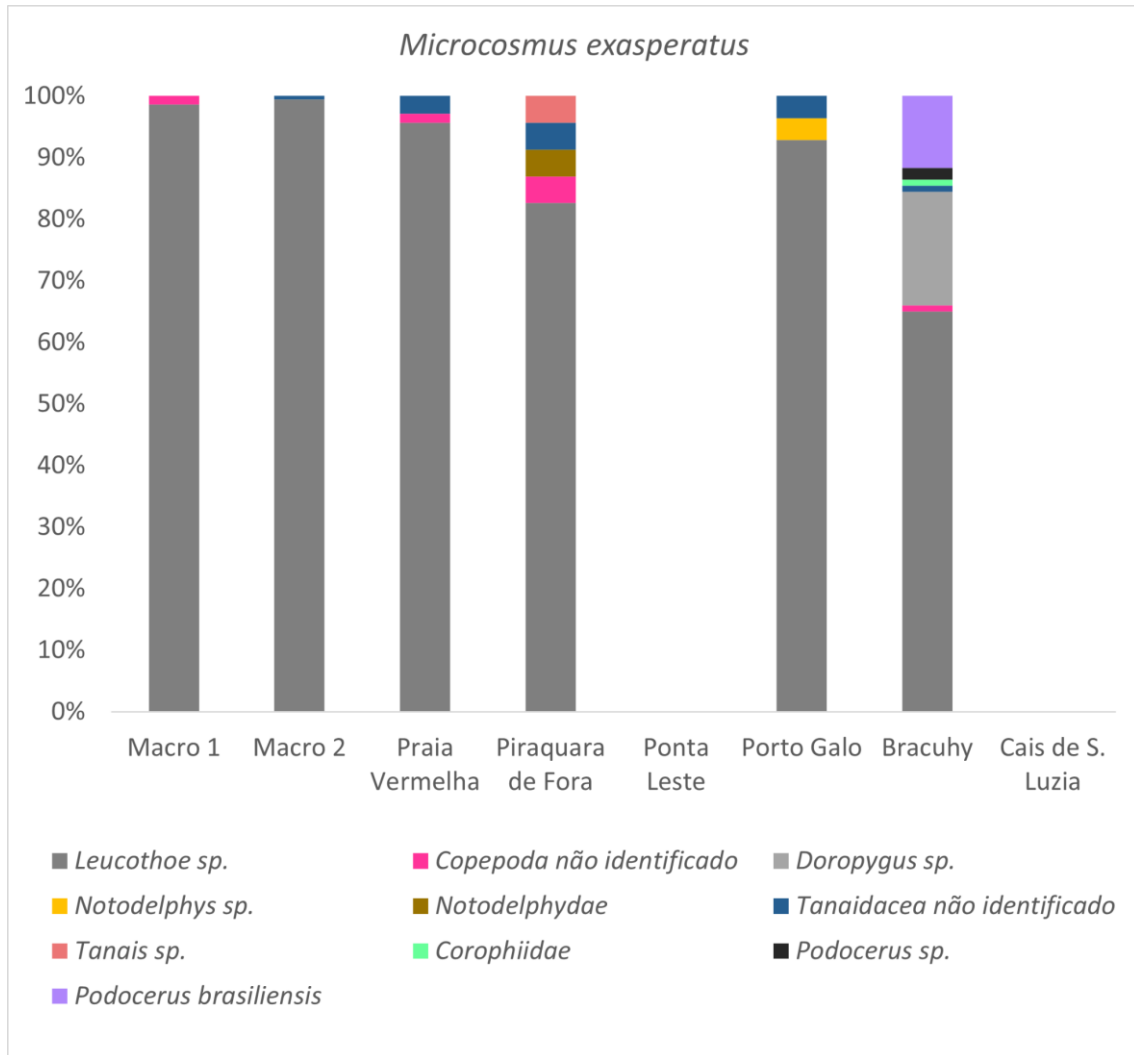
Figura 8 – Abundância relativa (%) dos táxons encontrados em *Phallusia nigra* nas localidades amostradas



Fonte: A autora, 2023.

Microcosmus exasperatus foi encontrada e coletada em todas as localidades. Mas a ocorrência de simbioses nos indivíduos coletados não refletiu a presença do hospedeiro. As localidades do Cais de Santa Luzia e da Ponta Leste não apresentaram registro de simbioses. A localidade com mais táxons associados a *M. exasperatus* foi Bracuhy com sete táxons, seguido de Piraquara de Fora com cinco táxons, Porto Galo e Praia Vermelha com três e as duas Macro enseadas com apenas dois táxons associados (Figura 9).

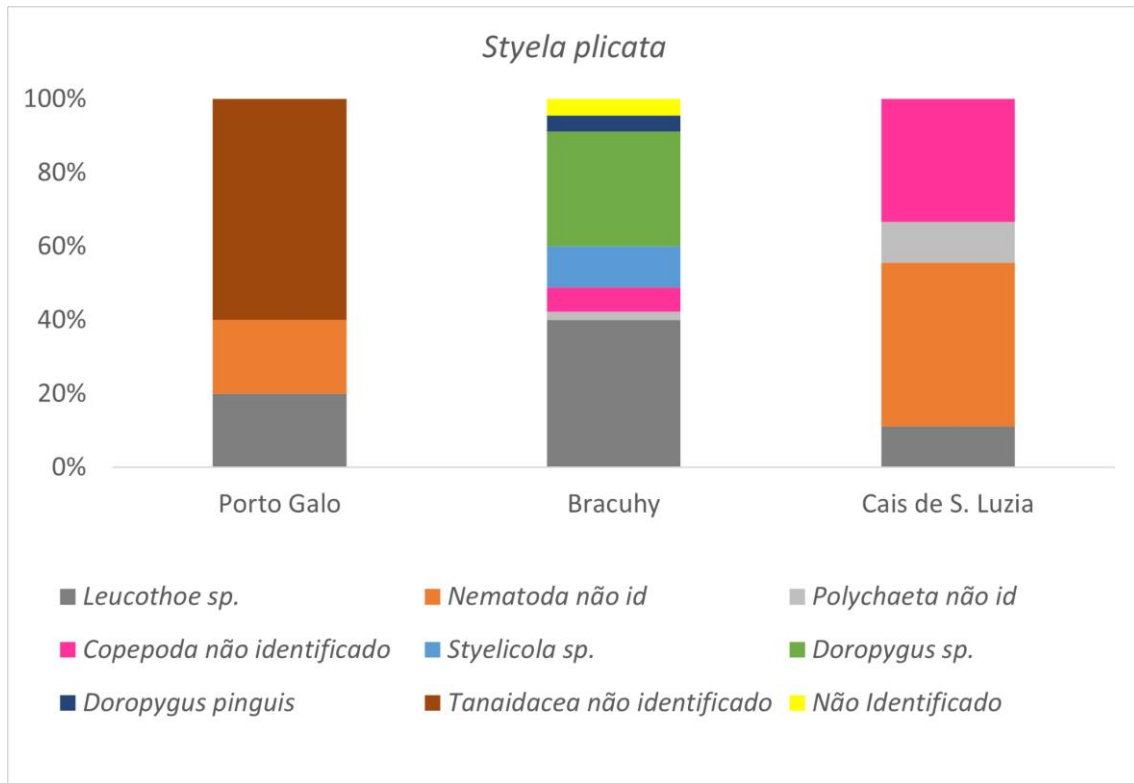
Figura 9 – Abundância relativa (%) dos táxons encontrados em *Microcosmus exasperatus* nas localidades amostradas



Fonte: A autora, 2023.

Styela plicata é comumente encontrada em regiões de portos e marinas, ou áreas eutrofizadas, sendo assim, esta só foi encontrada em Bracuhy, no Cais de Santa Luzia e Porto Galo. Em todas as localidades foram encontrados simbiossitos associados. A localidade com maior riqueza foi em Bracuhy com sete táxons, seguido do Cais de Santa Luzia com quatro táxons e, por fim, Porto Galo com três táxons simbiossitos. (Figura 10).

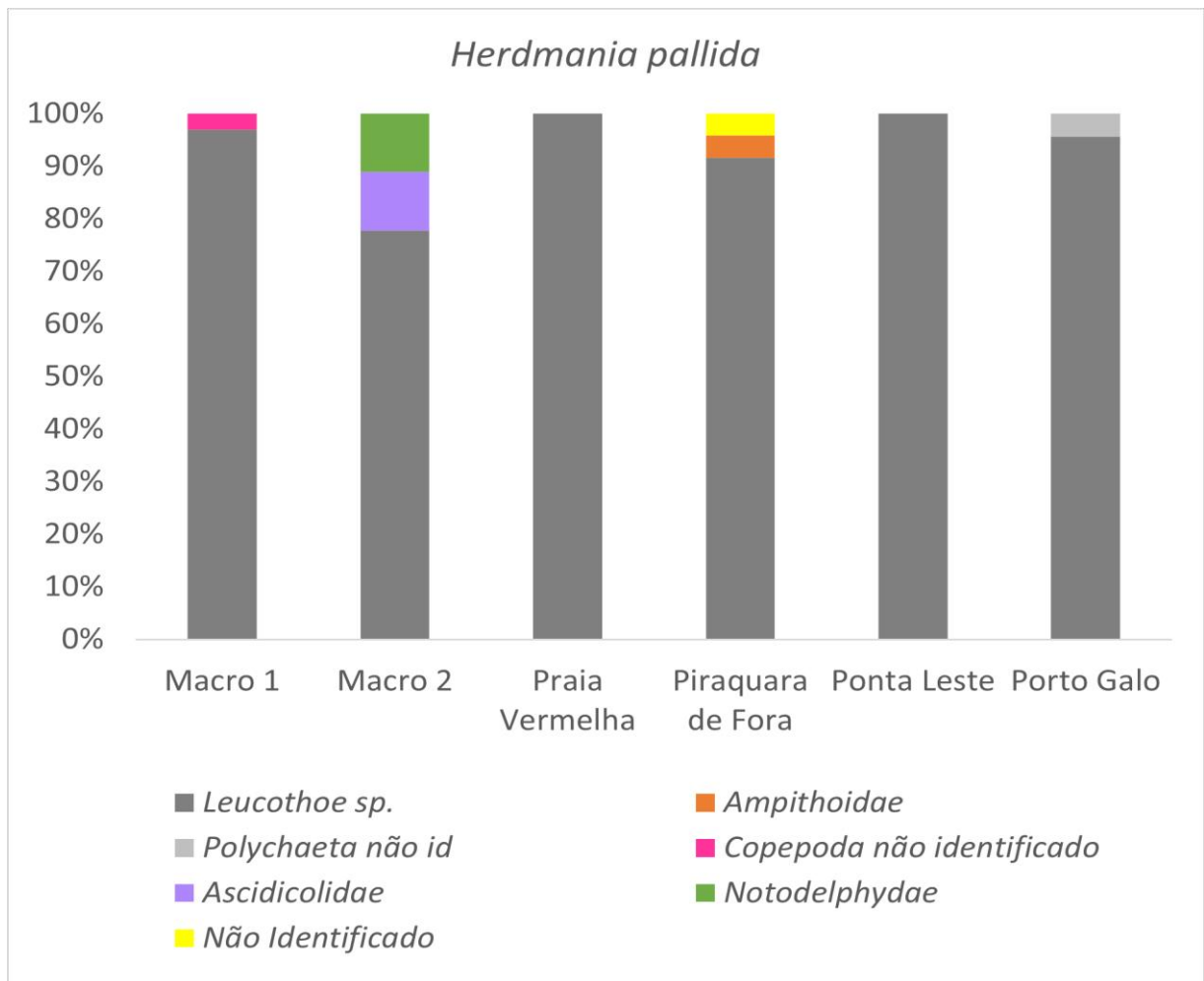
Figura 10 – Abundância relativa (%) dos táxons encontrados em *Styela plicata* nas localidades amostradas



Fonte: A autora, 2023.

Herdmania pallida, por sua vez, não foi encontrada no Cais de Santa Luzia e na marina Bracuhy. Em Piraquara e na Macro enseada 2 (Dois Rios/Lopes Mendes), *H. pallida* apresentou sua maior riqueza com três táxons em associação, seguido pela Macro enseada 1 (Aventureiro/Parnaioca) e Porto Galo com dois táxons e Praia Vermelha e Ponta Leste com apenas um táxon (Figura 11).

Figura 11 – Abundância relativa (%) dos táxons encontrados em *Herdmania pallida* nas localidades amostradas



Fonte: A autora, 2023.

4.1.1 Campanhas – espécies e localidades

As campanhas realizadas entre os anos e durante os meses de verão e inverno não tiveram na mesma localidade a presença das mesmas espécies em alguns casos. Em algumas localidades da campanha do verão de 2019, devido à falta de informação a respeito do volume dos espécimes coletados, não foi possível calcular as densidades médias. No entanto, ainda assim foram representados nos gráficos para sinalizar que foram coletados espécimes de ascídias naquela localidade, estação e ano.

4.1.1.1 Macro enseadas

Na macro enseada 1 foram encontradas todas as espécies, com exceção apenas de *S. plicata*. As densidades médias de simbioses foram superiores em *P. nigra*. Durante as campanhas de verão dos anos 2020 e 2021, as densidades foram maiores para *Phallusia nigra*, enquanto que para *M. exasperatus* e *H. pallida*, independente dos anos, as campanhas de inverno apresentaram densidades médias maiores. A riqueza entre as campanhas também foi maior durante as coletas de verão, sendo 2021 superior tanto para *H. pallida* quanto para *M. exasperatus*. Já *P. nigra*, apresentou a maior riqueza da localidade no verão de 2020 (Apêndice C). Ao todo, foram registrados nessa localidade 450 indivíduos simbioses pertencentes a cinco táxons.

Na Macro enseada 2 também foram encontradas todas as espécies, com exceção apenas de *S. plicata*. No entanto, podemos observar que *H. pallida* só foi encontrada nesta localidade no inverno de 2019 e verão de 2020 com densidades médias de simbioses baixas, mas ainda assim, a densidade do verão de 2020 foi superior à de *M. exasperatus*, na mesma campanha. As campanhas de inverno apresentaram maiores densidades para *M. exasperatus* quando comparado às campanhas de verão. *Phallusia nigra* apresentou densidades maiores que as demais espécies, independente da campanha. A riqueza de simbioses no verão de 2020 foi maior para *H. pallida* em relação a todas as coletas das localidades e espécies de ascídias. O mesmo ocorreu com *M. exasperatus* para o verão de 2021 e com *P. nigra* no verão de 2019 (Apêndice D). Ao todo, foram registrados nessa localidade 817 indivíduos simbioses pertencentes a sete táxons.

4.1.1.2 Pouca alteração costeira

Em Piraquara de Fora, *M. exasperatus* foi encontrada em uma única coleta, e não apresentou simbioses associados. Nas campanhas de 2019, o verão apresentou maiores densidades médias de simbioses para *P. nigra*, enquanto em 2021, a densidade foi maior na campanha de inverno. Para *H. pallida* as campanhas de verão possuíram densidades médias de simbioses superiores às de inverno. A riqueza encontrada em *H. pallida* se manteve estável entre anos e estações nesta localidade. Para *P. nigra*, o inverno de 2019 se destacou

apresentando maior riqueza de simbioses em relação às demais campanhas (Apêndice E). Ao todo, foram registrados nessa localidade 329 indivíduos simbioses pertencentes a oito táxons.

Na localidade da Ponta Leste, *H. pallida* foi encontrada em uma única coleta, sendo esta no verão de 2020, apresentando riqueza semelhante a *P. nigra* para a mesma campanha. No entanto, a densidade média de simbioses foi inferior quando comparada com *P. nigra*. As campanhas de verão também foram superiores para as densidades médias de simbioses da espécie *P. nigra*. Este padrão também ocorreu para a riqueza nas campanhas de 2021 (Apêndice F). Esta foi a localidade que apresentou maior abundância. Ao todo, foram registrados nessa localidade 952 indivíduos simbioses pertencentes a cinco táxons.

Na Praia Vermelha, *M. exasperatus* foi encontrada em uma única coleta no inverno de 2019, com riqueza semelhante a *P. nigra* para a mesma campanha, mas com densidade média de simbioses inferior. As densidades médias de simbioses de *Phallusia nigra* foram maiores nos meses de verão. A riqueza permaneceu constante entre anos, apresentando uma diminuição no ano de 2021 (Apêndice G). Ao todo, foram registrados nessa localidade 541 indivíduos simbioses pertencentes a quatro táxons.

4.1.1.3 Portos e marinas

Na localidade de Porto Galo, todas as espécies foram coletadas em alguma campanha durante o intervalo de amostragem. No entanto, devido à dificuldade de encontrá-las com frequência para que fossem coletadas, se tornou inviável qualquer comparação temporal ou sazonal. Ainda assim, podemos destacar que a densidade média de simbioses associados a *P. nigra* é maior, seguida por *M. exasperatus* e *S. plicata*. O contrário ocorre para a riqueza, sendo *S. plicata* a espécie que possui mais táxons associados, seguido de *M. exasperatus* e *P. nigra* (Apêndice H). Esta localidade foi a menos abundante. Ao todo, foram registrados nessa localidade 131 indivíduos simbioses pertencentes a oito táxons.

Em Bracuhy, foram coletados apenas indivíduos de *M. exasperatus* e *S. plicata*. A densidade média de simbioses encontrados dentro destes foi maior na campanha de inverno do ano de 2021 para *M. exasperatus*, juntamente com a riqueza. Na campanha de verão de 2021 também obtivemos maiores densidades para *S. plicata*. No caso desta última, as campanhas de verão apresentaram maior densidade quando comparada ao inverno. A riqueza para *S. plicata* foi maior na campanha do verão de 2019 (Apêndice I). Esta foi a localidade mais diversa,

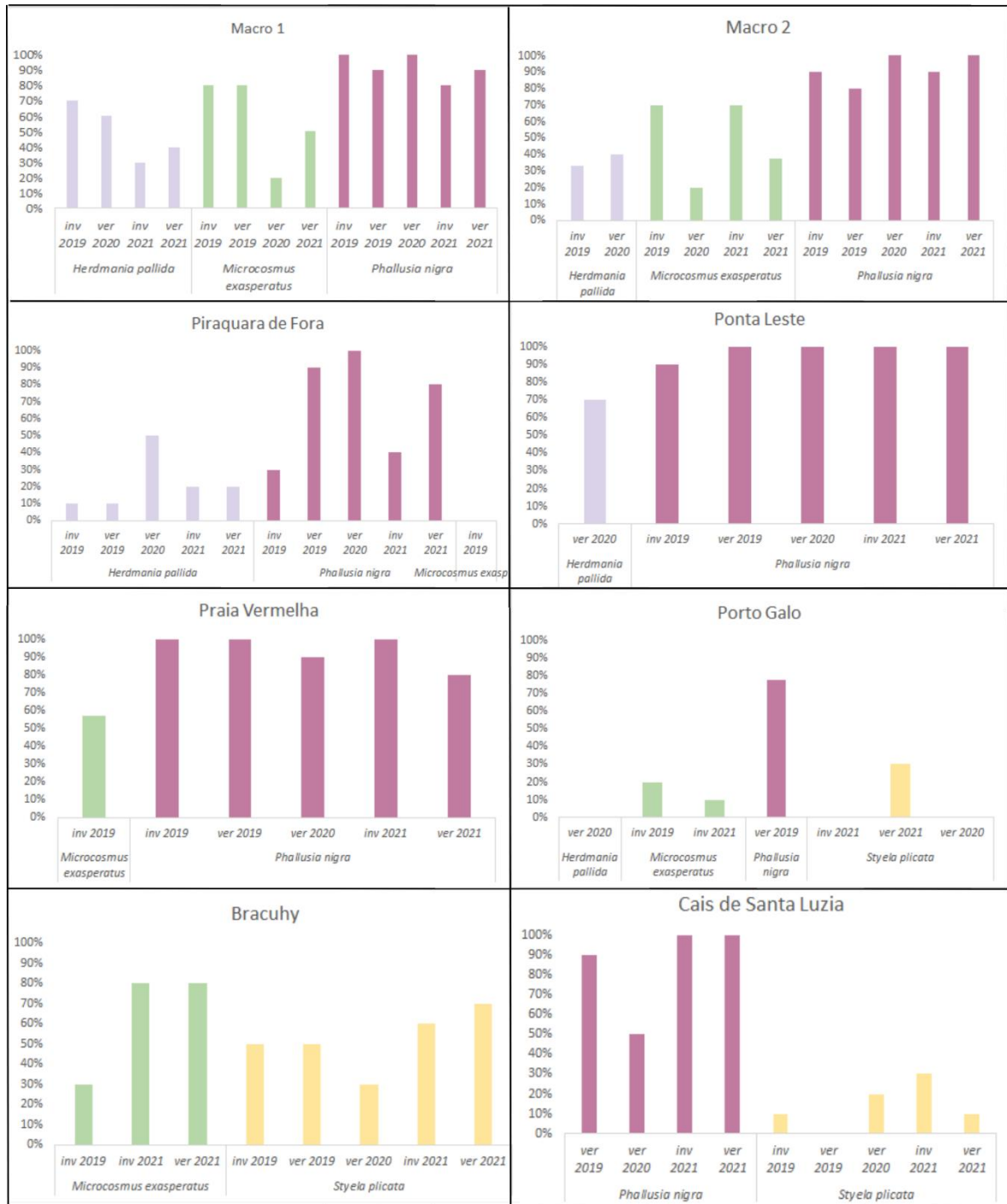
embora tenha apresentado baixa abundância. Ao todo, foram registrados nessa localidade 148 indivíduos simbioses pertencentes a onze táxons.

No Cais de Santa Luzia foram coletados apenas indivíduos de *P. nigra* e *S. plicata*. A densidade média de simbioses encontrados dentro de *P. nigra* foi maior do que a encontrada em *S. plicata*. As densidades médias das campanhas de inverno de *S. plicata* são maiores quando comparadas às de verão. A riqueza permaneceu constante tanto em *P. nigra* quanto *S. plicata*, se destacando apenas a campanha de inverno de 2019 de *Styela plicata* (Apêndice J). Ao todo, foram registrados nessa localidade 666 indivíduos simbioses pertencentes a quatro táxons.

4.1.2 Frequência de ocorrência de simbioses

A frequência de ocorrência de simbioses nos indivíduos das ascídias coletadas nem sempre é superior a 50% da amostra dentro daquela campanha em determinada localidade. Apenas a espécie *Phallusia nigra* teve campanhas com 100% de frequência de indivíduos associados. Somente em duas coletas a frequência foi inferior a 50%, ambas em Piraquara de Fora nos invernos de 2019 e 2021 (Figura 12). Desta forma, simbioses são mais frequentes associados a espécie *P. nigra* do que aos indivíduos de outras espécies de ascídias solitárias, podendo variar de acordo com local e sazonalidade. *Styela plicata*, por exemplo, só apresentou frequência de simbioses superior a 50% nas localidades de Bracuí, e ainda assim, apenas nos anos de 2019 e 2021. Para *M. exasperatus*, metade das coletas realizadas não possuíram frequência superior a 50% dos indivíduos com presença de simbioses e *H. pallida* apresentou apenas quatro das 13 coletas com frequência superior a 50%, sendo três delas no verão de 2020 (Macro1, Piraquara e Ponta Leste) e no inverno de 2019 (Macro 1) (Figura 12).

Figura 12 – Frequência de ocorrência (%) de simbiosites nas quatro espécies de ascídias solitárias, em cada campanha, nas localidades amostradas

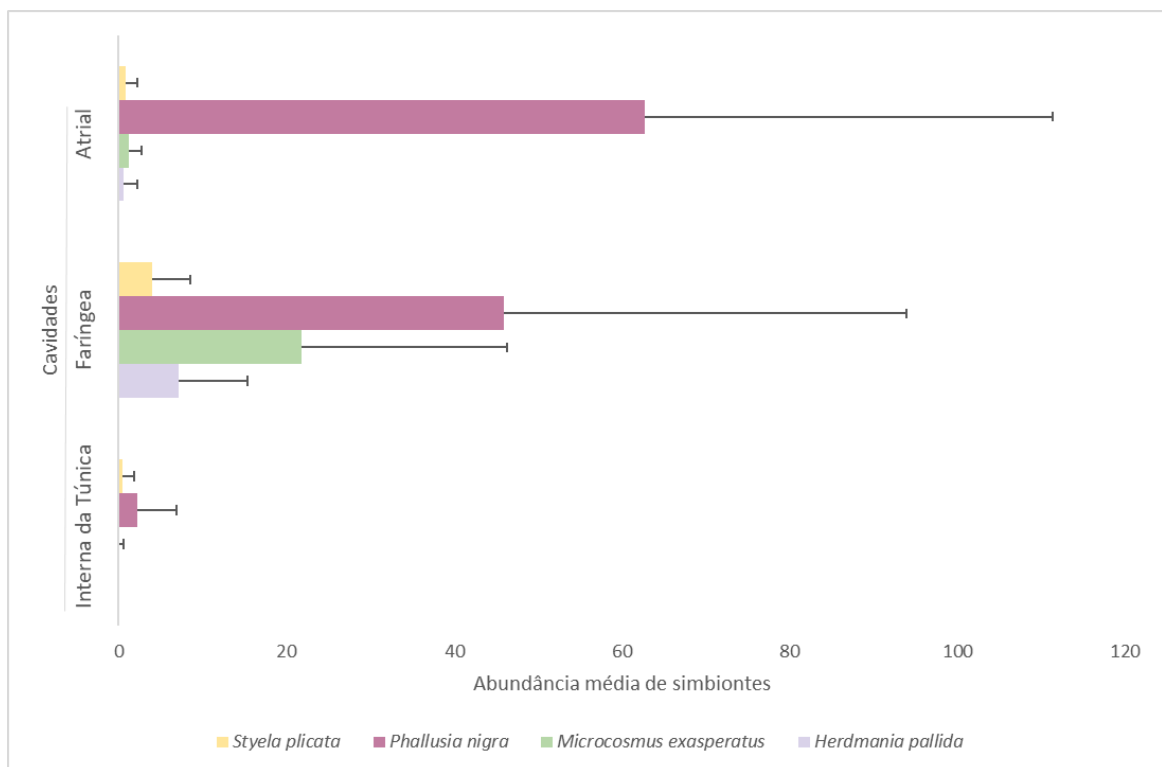


Fonte: A autora, 2023.

4.1.3 Presença de simbioses nas cavidades corporais de ascídias

As cavidades utilizadas pelos simbioses das quatro espécies foram em sua grande maioria as cavidades Faríngea e Atrial. Assim, a Cavidade Interna da Túnica apresenta baixa densidade média (Figura 13). Apenas *H. pallida* não apresentou nenhum simbiote associado à cavidade interna da túnica (CIT), como apresentado na Quadro 2. Todas as demais cavidades, de todas as espécies de ascídias foram habitadas (Quadro 2), com *Phallusia nigra* sendo a espécie que mais se destacou em todas as cavidades, principalmente em relação a Cavidade Atrial (Figura 13). *Leucothoe* esteve presente na Cavidade Faríngea de todas as espécies em alta abundância, com exceção apenas de *S. plicata* que possui baixa abundância para todos seus simbioses independente da cavidade em que são encontrados (Quadro 2).

Figura 13 – Abundância média (ind.mL⁻¹) e desvio padrão dos simbioses associados às cavidades das quatro espécies de ascídias da Baía da Ilha Grande (BIG)



Fonte: A autora, 2023.

Quadro 2 – Simbiontes associados às cavidades das diferentes espécies de ascídias, independente da campanha e das localidades

Fauna associada a <i>H. pallida</i>	Total	CIT	CF	CA
Ampithoidae	1	0	1	0
Ascidicolidae	2	0	2	0
Copepoda	1	0	1	0
<i>Leucothoe</i> sp.	124	0	116	8
Não Identificado	1	0	1	0
Notodelphyidae	2	0	2	0
Polychaeta	1	0	1	0
	132	0	124	8
Fauna associada a <i>S. plicata</i>	Total	CIT	CF	CA
Copepoda	9	0	9	0
<i>Doropygus pinguis</i> Ooishi, 1962	2	0	1	1
<i>Doropygus</i> sp.	14	0	14	0
<i>Leucothoe</i> sp.	21	0	13	8
Não Identificado	2	0	2	0
Nematoda	9	3	6	0
Polychaeta	3	2	0	1
<i>Styelicola</i> sp.	5	0	5	0
Tanaidacea	3	1	2	0
	68	6	52	10
Fauna associada a <i>M. exasperatus</i>	Total	CIT	CF	CA
Copepoda	4	0	4	0
Corophiidae	1	0	1	0
<i>Doropygus</i> sp.	19	0	19	0
<i>Leucothoe</i> sp.	420	0	397	23
Notodelphyidae	1	0	1	0
<i>Notodelphys</i> sp.	1	0	1	0
<i>Podocerus brasiliensis</i> (Dana, 1853)	12	0	12	0
<i>Podocerus</i> sp.	2	1	1	0
Tanaidacea	6	1	5	0
<i>Tanais</i> sp.	1	0	1	0
	467	2	442	23
Fauna associada a <i>P. nigra</i>	Total	CIT	CF	CA
<i>Leucothoe</i> sp.	3340	63	1381	1896
Cumacea	1	0	1	0
Gnathiidae	1	0	1	0
Nematoda	5	1	4	0
<i>Nicidion</i> cf. <i>Insularis</i> (Nogueira, Steiner & Amaral, 2001)	1	0	1	0
Notodelphyidae	1	0	1	0
<i>Notodelphys ciliata</i> Schellenberg, 1922	1	0	1	0
<i>Notodelphys steinitzi</i> Stock, 1967	1	0	1	0
Pleocyemata	2	0	2	0
Polychaeta	6	2	3	1
<i>Protoaricia</i> sp.	1	0	0	1
<i>Scoletoma</i> sp.	1	0	1	0
<i>Syllis</i> sp.	2	0	2	0
Tanaidacea	4	0	3	1
	3367	66	1402	1899

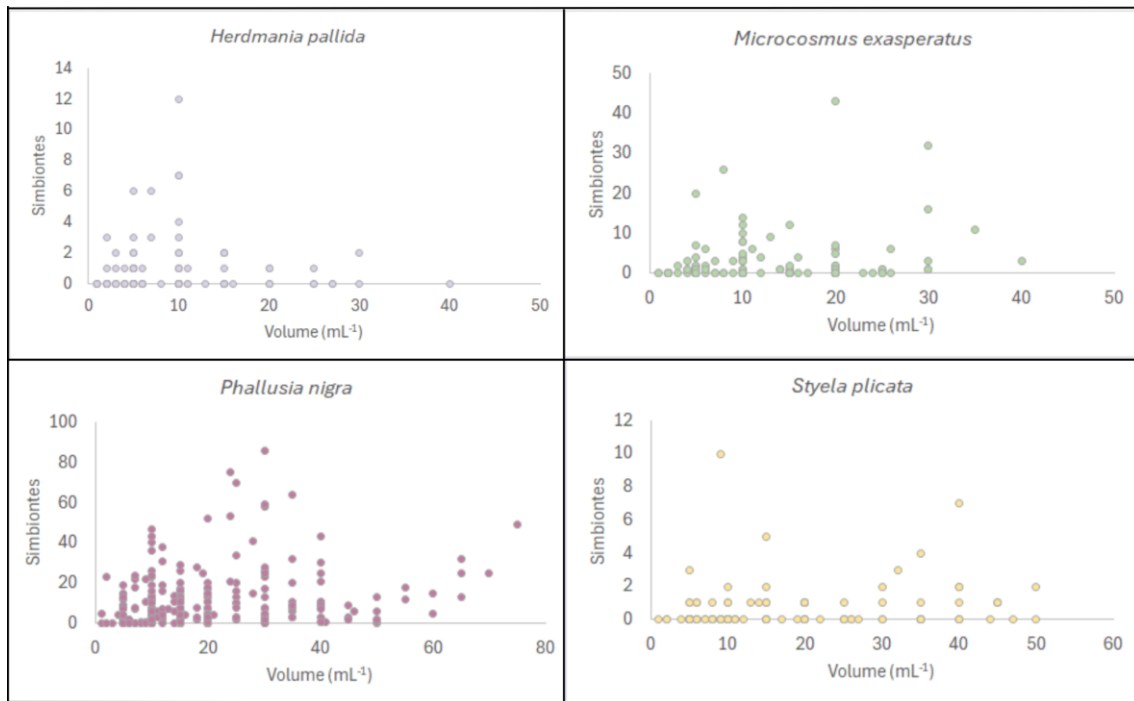
Legenda: CIT: Cavidade Interna da Túnica, CF: Cavidade Faríngea e CA: Cavidade Atrial.

Fonte: A autora, 2023.

4.1.4 Relação volume corporal X quantidade de simbiotes

É importante ressaltar que o volume entre os indivíduos e as espécies eram diferentes e por este motivo, foi testado se havia uma relação entre o tamanho do indivíduo (volume) e a quantidade de simbiote encontrado dentro do mesmo. O teste foi feito em separado por espécie. E nenhuma das quatro espécies apresentaram resultados significativos entre volume e quantidade de indivíduos associados na BIG ($r = 0,001$, $p = 0,986$ - *Herdmania pallida*; $r = 0,162$, $p = 0,076$ - *Microcosmus exasperatus*; $r = 0,088$, $p = 0,336$ - *Phallusia nigra*; $r = 0,176$, $p = 0,053$ - *Styela plicata*) (Figura 14).

Figura 14 – Número total de simbiotes associados em cada espécie de ascídia em relação ao volume corporal (mL) das mesmas



Nota: As escalas são diferentes entre as espécies.

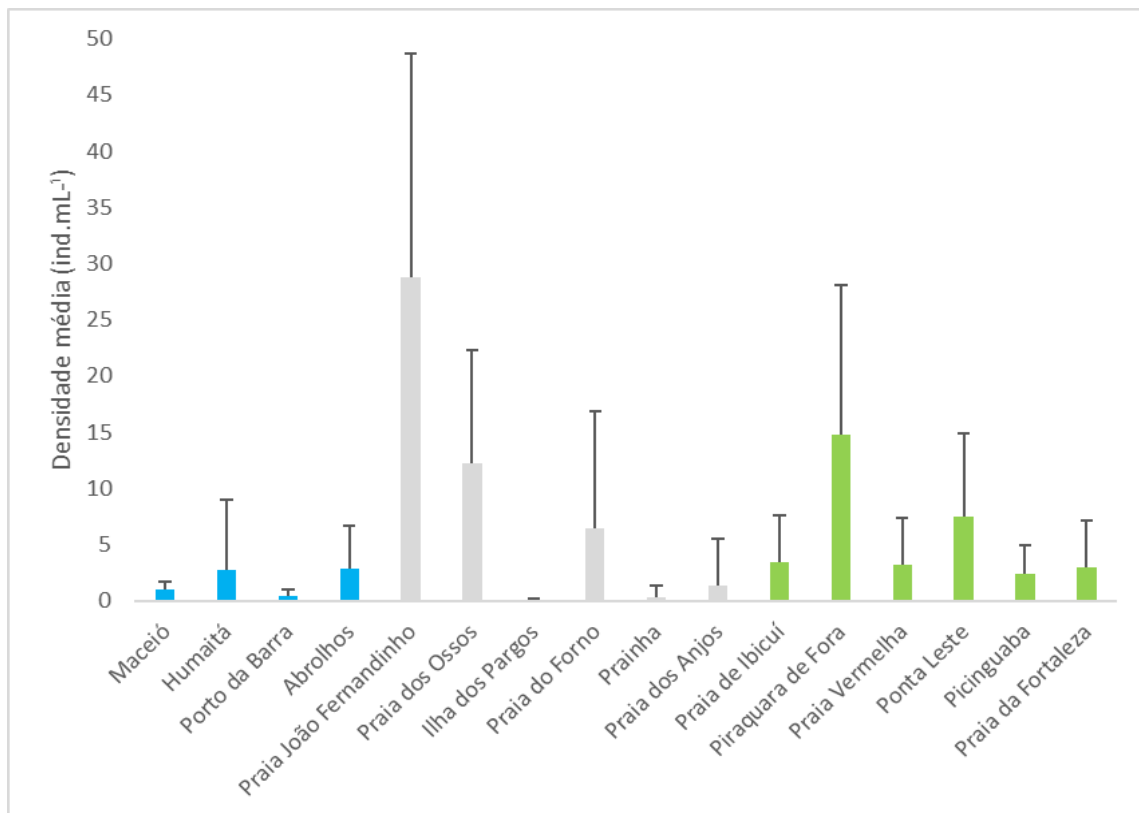
Fonte: A autora, 2023.

4.2 Litoral do Brasil

Foram encontrados 1379 indivíduos simbiotes associados a um total de 237 indivíduos de *P. nigra* ao longo do trecho do litoral estudado, sendo a densidade média de simbiotes de

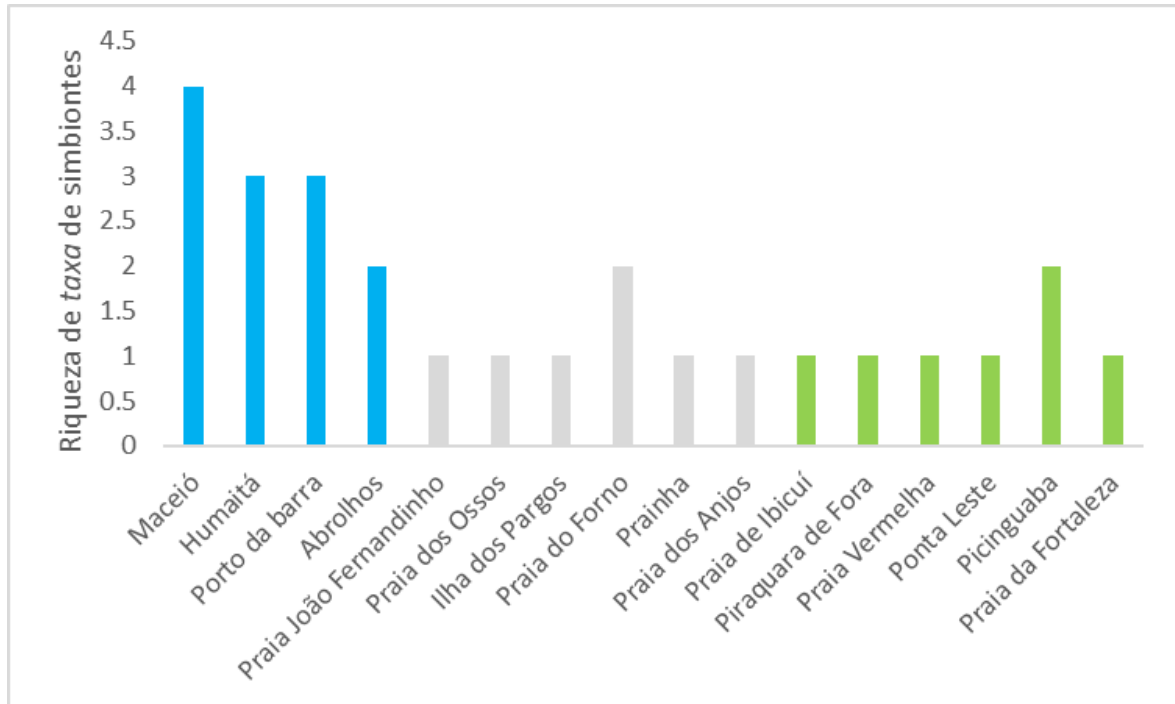
34,3 ind.mL⁻¹ no Domínio Temperado-quente, 49,2 ind.mL⁻¹ na Região de Transição, e 6,9 ind.mL⁻¹ no Domínio Tropical. As densidades médias foram maiores nas localidades de João Fernandinho, Praia dos Ossos (pertencentes a Região de Transição) e Piraquara de Fora (pertencente ao Domínio Temperado) (Figura 15). Por outro lado, a maior riqueza foi registrada no domínio tropical, com oito *táxons*, seguido pela Região de Transição com três *táxons* e por último, o Domínio Temperado-quente, com apenas dois (Figura 16). No entanto, esta riqueza não significa que os indivíduos de *P. nigra* apresentaram comunidades de simbiontes diversas. Foram encontrados no máximo dois *táxons* diferentes em associação a um único indivíduo, independente da localidade em que estavam. Dos 237 indivíduos de *P. nigra* analisados 68% tinham simbiontes associados, e em 63% dos indivíduos, o táxon presente era somente *Leucothoe*.

Figura 15 – Densidade (ind.mL⁻¹) e desvio padrão de simbiontes de *P. nigra* nas localidades estudadas



Legenda: Em azul, o Domínio Tropical, em cinza, a Região de Transição, e em verde, o Domínio Temperado-quente. Média ± DP

Fonte: A autora, 2023.

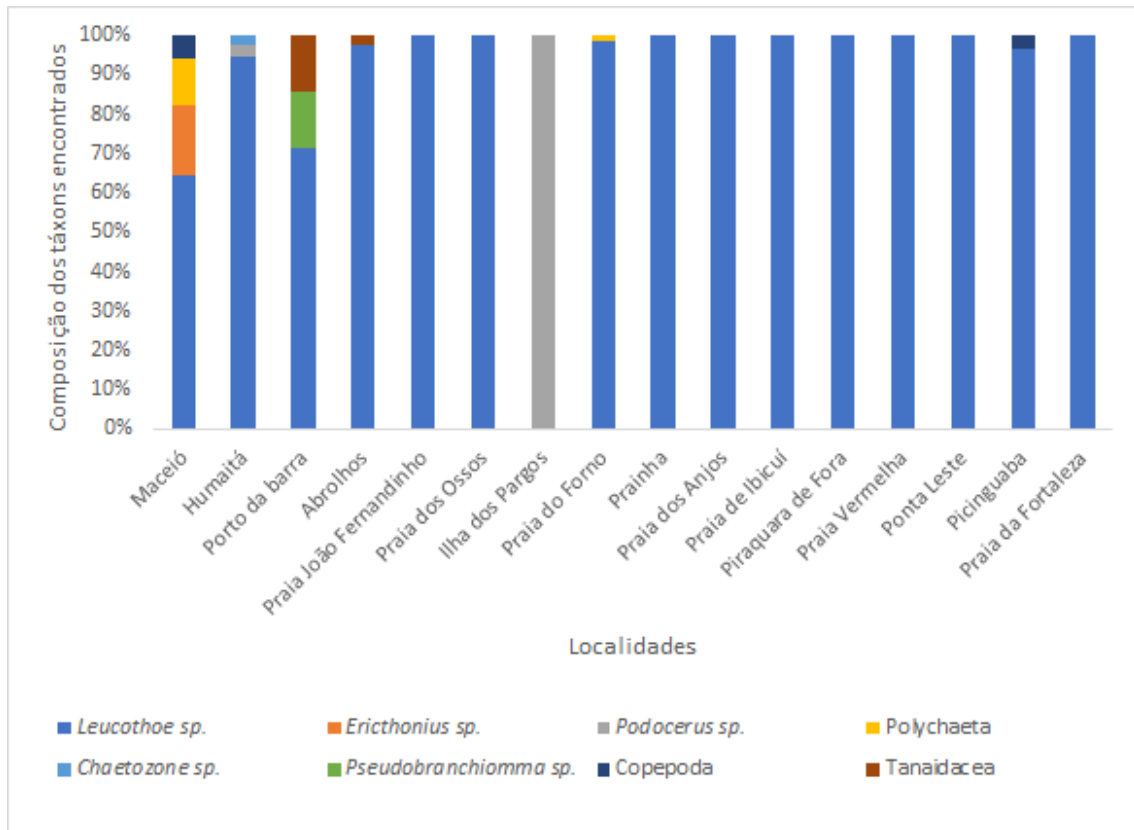
Figura 16 – Riqueza de simbioses de *Phallusia nigra* por localidades

Legenda: Em azul, o Domínio Tropical, em cinza, a Região de Transição, e em verde, o Domínio Temperado-quente.

Fonte: A autora, 2023.

Os simbioses registrados nas cavidades internas de *P. nigra* pertenciam a apenas três grupos taxonômicos: Malacostraca Latreille, 1802, Copepoda Milne Edwards, 1840 e Polychaeta Grube, 1850. Da Classe Malacostraca, a Ordem Amphipoda Latreille, 1816 foi a mais abundante, com a presença dos gêneros *Leucothoe* Leach, 1814, *Erichthonius* H. Milne Edwards, 1830 e *Podocerus* Leach, 1814, e também da Ordem Tanaidacea, e da Classe Copepoda. Da Classe Polychaeta foram encontrados indivíduos dos gêneros *Chaetozone* Malmgren, 1967, e *Pseudobranchiomma* Jone, 1962, além de alguns indivíduos não identificados (Apêndice B e figura 17). O gênero *Leucothoe* além de ser o mais abundante, esteve presente em todos os locais, com exceção da Ilha dos Pargos. Este último local apresentou apenas dois indivíduos de *Podocerus* sp. nas 15 ascídias analisadas. *Podocerus* apresentou-se com um indivíduo também na localidade do Humaitá. *Erichthonius* sp. esteve presente exclusivamente na localidade de Maceió com três indivíduos, acompanhados de dois Polychaeta e um Copepoda. Esse local foi o de maior riqueza de táxons. Das 16 localidades amostradas, nove tiveram registro exclusivo de *Leucothoe*. Os registros de táxons diferentes nas demais localidades foram raros, possuindo apenas um indivíduo de simbiote, quando registrado (Apêndice B e Figura 17).

Figura 17 – Abundância relativa (%) dos *táxons* encontrados nas localidades amostradas

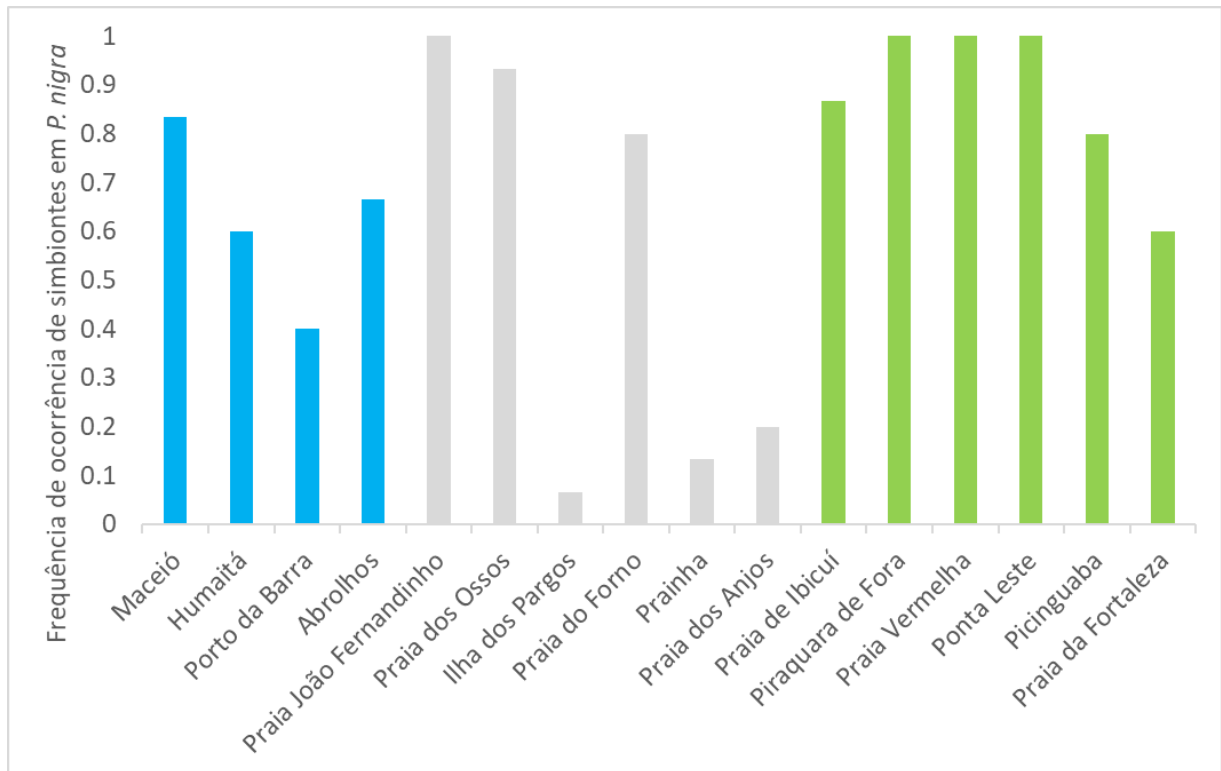


Fonte: A autora, 2023.

4.2.1 Frequência de ocorrência de simbioses em *P. nigra*

No geral, a frequência de ocorrência de simbioses nos 15 indivíduos de *P. nigra* coletados em cada ponto foi superior a 50%, exceto em três localidades da Região de Transição (Praia dos Anjos, Prainha e Ilha dos Pargos) e uma localidade do Domínio Tropical (Porto da Barra) (Figura 18), onde a presença de simbioses nas ascídias foi inferior a 20% dos indivíduos.

Figura 18 - Frequência de ocorrência (%) de Simbiontes em *P. nigra* nas localidades amostradas

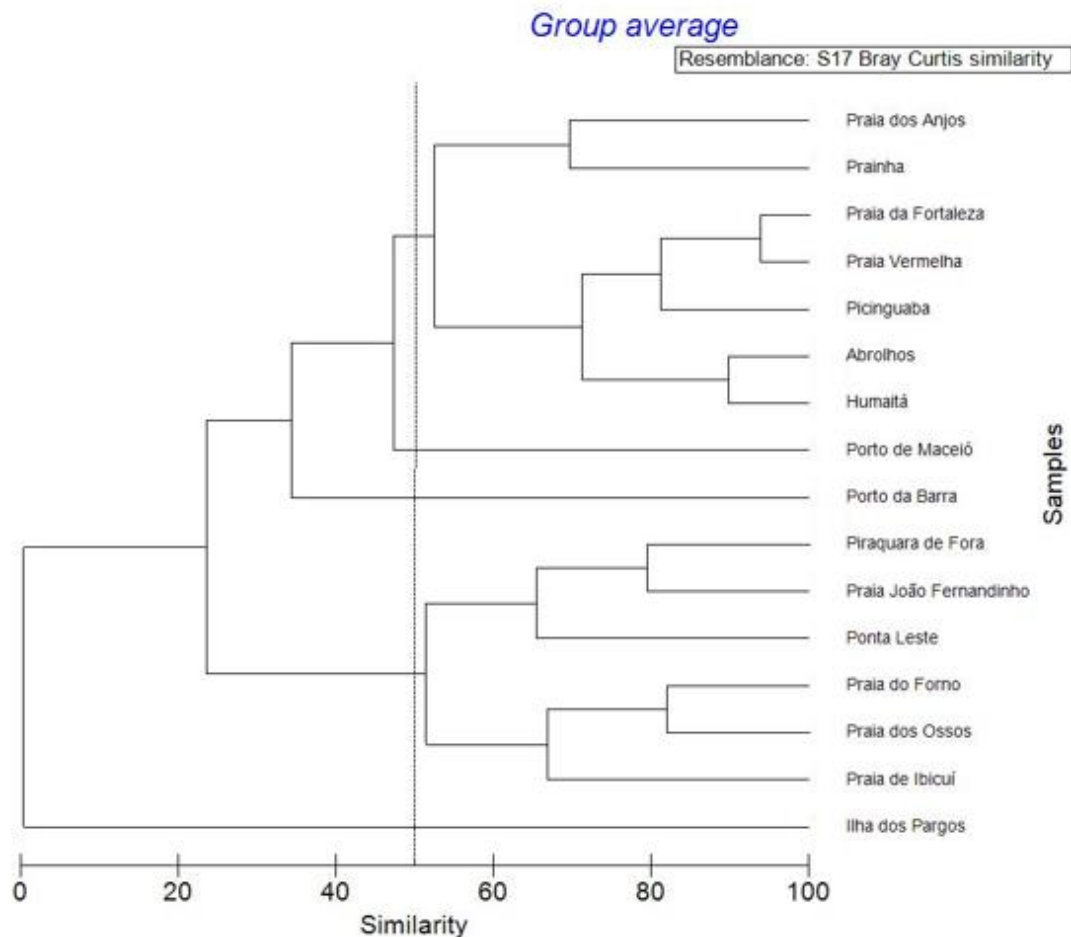


Legenda: Em azul, o Domínio Tropical, em cinza, a Região de Transição, e em verde, o Domínio Temperado-quente.

Fonte: A autora, 2023.

Ao analisarmos o dendrograma baseado na abundância dos simbiontes de *Phallusia nigra* entre os Domínios (Figura 19), observamos a formação de dois grupos com similaridades de até 50%. Estes grupos, no entanto, podem incluir dois ou até mesmo três domínios, com localidades que podem ou não estar próximas geograficamente. A localidade da Ilha de Pargos, na área considerada de transição, destaca-se dos demais, pois *Leucothoe* não foi registrado neste ponto. No geral, a formação de todos os grupos foi determinada pela maior ou menor dominância de *Leucothoe* nas amostras.

Figura 19 - Dendrograma construído a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis dos grupos simbiotes de *Phallusia nigra* no litoral do Brasil



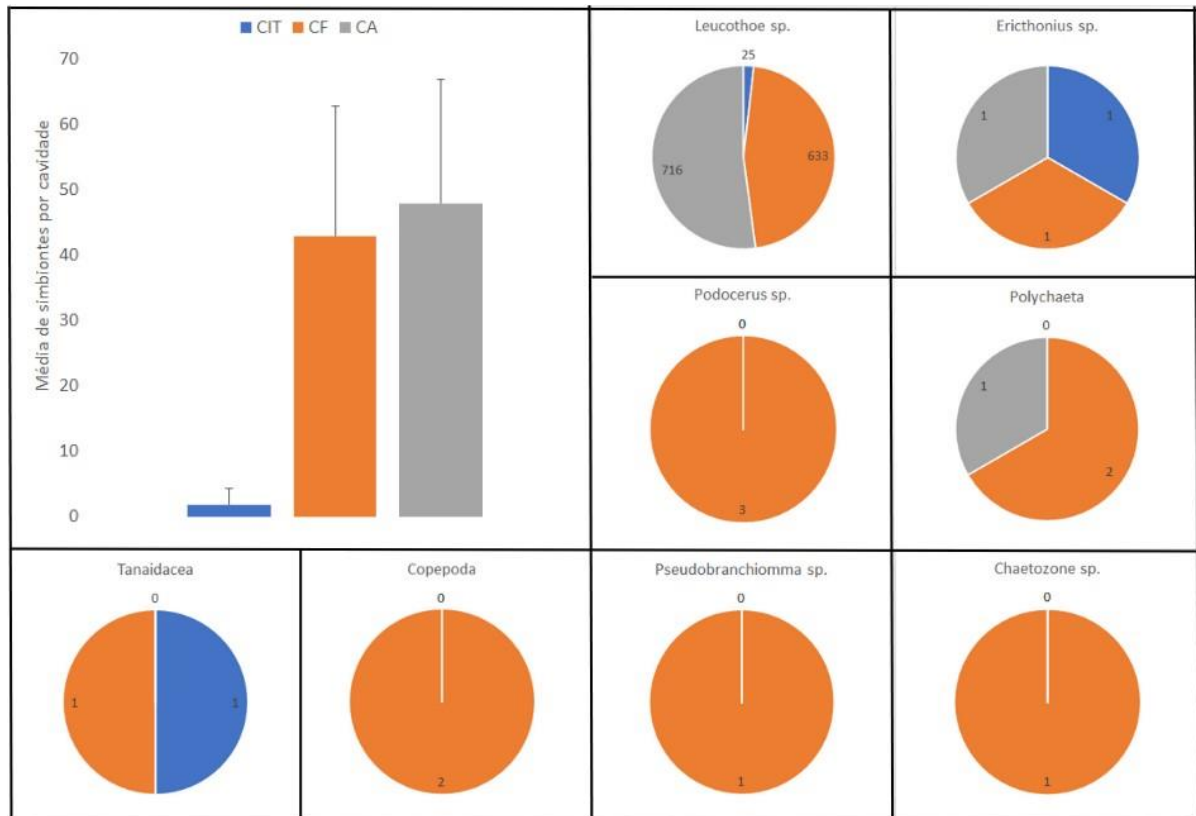
Fonte: A autora, 2023.

4.2.2 Presença de simbiotes nas cavidades corporais de *P. nigra*

O gênero *Leucothoe*, além de possuir a maior abundância de indivíduos, foi registrado em todas as cavidades corporais de *P. nigra*. Os demais simbiotes apresentaram abundâncias baixas ao longo de todo o litoral. Os táxons de crustáceos *Podocerus* e Copepoda foram encontrados apenas na Cavidade Faríngea, independente do domínio, enquanto *Leucothoe* não foi encontrado na Cavidade Interna da Túnica apenas no Domínio Tropical. Os Polychaeta também foram encontrados em diferentes cavidades a depender do domínio. É notória uma preferência dos simbiotes pelas cavidades Faríngea e Atrial, tendo em vista que independente do domínio, a Cavidade Interna da Túnica foi raramente habitada pelos simbiotes (Figura 20). O teste de Kruskal Wallis demonstrou que há diferença significativa entre a abundância de

simbiontes em relação às cavidades (p -valor = $4.935E-06$), sendo a Cavidade Interna da Túnica quem se diferencia das demais.

Figura 20 - Abundância de simbiontes nas cavidades corporais de *Phallusia nigra*



Legenda: CIT = Cavidade Interna da Túnica; CF = Cavidade Faríngea; CA = Cavidade Atrial.

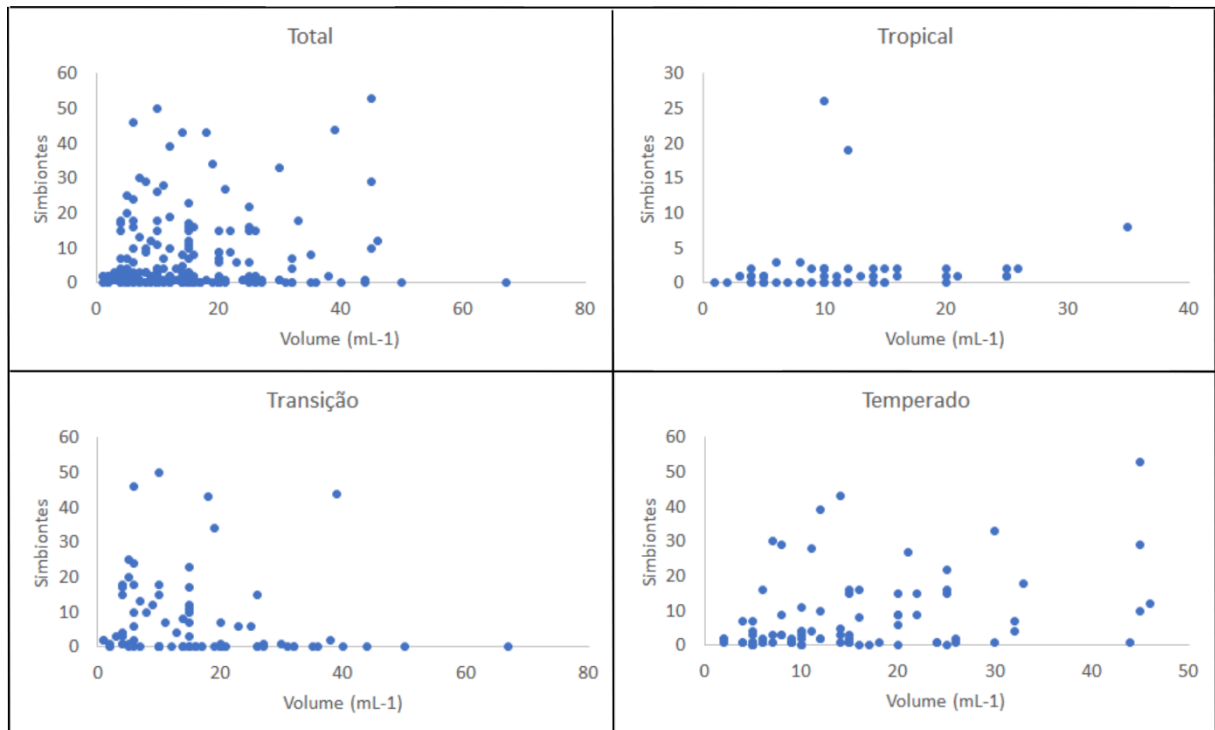
Fonte: A autora, 2023.

4.2.3 Volume

Os tamanhos corporais dos indivíduos de *Phallusia nigra* eram diferentes entre as localidades e os domínios e por este motivo, foi testado se havia uma relação entre o tamanho do indivíduo (volume) e a quantidade de simbiontes encontrados dentro do mesmo. Ao testarmos a correlação utilizando todos os indivíduos coletados no Litoral o resultado foi não significativo ($p = 0,175$, $r = 0,088$). No entanto, ao testarmos os três domínios em separado, a correlação apresentou resultado significativo ($r = 0.278$, $p = 0.0360$ - Tropical; $r = 0.238$, $p = 0.023$ - Transição e $r = 0.373$, $p = 0.0002$ - Temperado) (Figura 21). É importante ressaltar também que além do Domínio Tropical não possui a mesma quantidade de indivíduos que os

demais domínios, a média de volume dos indivíduos também é menor (11,10 mL) do que os do Domínio Temperado-quente (14,85 mL) e da Região de Transição (15,91 mL).

Figura 21 – Relação entre a abundância dos simbiontes e o volume corporal (mL) dos indivíduos de *Phallusia nigra* no litoral do Brasil



Fonte: A autora, 2023.

5 DISCUSSÃO

Pela primeira vez, a fauna de simbioses de Ascidiacea foi estudada de modo sistemático e planejado, abrangendo quatro espécies ao longo de três anos de estudo em uma baía tropical e também, uma espécie ao longo de uma escala espacial de 15 graus de latitude. Na maioria dos estudos de fauna associada a ascídias, estes são conduzidos por taxonomistas dos grupos específicos encontrados em associação (CANTOR *et al.*, 2009; KIM *et al.*, 2016). Portanto, estes estudos não se concentram na composição da fauna, na distribuição dos simbioses nas cavidades ou ainda, na variação espaço-temporal da comunidade simbiote como um todo. Estudos recentes com microorganismos associados às ascídias têm demonstrado especificidade entre os simbioses e a ascídia hospedeira (EVANS *et al.*, 2018; MATOS & ANTUNES, 2021). Assim, uma abordagem multiespecífica para estudo dos metazoários simbioses em uma mesma região depende diretamente da possibilidade de localização destes hospedeiros no espaço e tempo.

No presente estudo, as espécies utilizadas na BIG apesar de serem bastante frequentes, não coexistem em alguns pontos de coleta. *Phallusia nigra*, é a espécie que possui maior distribuição na região, e mesmo assim, não foi registrada em abundância em alguns pontos, não totalizando 10 indivíduos em algumas coletas. *Styela plicata* somente foi registrada nas localidades: Marina Bracuhy, Marina Portugal e Cais de Santa Luzia, em função de ser uma espécie frequente e abundante em áreas de porto/marina (IGNÁCIO *et al.*, 2010; MARINS *et al.*, 2010; SKINNER, BARBOZA & ROCHA, 2016), não estando presente nos demais pontos de coleta. Com isso, essa espécie nos chama atenção, não somente por se tratar de uma espécie considerada invasora no Brasil (DE BARROS *et al.*, 2009), mas também por ser um bioindicador das condições ambientais onde habitam e por possuir simbioses que não se apresentaram nas demais espécies aqui estudadas, sendo superada apenas por *Phallusia nigra* em número de táxons associados.

Com relação ao total de simbioses associados na BIG, *P. nigra* foi a espécie que mais se destacou. Uma possível explicação para a preferência por essa espécie pode estar associada ao Vanádio e o baixo pH presentes na composição química de sua túnica, o que torna essa espécie menos palatável para alguns predadores (ODATE & PAWLIK, 2007), o que poderia conferir melhor abrigo para as espécies de endossimbioses. Além disso, *P. nigra*, dentre as espécies estudadas neste trabalho, é a única a possuir faringe plana e tentáculos simples, características que provavelmente colaboram para que *P. nigra* seja mais facilmente colonizada

pelos simbioses, pois as barreiras mecânicas seriam menores para a entrada no organismo e assim, abrigar uma alta abundância e riqueza de simbioses. Para se testar essa hipótese necessitaríamos utilizar outra espécie com características similares de tentáculos e faringe.

No estudo do litoral do Brasil, registramos que a espécie *Phallusia nigra* pode abrigar até 53 simbioses dentro de um único indivíduo ao longo da margem oeste do Atlântico, no trecho da costa brasileira entre 9 e 23°S, corroborando um padrão de associação desta espécie a invertebrados como crustáceos e poliquetas. No entanto, individualmente, cada ascídia amostrada apresentou associado apenas um ou dois *táxons*, o que também ocorreu majoritariamente para as espécies da BIG. No entanto, *P. nigra* e *S. plicata*, nessa região, chegaram a apresentar três *táxons* dentro de um mesmo indivíduo. A riqueza de simbioses observada em *P. nigra* de até oito *táxons*, para o litoral brasileiro, é bem inferior quando comparado à fauna associada a outros invertebrados, como corais (54 *táxons* em associação) (DE PÁDUA *et al.*, 2022), e esponjas (75 espécies; 9 filos) (RIBEIRO, OMENA & MURICY, 2003), com destaque também para os crustáceos como grupo mais abundante. Na Baía da Ilha Grande a espécie *P. nigra* apresentou maior riqueza de simbioses, totalizando 14 *táxons*. Esse número ainda é baixo quando comparado aos demais invertebrados, além dessa riqueza ser menor ainda para as outras três espécies de ascídias estudadas na mesma região. O aumento na riqueza de simbioses de *Phallusia nigra* encontrada na BIG, quando comparada as coletas do litoral do Brasil, não refletem necessariamente em um pico de biodiversidade da região, mas possivelmente, um reflexo do maior esforço amostral no número de coletas na área do que o realizado nos domínios do Atlântico Temperado-quente e Tropical da América do Sul.

Em abundância, um simbiote em específico chamou atenção, tanto para a região da BIG quanto para o litoral brasileiro. Ambas as regiões e todas as espécies apresentaram indivíduos do gênero *Leucothoe* associados às suas cavidades internas, embora *S. plicata* tenha apresentado em menor abundância. Para o Sudoeste do Atlântico apenas três registros da família Leucothoidae haviam sido documentados em associação com *P. nigra*: *Leucothoe spinicarpa* (Abildgaard, 1789) (CANTOR *et al.*, 2009), *Leucothoe wuriti* Thomas & Klebba, 2007 (RAMOS *et al.*, 2015) e *Leucothoe angraensis* Senna, Andrade, Ramos & Skinner, 2021 (SENNA *et al.*, 2021). No entanto, segundo Arduini *et al.*, (2023) as duas primeiras espécies foram identificadas erroneamente, todas se tratando de *L. angraensis*, uma vez que as identificações anteriores eram de uma baía próxima à Baía da Ilha Grande (23°S), local de origem da espécie, além de se tratar do mesmo hospedeiro. *Leucothoe angraensis* é bastante frequente nessa região, onde também foi realizada parte da coleta do domínio Temperado-quente. Até o momento, apesar de existirem outras espécies do gênero no Brasil, apenas *L.*

angraensis foi encontrada utilizando ascídias como hospedeiro (SENNA *et al.*, 2021). Desta forma, *L. angraensis* não só pode estar utilizando *P. nigra* como hospedeiro, como também *Microcosmus exasperatus*, *Herdmania pallida* e *Styela plicata*, devido a associação de indivíduos do gênero ocorrerem no local de origem da descrição da espécie, ou ainda, outras espécies do mesmo gênero podem estar utilizando ascídias como simbioses na costa brasileira. Já foi registrado na Indonésia, por exemplo, *Leucothoe eltoni* Thomas, 2015, associado às cavidades faríngeas de indivíduos do gênero *Herdmania* sp. (THOMAS JD, 2015) e na costa da Flórida para *Leucothoe spinicarpa*, associado às espécies *P. nigra*, *M. exasperatus* e *S. plicata*, inclusive com números médios de associação a estas espécies inferiores aos encontrados aqui, mas ainda assim seguindo um padrão de preferência por *Phallusia nigra* (THIEL, 1999). Sendo assim, podem ser novas ocorrências para a ciência e estabelecendo uma relação forte de associação do gênero com as cavidades internas de ascídias solitárias.

Além de *Leucothoe*, *Erichthonius* sp. também esteve presente em todas as cavidades de *P. nigra*, ainda que em baixa abundância. Porém, somente foi registrado em uma região portuária localizada no domínio do Atlântico Tropical. Para *Erichthonius punctatus* (Spence Bate, 1857) um padrão sazonal foi registrado no porto de Mar del Plata, onde sua abundância foi maior nos meses quentes e menor nos meses frios (RUMBOLD *et al.*, 2016). No litoral brasileiro temos a ocorrência de *Erichthonius brasiliensis* (Dana, 1853), espécie já encontrada em associação com algas, corais, esponjas e ascídias (RIBEIRO, OMENA & MURICY, 2003). *Podocerus* é outro gênero pertencente a Amphipoda que foi encontrado tanto em *P. nigra* nas localidades do litoral quanto para a espécie *M. exasperatus* em Bracuhy, na BIG. Em *Podocerus*, sabemos que a espécie *P. brasiliensis* não consegue construir tubos e já foi registrado inquilinismo ao utilizar tubos vazios de outros táxons para exercer seu hábito alimentar através de partículas em suspensão (DE PÁDUA *et al.*, 2022). Ao encontrarmos indivíduos de *Podocerus* dentro da cavidade faríngea de *P. nigra* e *Podocerus brasiliensis* em *M. exasperatus*, a mesma relação pode estar se estabelecendo, uma vez que a ascídia já faria a função de captura das partículas em suspensão no ambiente, concentrando essas partículas e tornando-as disponíveis para seus simbioses, além de conferir abrigo e proteção. Em *M. exasperatus* foram observados pela primeira vez indivíduos de Corophiidae Leach, 1814 vivendo associados à esta espécie, assim como Amphithoidae Boeck, 1871 para a espécie *H. pallida*.

Também foram registrados a ocorrência de dois indivíduos da Subordem Pleocyemata para *Phallusia nigra* na BIG. Embora não tenhamos uma identificação mais precisa, decápodes já foram registrados em associação à espécies de ascídias solitárias anteriormente, inclusive na

espécie *P. nigra*, como é o caso de Pinnotheridae e Palaemonidae pertencentes à Subordem Pleocyemata, mas o tipo da interação entre estes e ascídias não foi classificada (OOISHI, S. 2014; de GIER & BECKER, 2020). Outras espécies do gênero de ascídias aqui estudadas (*Microcosmus*, *Herdmania* e *Styela*) também já foram registradas como hospedeiras dessas mesmas famílias de Decapoda, no entanto, em nossos estudos só observamos a presença destes em dois indivíduos em *P. nigra*.

Outros dois crustáceos tiveram aparições raras para essa mesma espécie de ascídia, em sua Cavidade Faríngea, foram eles: crustáceos da Ordem Cumacea Krøyer, 1846 e uma família de Isopoda, Gnathiidae Leach, 1814. Ambos já foram encontrados como epifauna de *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 no Mar Egeu (VOULTSIADOU, PYROUNAKI & CHINTIROGLOU, 2007). Isopoda já foi registrado como simbiote para *Ciona intestinalis* (Linnaeus, 1767), *Styela clava* Herdman, 1881, *Didemnum vexillum* Kott, 2002, *Botrylloides violaceus* Oka, 1927, *Botryllus schlosseri* (Pallas, 1766) e *Diplosoma listerianum* (Milne Edwards, 1841) (HOBBS *et al.*, 2015) mas até então, não havia ocorrência de associação entre estes para o Brasil. Além destes, também já foi registrada para as Ilhas Galápagos a associação de *Aegiochus francoisae* (Wetzer, 1990) com a espécie de ascídia *Halocynthia dumosa* (Stimpson, 1855), inclusive apontando este como possível parasito (WETZER, 1990; BRUCE, 2009). Gnathiidae é uma família de Isopoda que também já foi apontada como parasito em vertebrados como Elasmobrânquios (HAYES, SMIT & DAVIES, 2007). Em nossos resultados, apenas *P. nigra* apresentou a família Gnathiidae associada, e apesar de não estabelecermos a interação entre estes, é um novo endossimbiote de *Phallusia nigra* no litoral brasileiro. Cumacea, por sua vez, é um crustáceo que vive associado ao sedimento e que se alimenta de matéria orgânica (DOS SANTOS & PIRES-VANIN, 1999). Seu aparecimento na Cavidade Faríngea de *P. nigra* pode sugerir uma competição por alimento, tendo em vista que ambos se alimentam de matéria orgânica.

Para Copepoda, são conhecidas onze espécies de endossimbiontes de *Phallusia nigra*, todas pertencentes às famílias Notodelphyidae Dana, 1853, e Ascidicolidae Thorell, 1859 (KIM *et al.*, 2016). Apesar de *Notodelphys steinitzi* Stock, 1967 e *Notodelphys ciliata* Schellenberg, 1922 já terem sido registradas em *P. nigra*, esta é a primeira vez que a associação é registrada para o Brasil, assim como todas as associações de copépodes encontradas em nossos resultados. *Styelicola* sp., como o nome já sugere, foi encontrado associado a *Styela plicata*, já sendo conhecido para o gênero e tendo se apresentando em outras ascídias do gênero *Styela* (LÜTZEN, 1968). *Styelicola* faz parte da família Ascidicolidae Thorell, 1859 que também já foi registrada utilizando várias ascídias solitárias como habitat no Mar Vermelho (KIM *et al.*,

2016). Entretanto, sabemos previamente que espécies da família Notodelphyidae e Ascidicolidae comumente são consideradas parasitos de ascídias (CRUZ-RIVERA *et al*, 2022). Mas como já foi destacado por Cruz-Rivera *et al.*, (2022), considerar esses indivíduos parasitos sem saber as espécies e suas características e como estas se relacionam com as ascídias, podendo inclusive serem espécies novas para a ciência, pode ser superficial. Inclusive espécies de outros gêneros, que não estes de copépodes, também já foram indicados como parasitos de ascídias, como é o caso da espécie *Arthurhumesia canadiensis* Bresciani & López-González, 2001, parasito da ascídia *Aplidium solidum* (Ritter & Forsyth, 1917) (BRESCIANI & LÓPEZ-GONZÁLEZ, 2001). Sendo assim, é imprescindível que as relações sejam avaliadas profundamente para não serem classificadas de maneira errônea ou apenas pelo gênero ao qual o simbiote pertence.

Na Ordem Tanaidacea, o mesmo se aplica. Porém, é a primeira vez que indivíduos de Tanaidacea são encontrados dentro das cavidades corporais de ascídias solitárias. Anteriormente, os registros de Tanaidacea e ascídias solitárias se referiam apenas como sendo epibiontes, como é o caso das ascídias *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 (VOULTSIADOU, PYROUNAKI & CHINTIROGLOU, 2007) e *Pyura chilensis* Molina, 1782 (SEPÚLVEDA, CANCINO & THIEL, 2003). No entanto, *P. nigra* possui a túnica livre de incrustações, não apresentando qualquer epibionte ou bioincrustação, e ainda assim apresentou simbioses do grupo associado às suas cavidades. *Microcosmus exasperatus* e *S. plicata* também apresentaram indivíduos do grupo Tanaidacea como endossimbiontes, apresentando ainda um único indivíduo de *Tanais* sp. Latreille, 1831 associado à cavidade faríngea de *M. exasperatus* em Piraquara de Fora.

Phallusia nigra e *Styela plicata* ainda apresentaram espécimes dos táxons Nematoda associados à Cavidade Interna da Túnica e Cavidade Faríngea. Embora não saibamos a espécie de nematódeos aqui encontrada, nematódeos marinhos de vida livre da espécie *Deontostoma duanei* Pastor de Ward, 1995 já foram encontrados associados à um microhabitat criado entre espécies de mexilhão e ascídias coloniais, esse espaço em específico era utilizado por essa espécie de nematódeo (DE WARD PASTOR, 1995). Assim, sabendo que as cavidades corporais de ascídias formam microhabitats, espécies como essa mencionada poderiam utilizar esses espaços também em ascídias solitárias. Segundo Tchesunov & Ivanenko (2021), não foram encontradas associações entre invertebrados e nematódeos que fossem classificadas como mutualismo, classificando assim as relações entre estes em parasitismo ou comensalismo. Além disso, já foi constatado que nematódeos podem se reproduzir e desenvolver dentro de esponjas em grande abundância, aparentemente pelo mesmo motivo que anfípodes *Leucothoe*

vivem associados a elas, utilizando como abrigo e se aproveitando do fluxo de água das esponjas (TCHESUNOV & IVANENKO, 2021).

Quando se trata dos poliquetas, já houve registro de escavação da túnica *P. nigra* por um poliqueta da família Syllidae Grube, 1850 (MARTIN, NYGREN & CRUZ-RIVERA, 2017). Por se tratar de um hábito de escavação da túnica e assim gerar dano ao tecido do animal, o poliqueta *Proceraea exoryxae* Martin, Nygren & Cruz-Rivera, 2017, é classificado como parasito e foi o primeiro a ser documentado vivendo em associação com ascídias. Antes disso, espécies de Polychaeta eram registradas em associação em ascídias apenas como epifauna, (SEPÚLVEDA *et al.*, 2015) ou sem menção à localização do animal na ascídia (NOGUEIRA & FUKUDA, 2008). Os seis gêneros aqui encontrados associados à espécie *Phallusia nigra* estão sendo registrados pela primeira vez em associação às cavidades de ascídias, sendo *Scoletoma* sp. Blainville, 1828, *Nicidion* cf. *insularis* (Nogueira, Steiner & Amaral, 2001), *Syllis* sp. Lamarck, 1818, *Chaetozone* Malmgren, 1867 e *Pseudobranchiomma* Jones, 1962 associados à Cavidade Faríngea e *Protoaricia* spp. Czerniavsky, 1881 na Cavidade Atrial. Em nossos estudos, além de *P. nigra*, também foram encontradas hospedando poliquetas na Cavidade Interna da Túnica e na Cavidade Atrial a espécie *S. plicata*, e na cavidade faríngea a espécie *H. pallida*.

É curiosa a aparição de poliquetas internamente nas ascídias, mas não seria a primeira vez que poliquetas utilizam outros invertebrados marinhos como habitat, indivíduos do gênero *Syllis*, por exemplo, já foram registrados utilizando conchas de gastrópodes (LÓPEZ *et al.*, 2001). *Polydora tunicola* Abe, Hoshino, Yamada, Ogino, Kawaida & Sato-Okoshi, 2022, também é uma espécie de Polychaeta que habita galerias escavadas na túnica de ascídias. Esta espécie não foi descrita como parasito, pois a princípio não possui características capazes de escavar tecidos duros, mas não podemos desconsiderar esta possibilidade (ABE *et al.*, 2022). *Polydora tunicola* se localiza densamente próximo aos sifões das ascídias, e assim como anfípodes *Leucothoe* que habitam a Cavidade Faríngea, esses indivíduos se beneficiam da corrente de circulação de água e do alimento que ali chega, antes mesmo de ser filtrado pela ascídia (BRUCKER, 2016). Além disso, Brucker (2016) também apontou que nos casos de espécies de *Leucothoe* que vivem associados a esponjas, por possuírem maior espaço interno, podem abrigar uma quantidade maior de anfípodes, fornecendo ambientes adequados para cópula e criação de descendentes, enquanto em ascídias e bivalves, que são menores, abrigam apenas alguns indivíduos como pais e filhos, embora tenha sido observado alta concentração de desses indivíduos em ascídias solitárias, em especial para a espécie *P. nigra* no presente estudo. Ainda que não tenhamos encontrado poliquetas com comportamento de escavação semelhante

a *Proceraea exoryxae*, ou aparentemente causando danos a estrutura física das ascídias, encontramos exemplares de poliquetas na Cavidade Faríngea, incluindo ocorrência da família Sabellidae (suspensívoro filtrador) e da família Cirratulidae (suspensívoro detritívoro).

Levando em consideração todos os táxons associados, a maior riqueza de simbioses registrada na Cavidade Faríngea das ascídias, sugere uma preferência por esse compartimento do animal. Essa preferência já era esperada, tendo em vista que na Cavidade Faríngea é onde todas as partículas são filtradas e aderidas ao muco produzido pelo endóstilo (GOODBODY, 1975), ou seja, é o ambiente perfeito para o simbiote não somente se proteger de predadores, como também se alimentar desses recursos. Na Cavidade Atrial, além da presença de indivíduos de *Leucothoe* e *Erichthonius*, que estavam presentes em todas as cavidades, tivemos também a ocorrência de poliquetas. Nas coletas da BIG, também tivemos a presença de *Doropygus pinguis*, *Protoaricia* sp e Tanaidacea nesta cavidade. A cavidade Atrial pode ser acessada através do sifão atrial, mas por se tratar da abertura que expõe a água filtrada pela ascídia, a entrada e permanência desses simbioses nesta cavidade deve ser feita de maneira ativa, sendo assim, esses indivíduos mencionados devem ser capazes de vencer esse fluxo d'água e não serem eliminados junto com este. Desta maneira, o anfípode do gênero *Leucothoe* parece ser extremamente eficiente tendo em vista sua abundância na Cavidade Atrial, que é superior a cavidade Faríngea. *Leucothoe* sp. foi o único representante do gênero que ocorreu em todas as cavidades de *P. nigra* e que também esteve presente em toda a área amostrada no litoral brasileiro, independente do domínio ou localidade, com exceção apenas para Ilha dos Pargos. Os indivíduos do gênero também estavam presentes em todas as localidades da BIG e nas quatro espécies estudadas.

Dentre todos os grupos, inclusive dentro dos representantes da Ordem Amphipoda, *Leucothoe* sp. foi o mais abundante. Na Cavidade Faríngea e na Cavidade Atrial encontramos também a presença de fêmeas ovíferas além de indivíduos adultos acompanhados de juvenis, o que aparenta possuir uma forte associação e sinaliza que ambas as cavidades podem estar servindo também para reprodução de determinadas espécies do gênero, além de reforçar a ideia de que esse gênero vive na ascídia e não está somente de passagem. KIM *et al* (2016) já haviam sinalizado para o Mar Vermelho que indivíduos de *Leucothoe* são habituais na Cavidade Faríngea de *P. nigra*, apesar de não mencionarem abundância, indivíduos de *Leucothoe* foram registrados na maior parte das *P. nigra* coletadas. O mesmo foi registrado no Mar Grande do Taranto, Itália, para *P. mamillata*, em que se observou que os indivíduos adultos de *Leucothoe* utilizavam as cavidades corporais das ascídias para alimentação e reprodução, demonstrando cuidado parental das espécies em associação (ARDUINI *et al.*, 2023). As relações

interespecíficas que ocorrem entre as ascídias e seus simbioses ainda são pouco documentadas, não enfatizando os possíveis danos ou benefícios para os hospedeiros ao ocorrer essas interações com os demais invertebrados.

Nos estudos de Spalding *et al.*, (2007), as ascídias e seus simbioses internos não foram utilizados como objeto de estudo para auxiliar na determinação dos domínios biogeográficos marinhos, e os resultados aqui obtidos demonstraram que a distribuição, abundância e riqueza dos simbioses de *P. nigra* no litoral da costa brasileira não estão relacionados diretamente aos domínios biogeográficos pré-estabelecidos e sim a variações ambientais locais dentro de cada região amostrada. A diversidade dos simbioses de ascídias pode variar conforme o ambiente em que estão seus hospedeiros, podendo ser um indicador de qualidade ambiental, tanto em termos de taxa de infestação quanto das espécies simbioses observadas (SHENKAR & LOYA, 2008). Na Baía da Ilha Grande, por sua vez, as localidades não pareceram influenciar fortemente na abundância e riqueza das espécies simbioses. *Leucothoe* associado à *P. nigra* é a maior razão da abundância atribuída às localidades, em razão disso, as localidades onde não temos *Phallusia nigra* com frequência foram onde obtivemos menores abundâncias, como foi o caso de Porto Galo e Bracuhy. Para além disso, a abundância também parece ser maior durante as coletas de verão, o que poderia indicar um efeito da sazonalidade sobre os simbioses. No entanto, não foram realizadas coletas anuais suficientes nas localidades para afirmar tal efeito.

Além das dificuldades inerentes à identificação das relações ecológicas entre simbioses e hospedeiros, a falta de indicação nos estudos do posicionamento de onde esses simbioses foram encontrados (GOODBODY, 1962; KIM *et al.*, 2016; MARTIN, NYGREN & CRUZ-RIVERA, 2017), dificulta ainda mais a compreensão das relações ecológicas estabelecidas entre estes e seus hospedeiros.

Diferentes espécies de ascídias podem abrigar uma diversa fauna associada às suas cavidades. No presente estudo, *Phallusia nigra* demonstrou ser uma ótima espécie modelo para estudarmos a fauna associada tendo em vista a abundância de simbioses que encontramos dentro da espécie. Uma possível explicação para o uso da mesma pelos simbioses, pode estar relacionada à sua composição química da túnica, que possui a presença de Vanádio e baixo pH, o que torna essa espécie menos palatável para alguns predadores (ODATE & PAWLIK, 2007; STOECKER, 1980), mas aparentemente, torna a espécie e as suas cavidades internas um bom abrigo para os endossimbioses, além de seus tentáculos simples que podem conferir menor resistência a entrada de simbioses quando comparado aos tentáculos compostos de outras espécies. Desta forma, apesar de *P. nigra* parecer não possuir uma diversidade de simbioses associada devido à ausência de incrustação externa (epibioses), a mesma abriga uma

diversidade de simbioses internamente (endossimbioses). Outra característica seria sua ampla distribuição nas águas tropicais e subtropicais do Atlântico Oeste (BONNET & ROCHA, 2011; AUED, 2018; PALOMINO-ALVAREZ *et al.*, 2019) e Mar Vermelho (VANDEPAS *et al.*, 2015), o que permite comparações biogeográficas mais abrangentes no futuro.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluindo, não há variação latitudinal da composição de endossimbiontes para *Phallusia nigra* no litoral do Brasil. Esta espécie de ascídia é um bom hospedeiro, principalmente para anfípodes do gênero *Leucothoe*. Estes parecem estar fortemente associados à *P. nigra*, uma vez que as demais espécies de ascídias coletadas na Baía da Ilha Grande não alcançaram a mesma abundância em relação aos indivíduos desse gênero de endossimbionte. Além disso, os demais simbiossiontes foram encontrados de forma esporádica, tanto no litoral quanto na BIG. Ainda assim, as espécies aqui utilizadas apresentaram simbiossiontes exclusivos que podem sugerir uma preferência por parte dos endossimbiontes, podendo ou não estar associado às faringes e tentáculos das ascídias. Tanaidacea, Copepoda e indivíduos de Polychaeta dos mais diversos gêneros são registrados pela primeira vez como endossimbiontes de ascídias solitárias, ou ainda, esses endossimbiontes sendo novas ocorrências no litoral brasileiro. A abundância de simbiossiontes na BIG ao longo do tempo e estações sugere que há sazonalidade na ocorrência e intensidade de interação destes indivíduos, favorecendo seu aparecimento em maiores quantidades nas coletas de verão. No entanto, mais amostras seriam necessárias para que houvesse a comparação e a construção de um padrão mais claro. As cavidades preferencialmente utilizadas pelos simbiossiontes são as cavidades faríngea e atrial, sendo a interna da túnica raramente habitada, não importando para qual espécie de ascídia. Os simbiossiontes associados as cavidades internas das ascídias se utilizam deste microhabitat formado para ter abrigo e alimento.

- a) A riqueza e abundância, na Baía da Ilha Grande, dos simbiossiontes de *Phallusia nigra*, *Styela plicata*, *Microcosmus exasperatus* e *Herdmania pallida* nos diferentes locais de coleta e épocas do ano foram relacionadas e comparadas, demonstrando que entre as quatro espécies, *Phallusia nigra* se destaca como hospedeiro de endossimbiontes na região;
- b) A riqueza e abundância das espécies simbiossiontes de *Phallusia nigra*, nos domínios Tropical e Temperado-quente do litoral brasileiro, foram estabelecidas, totalizando 1379 endossimbiontes de *P. nigra*, pertencentes a oito táxons, entre Alagoas e São Paulo, e a composição de endossimbiontes não apresenta uma variação latitudinal.

REFERÊNCIAS

- ABE H, HOSHINO O, YAMADA K, OGINO T, KAWAIDA S & SATO-OKOSHI W. 2022. A novel symbiotic relationship between ascidians and a new tunic-boring polychaete (Annelida: Spionidae: Polydora). *Zootaxa*, 5159(1), 1-22.
- ARDUINI D, D'ORIA L, BORGHESE J, GRAVINA MF & GIANGRANDE A. 2023. The Ascidian–Amphipod Association between *Phallusia mammillata* (Cuvier, 1815) and *Leucothoe richiardi* (Lesson, 1865) in the Mar Grande of Taranto (Mediterranean Sea, Italy). *Journal of Marine Science and Engineering*, v. 11, n. 9, p. 1694–1694.
- AUED AW. 2018. Macroecologia de comunidades bentônicas recifais do Atlântico Sul Ocidental: padrões e processos. Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de Santa Catarina.
- BARLOW J, FRANÇA F, GARDNER TA, HICKS CC, LENNOX GD, BERENGUER E, CASTELLO L, ECONOMO EP, FERREIRA J, GUÉNARD B, LEAL CG, ISAAC V, LEES AC, PARR CL, WILSON SK, YOUNG PJ & GRAHAM NAJ. 2018. The future of hyperdiverse tropical ecosystems. *Nature volume 559*, pages 517–526.
- BONNET NYK & RM ROCHA. 2011. The Ascidiidae (Ascidiacea, Tunicata) in coastal Brazil. *Zoological Studies* 50 (6): 809-825.
- BOXSHALL GA & MARCHENKOV A. 2005. A new genus of notodelphyid copepod (Crustacea, Copepoda, Cyclopoida) from a compound ascidian host collected in the Suez Canal. *Zoosystema*, 27(3), 483-497.
- BRESCIANI J & LÓPEZ-GONZÁLEZ PJ. 2001. *Athurhumesia canadiensis*, New genus and species of highly transformed parasitic Copepod (Crustacea) associated with an Ascidian from British Columbia. *Journal Of Crustacean Biology*, 21(1): 90-95.
- BRUCE NL. 2009. The marine fauna of New Zealand: Isopoda, Aegidae (Crustacea) (pp. 1-252). NIWA.

BRUCKER KM. 2016. An Endemic Commensal Leucothoid Discovered in the Tunicate *Cnemidocarpa bicornuta*, from New Zealand (Crustacea, Amphipoda). *HCNSO Student Theses and Dissertations*.

CANETE JI & ROCHA RM. 2013. *Modiolarca lateralis* (Pteryomorpha: Mytilidae): Bivalve Associated to Six Species of Ascidiaceans from Bocas Del Toro, Panama. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41 (5): 1030–35. doi:10.3856/vol41-issue5-fulltext-25.

CANTOR M, SIQUEIRA SGL, CRUVINEL GT, LEITE FPP. 2009. Occurrence of the amphipod *Leucothoe spinicarpa* (Abildgaard, 1789) (Amphipoda) in the ascidian *Phallusia nigra* (Urochordata, Ascidiacea) in Southeastern Brazil. *Nauplius* 17(1): 13-17.

CEADS. 2012. Ilha Grande. Disponível em: <<http://www.sr2.uerj.br/sr2/ceads/index.php/ilha-grande>> Acesso em: 08 de Dezembro de 2018.

CHEN, L.; FU, C.; WANG, G. 2019. Microbial diversity associated with ascidians: a review of research methods and application. *Symbiosis*, v. 71, n. 1, p. 19–26.

CONLEY KR, BEN-TAL A, JACOBI Y, YAHIEL G & SUTHERLAND KR. 2018. Not-so-simple sieving by ascidians: re-examining particle capture at the mesh and organismal scales. *Marine Biology*, 165(3), 1-14.

COOPER TF, GILMOUR JP & FABRICIUS KE. 2009. Bioindicators of changes in water quality on coral reefs: review and recommendations for monitoring programmes. *Coral reefs*, 28(3), 589-606.

CREED JC, ABSALÃO RS, BRASIL ACS, FIGUEIREDO MAO, FERREIRA CEL, PIRES DO, SEREJO CS & VENTURA CRR. 2007a. Sumário Executivo. In: Creed, J. C.; Pires, D. O. P. & Figueiredo, M. A. O. (orgs). *Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande*. Série Biodiversidade 23. MMA, Brasília.

CREED JC, CASARES AES & OLIVEIRA AES. 2007b. Características ambientais: água. In: *Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande*. Série Biodiversidade 23. Creed, J.C.; Pires, D.O.P. & Figueiredo, M.A.O. (orgs). MMA, Brasília.

CRUZ-RIVERA E, SHERIF MED, EL-SAHHAR S & LOMBARDI T. 2022. Spatial variability in a symbiont-diverse marine host and the use of observational data to assess ecological interactions. *Diversity*, 14(3), 197.

CUMMINGS VM, ARAUJO FV, ANDRADE LF & SENNA AR. 2021. A new species of *Dulichella* Stout, 1912 (Amphipoda: Melitidae) from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Natural History*, 55(33-34), 2111-2128.

DALBY JE. 1996. Nemertean, Copepod and Amphipod symbionts of the dimorphic ascidian *Pyura stolonifera* near Melbourne, Australia: specificities to host morphs, and factors affecting prevalences. *Marine Biology*, 126: 231–243.

de BARROS RC, DA ROCHA RM & PIE MR. 2009. Human-mediated global dispersion of *Styela plicata* (Tunicata, Ascidiacea). *Aquatic Invasions*, 4(1), 45-57.

de GIER W & BECKER C. 2020. A review of the ecomorphology of pinnotherine pea crabs (Brachyura: Pinnotheridae), with an updated list of symbiont-host associations. *Diversity*, 12(11), 431.

de PÁDUA SMF, BOTTER-CARVALHO ML, GOMES PB, de OLIVEIRA CS, dos SANTOS JCP & PÉREZ CD. 2022. The alien octocoral *Carijoa riisei* is a biogenic substrate multiplier in artificial Brazilian shipwrecks. *Aquat Ecol* 56, 183–200. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09908-8>

de WARD PASTOR CT. 1995. *Deontostoma* species from subantarctic coasts (Nematoda, Leptosomatidae). *Hydrobiologia* 315, 177–187. <https://doi.org/10.1007/BF00051948>

DIAS GM, ROCHA RM, LOTUFO TMC & KREMER LP. 2013. Fifty years of ascidian biodiversity research in São Sebastião, Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 93(1), 273-282.

DOS SANTOS MFL & PIRES-VANIN AMS. 1999. The Cumacea community of the southeastern Brazilian Continental Shelf: structure and dynamics. *Scientia Marina*, v. 63, n. 1, p. 15-25.

DOU, X. & DONG, B. 2019. Origins and bioactivities of natural compounds derived from marine ascidians and their symbionts. *Marine Drugs*, v. 17, n. 12, p. 670, 28 nov.

DUDLEY PL. 1968. A light and electron microscopic study of tissue interactions between a parasitic copepod, *Scolecodes huntsmani* (Henderson), and its host ascidian, *Styela gibbsii* (Stimpson). *Journal of Morphology*, 124(3), 263-281.

ELLINGSEN K & GRAY JS. 2002. Spatial patterns of benthic diversity: is there a latitudinal gradient along the Norwegian continental shelf? *Journal of Animal Ecology*, 71(3), 373-389.

EVANS JS, ERWIN PM, SHENKAR N & LÓPEZ-LEGENTIL S. 2018. A comparison of prokaryotic symbiont communities in nonnative and native ascidians from reef and harbor habitats. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 94, n. 9, 19.

FLOOD PR & FIALA-MÁDIONI A. 1979. Filter characteristics of ascidian food trapping mucous films. *Acta Zoologica*. (Stockh.) 60:271-272.

GOODBODY I. 1962. The biology of *Ascidia nigra* (Savigny). I. Survival and mortality in an adult population. *The Biological Bulletin*, v. 122, n. 1, p. 40–51.

GOODBODY I. 1975. The physiology of ascidians. In *Advances in marine biology* (Vol. 12, pp. 1-149). Academic Press.

HAMMER Ø, HARPER DAT & PD RYAN. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.

HAYES PM, SMIT NJ & DAVIES AJ. 2007. Pathology associated with parasitic juvenile gnathiids feeding on the puffadder shyshark, *Haploblepharus edwardsii* (Voight). *Journal of Fish Diseases*, v. 30, n. 1, p. 55-58.

HIROSE E, YAMASHIRO H & MORI Y. 2001. Properties of tunic acid in the ascidian *Phallusia nigra* (Asciidiidae, Phlebobranchia). *Zoological Science*.

- HIROSE E. & MARUYAMA T. 2004. What are the benefits in the ascidian-*Prochloron* symbiosis? *Endocytobiosis Cell Research* 15: 51–62.
- HOBBS NV, LAZO-WASEM E, FAASSE M, CORDELL JR, CHAPMAN JW, SMITH CS, ... & CARLTON JT. 2015. Going global: the introduction of the Asian isopod *Ianiropsis serricaudis* Gurjanova (Crustacea: Peracarida) to North America and Europe. *Aquatic Invasions*, 10(2).
- IGNACIO BL, JULIO LM, JUNQUEIRA AOR & FERREIRA-SILVA MAG. 2010. Bioinvasion in a Brazilian Bay: filling gaps in the knowledge of Southwestern Atlantic biota. *Plos One* 5: e13065
- JOHANSSON R & NEVES EG. 2012. Siphonostomatoid copepods (Crustacea) associated with marine invertebrates and algae in Brazil: a review and future considerations. *Zoosymposia*, 8(1), 69-80.
- JØRGENSEN CB. 1955. Quantitative aspects of filter feeding in invertebrates. *Biological Reviews*, 30(4), 391-453.
- JUNG TW, YI CH & YOON SM. 2016. A new species of the genus *Polycheria* (Peracarida, Amphipoda, Dexaminidae) from South Korea. *Crustaceana*, 89(5), 625-638.
- KARTHIKEYAN MM, ANANTHAN G & ALI AJ. 2009. Food and feeding habits of *Herdmania pallida* (Heller)(Urochordata: Ascidiacea) from Palk Strait, Southeast of India. *World*, 1(3), 225-229.
- KIM IH, CRUZ-RIVERA E, EL-SAHHAR S & SHERIF MED. 2016. Cyclopoid copepods (Ascidicolidae, Notodelphyidae) associated with *Phallusia nigra* Savigny, 1816 (Ascidiacea) in the Red Sea: a new ascidicolid and first descriptions of the males from two notodelphyids. *Journal of Crustacean Biology*, v. 36, n. 4, p. 553–566.
- KIM IH & BOXSHALL GA. 2020. A revision of the family Archinotodelphyidae Lang, 1949 (Copepoda: Cyclopoida: Oithonida), with the recognition of 15 new species. *Zootaxa*, 4801(1), zootaxa-4801.

LAMBERT, G.; LAMBERT, C. C.; WAALAND, J. R. 1996. Algal symbionts in the tunics of six New Zealand ascidians (Chordata, Ascidiacea). *Invertebrate Biology*, v. 115, n. 1, p. 67.

LAMBERT G. 2005. Ecology and natural history of the protochordates. *Can. J. Zool.* 83:34-50. <http://dx.doi.org/10.1139/z04-156>

LIU M, TANHUA T. 2021. Water masses in the Atlantic Ocean: characteristics and distributions. *Ocean Science*, v. 17, n. 2, p. 463–486.

LÓPEZ E, BRITAYEV TA, MARTIN D & SAN MARTÍN G. 2001. New symbiotic associations involving Syllidae (Annelida: Polychaeta), with taxonomic and biological remarks on *Pionosyllis magnifica* and *Syllis* cf. *armillaris*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81(3), 399-409.

LÓPEZ-GONZÁLEZ PJ, MEGINA C & CONRADI M. 1999. *Ascidiioxynus ibericus* n. sp. (Copepoda: Poecilostomatoida: Lichomolgidae), associated with the ascidian *Clavelina dellavallei* from the Strait of Gibraltar. *Hydrobiologia*, 400, 205-210.

LÜTZEN J. 1968. *Styelicola bahusia* ng, n. sp. (family Ascidicolidae), a commensal copepod from *Styela atlantica* and *S. gelatinosa* from the Skagerrak. *Crustaceana. Supplement*, 96-102.

MARINEBIO CONSERVATION SOCIETY. 2016 “Symbionts, Parasites, Hosts, and Cooperation - *MarineBio.org*”. Web. Accessed 15:06 PM 5/4/2016. <<http://marinebio.org/oceans/symbionts-parasites/>>.

MARINS FO, NOVAES RLM, ROCHA RM, JUNQUEIRA AOR. 2010. Non indigenous ascidians in port and natural environments in a tropical Brazilian bay. *Zoologia* 27: 213-221.

MARTIN D, NYGREN A & CRUZ-RIVERA E. 2017. *Proceraea exoryxae* sp. nov. (Annelida, Syllidae, Autolytinae), the first known polychaete miner tunneling into the tunic of an ascidian. *PeerJ*, v. 5, p. e3374.

MATOS A & ANTUNES A. 2021. Symbiotic associations in ascidians: relevance for functional innovation and bioactive potential. *Marine Drugs*, v. 19, n. 7, p. 370.

- MAYZEL, B; HABER, M; ILAN, M. 2014. Chemical defense against fouling in the solitary ascidian *Phallusia nigra*. *The Biological Bulletin*, v. 227, n. 3, p. 232-241.
- MIGOTTO AE. 2000. Avaliação do estado de conhecimento da diversidade de invertebrados marinhos no Brasil. *Avaliação do estado de conhecimento da diversidade biológica do Brasil*. Ministério do Meio Ambiente. 75pp.
- MONNIOT C, MONNIOT F & LABOUTE P. 1991. Coral reef ascidians of New Caledonia. *Paris: Editions de l'Orstom*, 247 p.
- MORENO TR & ROCHA RM. 2006. Associated Fauna with *Eudistoma Carolinense* (Tunicata, Ascidiacea) Compared with other Biological Substrates with Different Architectures. *Journal of Coastal Research*, SI 39 (Proceedings of the 8th International Coastal Symposium), 1695 - 1699. Itajaí, SC, Brazil, ISSN 0749-0208.
- MORENO TR, DE FARIA SB & ROCHA RM. 2014. Biogeography of Atlantic and Mediterranean ascidians. *Marine Biology*, 161(9), 2023-2033.
- NACHEV M & SURES B. 2016. Environmental parasitology: Parasites as accumulation bioindicators in the marine environment. *Journal of Sea Research*, 113, 45-50.
- NOGUEIRA JMDM & FUKUDA MV. 2008. A new species of *Trypanosyllis* (Polychaeta: Syllidae) from Brazil, with a redescription of Brazilian material of *Trypanosyllis zebra*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88(5), 913-924.
- ODATE S & PAWLIK JR. 2007. The role of vanadium in the chemical defense of the solitary tunicate, *Phallusia nigra*. *Journal of chemical ecology*, 33(3), 643-654.
- OOISHI S. 2014. *Botryllophilus symmetricus*, new species (Copepoda: Cyclopoida: Ascidicolidae), living in a compound ascidian (*Synoicum*) from Madagascar. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 127(2), 340-352.

- OLIVEIRA F, ALMEIDA C & GONÇALVES JMS. 2009. *Ascidonia flavomaculata* (Heller, 1864), a new record for the Portuguese marine invertebrate fauna (Decapoda, Pontoniidae). *Crustaceana*, v. 82, n. 1, p. 63–67.
- PAIVA SV, OLIVEIRA FILHO RR, LOTUFO TMC. 2015. Ascidians from Rocas Atoll northeast Brazil. *Frontiers in Marine Science*, v.2, 39.
- PALOMINO-ALVAREZ LA, ROCHA RM & SIMÕES N. 2019. Checklist of ascidians (Chordata, Tunicata) from the southern Gulf of Mexico. *ZooKeys*, 832, 1.
- PEREIRA AN, PANTOJA C, LUQUE JL & TIMI JT. 2014. Parasites of *Urophycis brasiliensis* (Gadiformes: Phycidae) as indicators of marine ecoregions in coastal areas of the South American Atlantic. *Parasitology research*, 113(11), 4281-4292.
- RAMOS EK da S, ROSA AHB & COBO VJ. 2015. Influence of the endo-symbiont *Leucothoe wuriti* (Thomas & Klebba, 2007) (Crustacea, Leucothoidae) on the biomass of *Phallusia nigra* (Savigny, 1816) (Tunicata, Ascidiidae), in the northeastern coast of the São Paulo State, Brazil. *Revista Biociências*, v. 21, n. 2, p. 38–43.
- RIBEIRO SM, OMENA EP & MURICY G. 2003. Macrofauna associated to *Mycale microsigmatosa* (Porifera, Demospongiae) in Rio de Janeiro State, SE Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57(5-6), 951-959.
- ROCHA RMD, DIAS GM & LOTUFO TMDC. 2011. Checklist das ascídias (Tunicata, Ascidiacea) do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, 11, 749-759.
- RUMBOLD CE, BARLETT TR, GAVIO MA & OBENAT SM. 2016. Population dynamics of two invasive amphipods in the Southwestern Atlantic: *Monocorophium acherusicum* and *Erichthonius punctatus* (Crustacea). *Marine Biology Research*, v. 12, n. 3, p. 268–277.
- SANTOS CZ & SCHIAVETTI A. 2014. Spatial analysis of Protected Areas of the coastal/marine environment of Brazil. *Journal for nature conservation*, 22(5), 453-461.

SEATEMPERATURE. 2020. Atlantic Ocean Temperature. Disponível em: <<https://www.seatemperature.org/atlantic-ocean>> Acessado em: 22/03/2020.

SENNA AR, ANDRADE LF, RAMOS BS & SKINNER LF. 2021. A new ascidian-dwelling species of *Leucothoe* Leach, 1814 (Amphipoda: Leucothoidae) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro state, Brazil. *Journal of Natural History*, 55(21-22), 1441-1460.

SEPÚLVEDA RD, CANCINO JM & THIEL M. 2003. The peracarid epifauna associated with the ascidian *Pyura chilensis* (Molina, 1782) (Ascidiacea: Pyuridae). *Journal of Natural History*, v. 37, n. 13, p. 1555–1569.

SEPÚLVEDA RD, ROZBACZYLO N, IBÁÑEZ CM, FLORES M & CANCINO JM. 2015. Ascidian-associated polychaetes: ecological implications of aggregation size and tube-building chaetopterids on assemblage structure in the Southeastern Pacific Ocean. *Marine Biodiversity*, 45(4), 733-741.

SHENKAR N & LOYA Y. 2008. The solitary ascidian *Herdmania momus*: native (Red Sea) versus non-indigenous (Mediterranean) populations. *Biological Invasions* 10 (8): 1431–39. doi:10.1007/s10530-008-9217-2.

SHENKAR N & SWALLA BJ. 2011. Global diversity of Ascidiacea. *Plos one*, 6(6), e20657.

SILVA PCA. 2021. Riqueza, distribuição geográfica e categorização de status das espécies de Ascidiacea no atlântico sudoeste – estado do Rio de Janeiro. 65f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Faculdade de Formação de Professores, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, São Gonçalo, 2021.

SKINNER LF, OLIVEIRA GCM, BARBOZA DF, TENÓRIO AA & SOARES DC. 2013. First record of the Ascidiacea *Rhodosoma turcicum* in the south-west Atlantic Ocean. *Marine Biodiversity Records*, 6, e37.

SKINNER LF, BARBOZA DF & ROCHA RM. 2016. Rapid Assessment Survey of introduced ascidians in a region with many marinas in the southwest Atlantic Ocean, Brazil. *Management of Biological Invasions* (7): 13-20.

SKINNER LF, RIZZO AE, de GUSMÃO PEDRINI A, RAMOS AB, ESTEVES EL & HAJDU GL. 2016. Biodiversidade da Baía da Ilha Grande: Integrando Pesquisa e Divulgação Científica.

SKINNER LF. 2018. Sea surface temperature measured since 2012 for Ponta Leste, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brazil. DOI:10.13140/RG.2.2.19686.27205. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/327118113_Sea_surface_Temperature_measured_since_2012_for_Ponta_leste_Angra_dos_Reis_Rio_de_Janeiro_Brazil. Acesso em 20/03/2020

SPALDING MD, FOX HE, ALLEN GR, DAVIDSON N, FERDAÑA ZA, FINLAYSON M, HALPERN BS, JORGE MA, LOMBANA A, LOURIE SA, MARTIN KD, MCMANUS E, MOLNAR J, RECCHIA CA, ROBERTSON J. 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience* 57(7): 573-583

STOECKER D. 1980. Chemical defenses of ascidians against predators. *Ecology*, v. 61, n. 6, p. 1327–1334.

TCHESUNOV, A. V.; IVANENKO, V. N. 2021. What is the difference between marine and limnetic-terrestrial associations of nematodes with invertebrates? *Integrative Zoology*, v. 17, n. 4, p. 481–510, 3 nov.

THIEL M. 1999. Host-use and population demographics of the ascidian-dwelling amphipod *Leucothoe spinicarpa*: indication for extended parental care and advanced social behaviour. *Journal of Natural History*, v. 33, n. 2, p. 193–206

THIEL M. 2000. Population and reproductive biology of two sibling Amphipod species from ascidians and sponges. *Marine Biology* 137 (4): 661–74. doi:10.1007/s002270000372.

THOMAS JD & KLEBBA KN. 2007. New species and host associations of commensal leucothoid amphipods from coral reefs in Florida and Belize (Crustacea:Amphipoda). *Zootaxa*, 1494, 1.

THOMAS JD. 2015. *Leucothoe eltoni* sp. n., a new species of commensal leucothoid amphipod from coral reefs in Raja Ampat, Indonesia (Crustacea, Amphipoda). *ZooKeys*, n. 518, p. 51–66.

- VALENTIN JL, ANDRÉ DL, JACOB SA. 1987. Hydrobiology in the Cabo Frio (Brazil) upwelling: two dimensional structure and variability during a wind cycle. *Continental Shelf Res.*
- VANDEPAS LE, OLIVEIRA LM, LEE SSC, HIROSE E, ROCHA RM, SWALLA BJ. 2015. Biogeography of *Phallusia nigra*: Is It Really Black and White? *Biological Bulletin.*
- VAN DER HEIJDEN K, PETERSEN JM, DUBILIER N & BOROWSKI C. 2012. Genetic connectivity between north and south Mid-Atlantic Ridge chemosynthetic bivalves and their symbionts. *PLoS One*, 7(7), e39994.
- VOULTSIADOU E, PYROUNAKI MM & CHINTIROGLOU C. 2007. The habitat engineering tunicate *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 and its associated peracarid epifauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 74, n. 1-2, p. 197–204.
- WETZER, R. 1990. A new species of isopod, *Aega* (Rhamphion) *francoisae* (Flabellifera: Aegidae), from the cloaca of an ascidian from the Galapagos Islands. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 103(3): 655–662.

APÊNDICE A – Coletas de *Phallusia nigra* realizadas no litoral do Brasil

Coletas do litoral do Brasil				
Coordenadas		Ponto de Coleta	Estado	<i>Phallusia nigra</i>
LAT	LON			
-9.6818470	-35.725011	Porto de Maceió	AL	X
-9.7701820	-35.836346	Praia do Francês	AL	X
-12.928470	-38.519746	Humaitá	BA	X
-13.003791	-38.534177	Porto da Barra	BA	X
-17.983330	-38.667780	Arquipélago de Abrolhos	BA	X
-16.417406	-38.982963	Ponta Norte	BA	
-16.414755	-38.984341	Parque Marinho do Recife de Fora	BA	
-16.495696	-39.068894	Praia do Mucugê	BA	
-20.331513	-40.271626	Praia da Sereia	ES	
-20.333828	-40.274152	Praia da Costa	ES	
-20.364801	-40.281751	Ilha de Itatiaia	ES	
-20.301893	-40.285978	Ilha do Boi	ES	
-20.302908	-40.288047	Ponte do Frade	ES	
-20.700521	-40.411136	Ilha do Farol	ES	
-20.653456	-40.471113	Praia da Cerca	ES	
-22.739006	-41.874210	Praia João Femandinho	RJ	X
-22.761601	-41.875158	Praia do Forno	RJ	
-22.746536	-41.881845	Praia dos Ossos	RJ	X
-22.769421	-41.886951	Praia da Ferradura	RJ	
-22.756568	-41.905315	Praia da Tartaruga	RJ	
-22.856867	-41.907950	Ilha dos Pargos	RJ	X
-22.867627	-41.981071	Praia das Conchas	RJ	
-22.861966	-41.984946	Praia do Peró	RJ	
-22.883730	-42.009699	Praia do Forte	RJ	
-22.988860	-42.012459	Pontal do Atalaia	RJ	
-22.964850	-42.013873	Praia do Forno	RJ	X
-22.978338	-42.018517	Praia dos Anjos	RJ	X
-22.960579	-42.020582	Prainha	RJ	X
-22.945938	-42.031792	Praia do Pontal	RJ	
-22.962387	-44.024753	Praia de Ibicui	RJ	X
-23.053535	-44.244231	Ponta Leste	RJ	X
-23.011526	-44.443788	Piraquara de Fora	RJ	X
-23.026119	-44.501053	Praia Vermelha	RJ	X
-23.352798	-44.722091	Praia dos Ranchos	SP	
-23.377921	-44.838359	Praia de Picinguaba	SP	X
-23.531457	-45.162450	Praia da Fortaleza	SP	X
-23.556879	-45.219782	Praia do Pulso	SP	
-23.828331	-45.436386	Praia de Barequeçaba	SP	
-23.819587	-45.468277	Praia de Guaeca	SP	
-23.834299	-45.511203	Toque-Grande	SP	

Legenda: x = onde *P. nigra* foi encontrada durante nossas coletas.

Fonte: A autora, 2023.

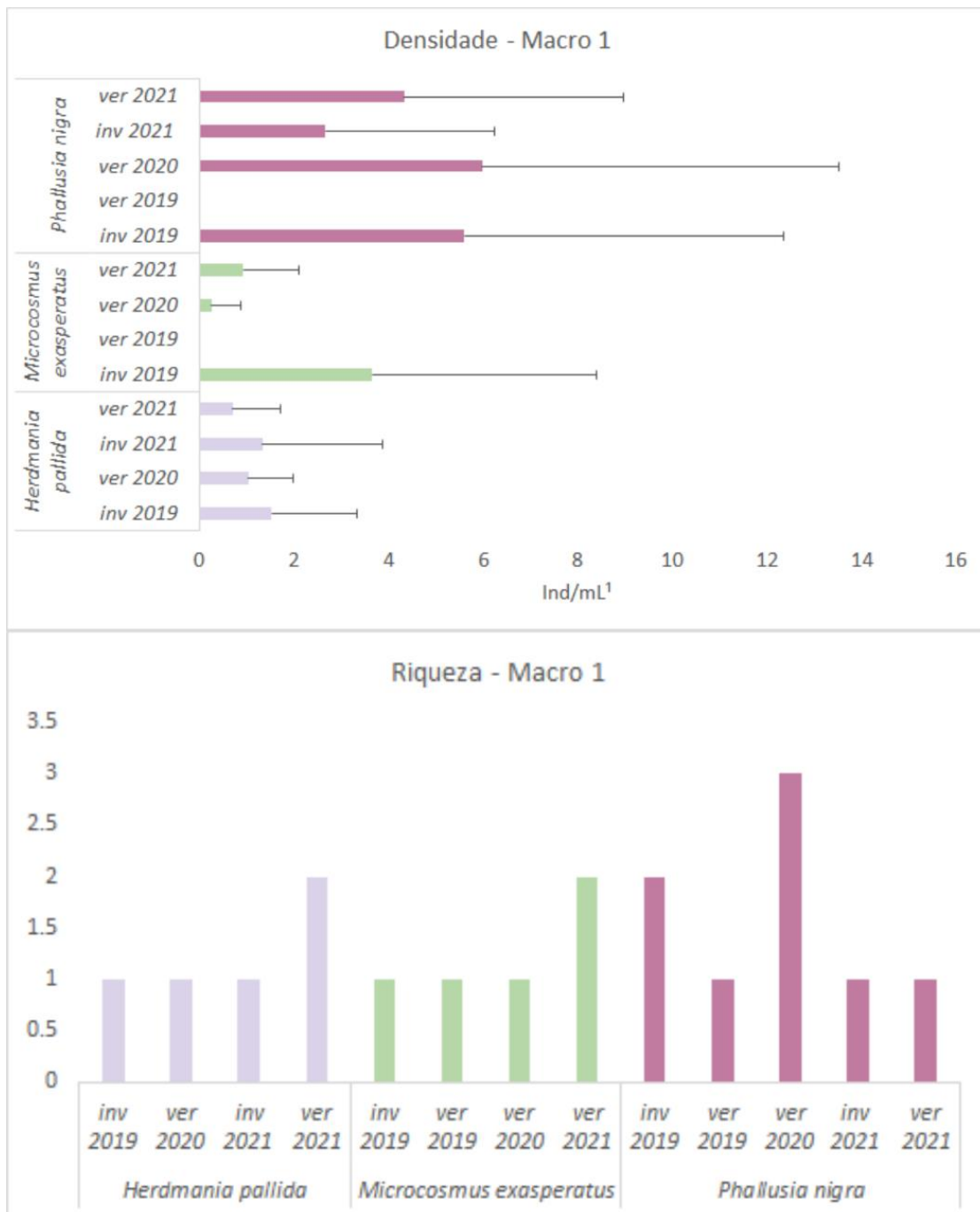
APÊNDICE B – Abundância total e distribuição dos simbiosites encontrados nas cavidades corporais de *Phallusia nigra* nos pontos de amostragem do Litoral do Brasil

Localidades (N)		Simbiosites												Total de simbiosites		
Domínio		Leucothoe sp. CIT	Leucothoe sp. CF	Leucothoe sp. CA	ErCIThoniussp. CIT	ErCIThoniussp. CF	ErCIThoniussp. CA	Podocerus sp. CF	Polychaeta não id. CF	Polychaeta não id. CA	Chaetozone sp. CF	Pseudobranchiomma sp. CF	Copepoda não id. CF		TanaidCAea não id. CIT	TanaidCAea não id. CF
Tropical	Porto de Maceió (12)	0	2	9	1	1	1	0	2	0	0	0	1	0	0	17
	Humaitá (15)	0	27	10	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	39
	Porto da barra (15)	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	7
Transição	Abrolhos (15)	0	25	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	39
	Praia João Fernandinho (15)	8	117	239	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	364
	Praia dos ossos (15)	2	70	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	123
	Ilha dos Pargos (15)	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
	Praia do Forno (15)	0	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
	Prainha (15)	0	48	38	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	87
	Praia dos anjos (15)	0	25	73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	98
Temperado	Praia de Ibicuí (15)	1	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
	Piraquara de Fora (15)	10	184	82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	276
	Praia Vermelha (15)	2	85	148	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	235
	Ponta Leste (15)	1	14	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
	Picinguaba (15)	0	12	18	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	31
	Praia da Fortaleza (15)	1	12	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23

Legenda: CIT = Cavidade Interna da Túnica; CF = Cavidade Faríngea; CA = Cavidade Atrial. Nota: Número entre parênteses indica o tamanho amostral da localidade.

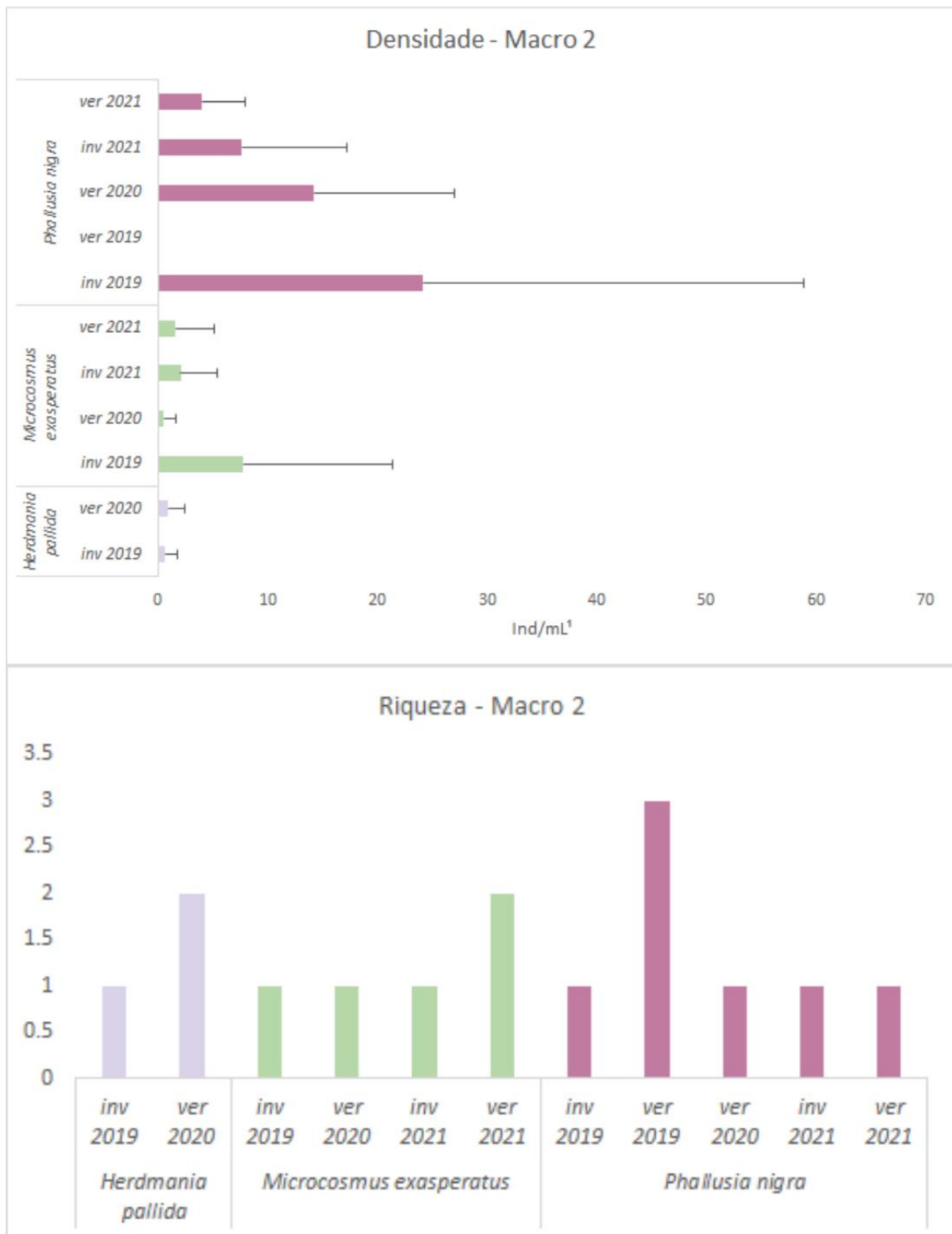
Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE C – Densidade média e riqueza de simbiontes das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na Macro enseada 1 (Aventureiro/Parnaioaca)



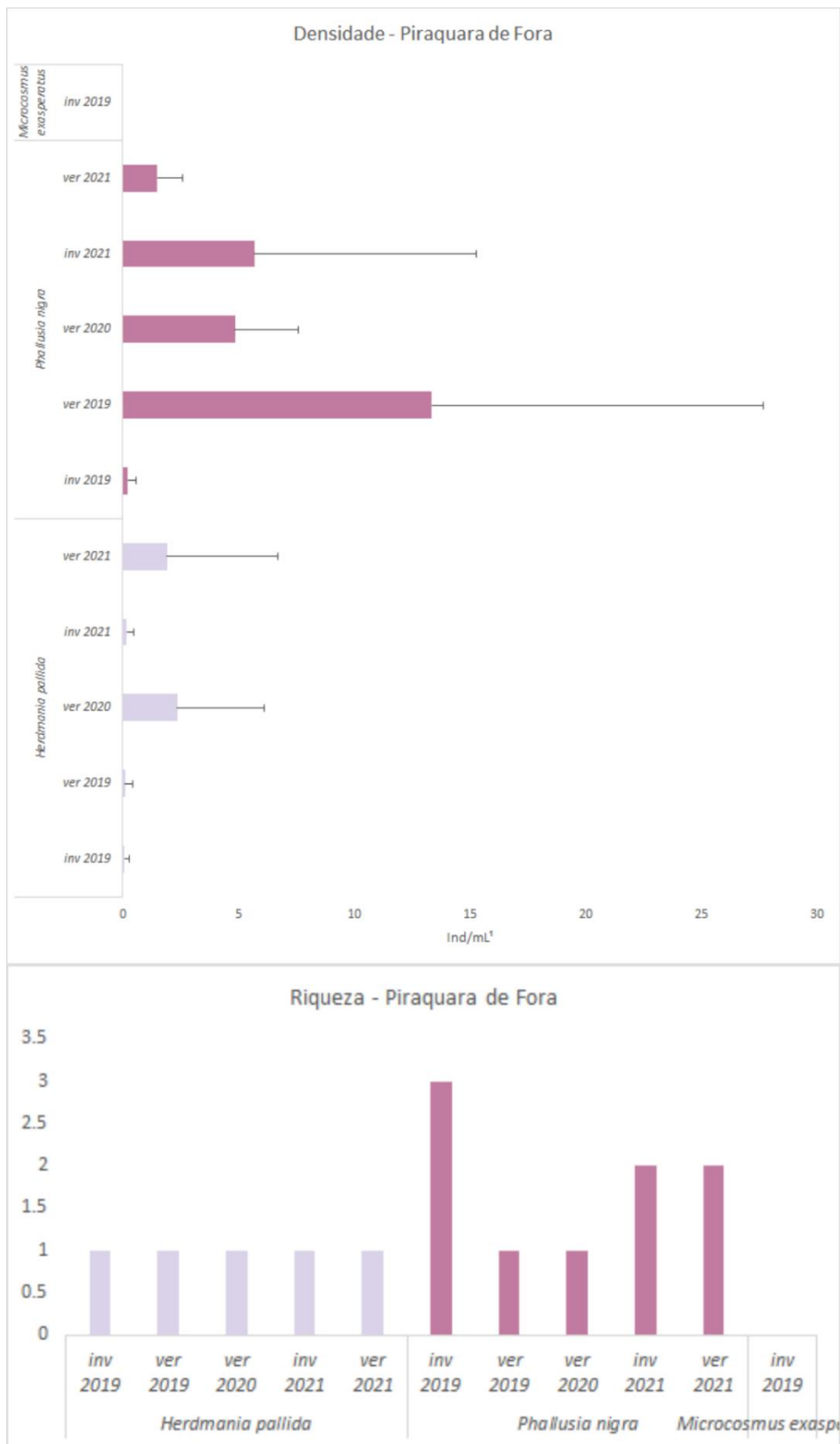
Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE D – Densidade média e riqueza de simbiontes das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na Macro enseada 2 (Dois Rios/Lopes Mendes)



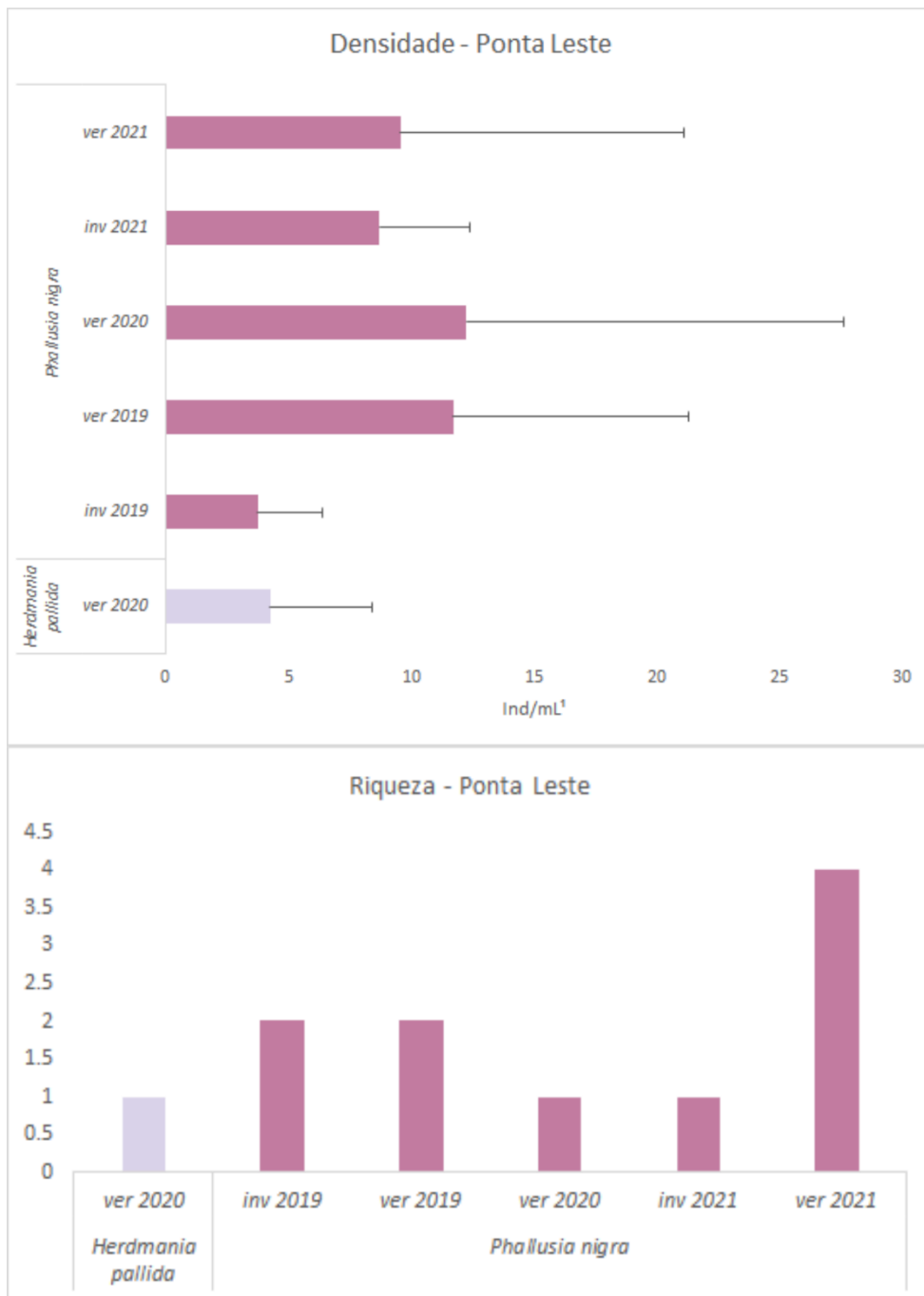
Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE E – Densidade média e riqueza de simbiossomas das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas em Piraquara de Fora



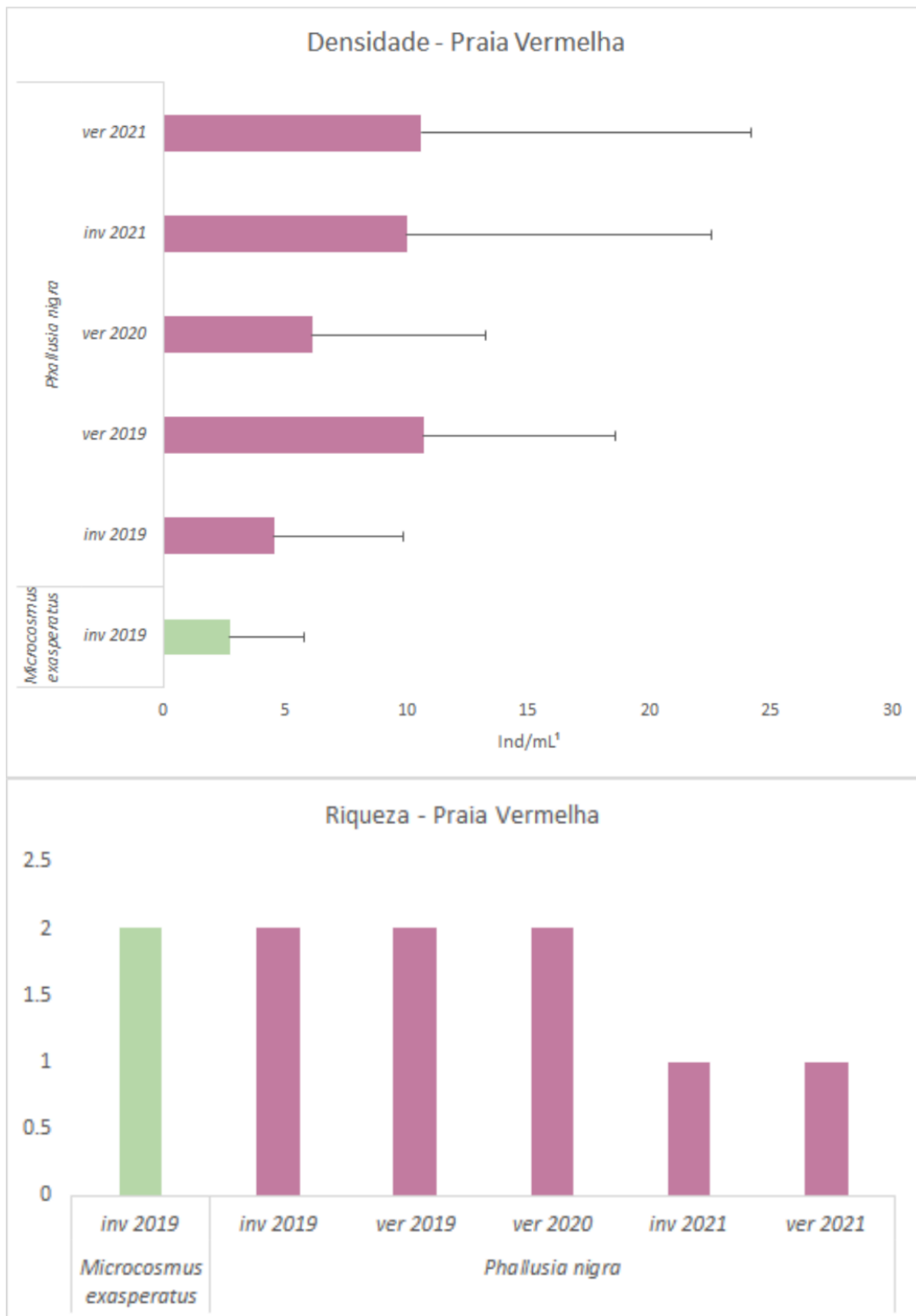
Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE F – Densidade média e riqueza de simbiontes das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas em Ponta Leste



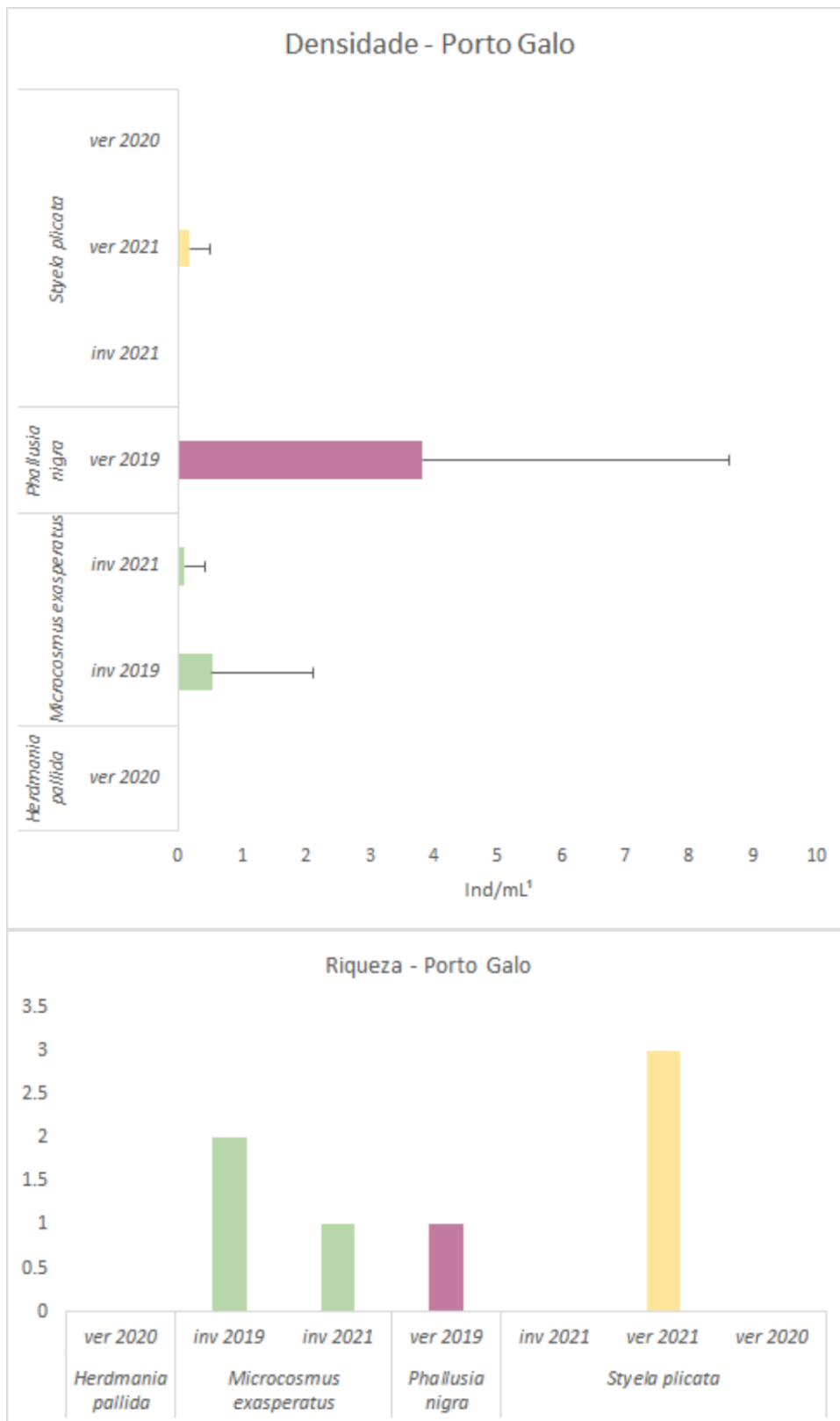
Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE G – Densidade média e riqueza de simbiontes das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na Praia Vermelha



Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE H – Densidade média e riqueza de simbiontes das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na marina Portogalo



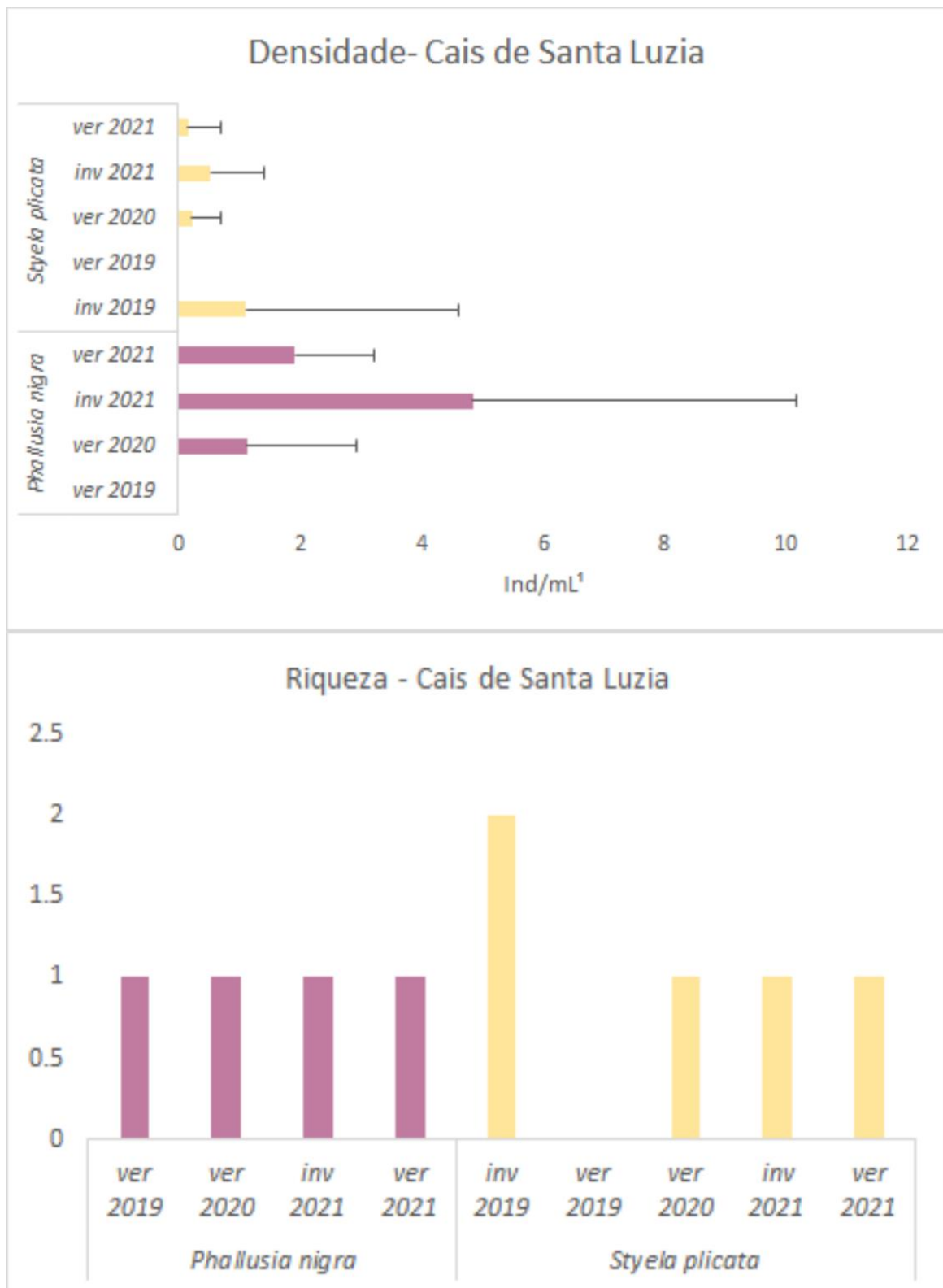
Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE I – Densidade média e riqueza de simbiosites das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas na marina Bracuhy



Fonte: A autora, 2023.

APÊNDICE J – Densidade média e riqueza de simbioss das espécies de ascídias solitárias durante as campanhas no Cais de Santa Luzia



Fonte: A autora, 2023.

ANEXO A – Artigo “A new ascidian-dwelling species of *Leucothoe* Leach, 1814 (Amphipoda: Leucothoidae) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro state, Brazil” publicado na revista Journal of Natural History (Senna, Andrade, Ramos & Skinner, 2021)

JOURNAL OF NATURAL HISTORY
2021, VOL. 55, NOS. 21–22, 1441–1460
<https://doi.org/10.1080/00222933.2021.1948128>



A new ascidian-dwelling species of *Leucothoe* Leach, 1814 (Amphipoda: Leucothoidae) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro state, Brazil

André R. Senna ^a, Luiz F. Andrade ^b, Brenda S. Ramos ^{a,c} and Luis F. Skinner ^{a,c}

^aFaculdade de Formação de Professores, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, São Gonçalo, Brazil;
^bMuseu de Oceanografia Prof. Petrônio Alves Coelho, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil;
^cPrograma de Pós Graduação em Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

ABSTRACT

The Ilha Grande Bay is considered an area of extreme biological importance for the conservation of Brazilian biodiversity. While monitoring the macroinvertebrate ascidian-dwellers around Ilha Grande Bay, an undescribed commensal species of the amphipod family Leucothoidae was discovered. In this paper, we describe the new species of *Leucothoe*, associated with the ascidiacean *Phallusia nigra*.

<http://www.zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:5F1F321C-D4B7-4C2D-A91B-AFB18E54C5E0>

ARTICLE HISTORY

Received 10 April 2020
Accepted 17 June 2021

KEYWORDS

Taxonomy; biodiversity;
Ponta Leste; Crustacea;
association; *Phallusia nigra*

Introduction

Ascidians host several invertebrates on the tunic, in the branchial sac or in other cavities and spaces inside the body (Dalby 1996). Both solitary and colonial ascidians are colonised by these symbionts (Kim and Moon 2011; Hirose et al. 2012; Levitt-Barmats and Shenkar 2018).

The most frequent invertebrate groups that colonise ascidians are Bivalvia (Cañete and Rocha 2013), Polychaeta (Martin et al. 2017) and Crustacea, in descending order. Regarding the Crustacea, some groups emerge as the most conspicuous: Decapoda (Fransen 2006; Gier and Fransen 2018), Copepoda (Scott 1907; Johnsson et al. 2016; Kim et al. 2016), Isopoda (Sepulveda et al. 2003), Tanaidacea (Sepulveda et al. 2003; Voultziadou et al. 2007), and Amphipoda (Bahrndorff and Lofstedt 2004; Voultziadou et al. 2007). Among the crustaceans, leucothoid amphipods are commonly recorded associated with Porifera, Mollusca, and Ascidiacea species (Thomas and Klebba 2007).

The ascidiacean *Phallusia nigra* Savigny, 1816 is a solitary species previously considered as widely distributed in shallow tropical waters. Nóbrega et al. (2004) reported the extreme genetic homogeneity between American Atlantic populations and Vandepas et al. (2015), considered the species as introduced in Singapore and the west Atlantic with the Red Sea reported as the type locality. This species colonises both natural and artificial substrates, with its main characters being the black and smooth tunic, usually

CONTACT André R. Senna senna.carcinologia@gmail.com

© 2021 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

without any fouling organism on it. On the Brazilian coast, *P. nigra* is found along the tropical and warm temperate regions (Spalding et al. 2007) from Ceará state to Santa Catarina state with a length up to 10 cm (Rocha et al. 1999; Aued et al. 2018).

The Leucothoidae Dana, 1852 are an amphipod family found in all the world's oceans, typically occurring inside of sessile invertebrate hosts, such as sponges, ascidians, and bivalve molluscs, and are often incidentally collected from coral rubble samples (White 2011a; White and Krapp-Schickel 2017). The family comprises five genera: *Anamixis* Stebbing, 1897; *Leucothoe* Leach, 1814; *Neapanamixis* Thomas, 1997; *Paraleucothoe* Stebbing, 1899; and *Paranamixis* Schellenberg, 1938 (Horton et al. 2021 onwards). *Leucothoe* is a cosmopolitan genus, exclusively marine, and bathymetrically distributed from the intertidal zone to 3,570 m depth, with most species known from the South Pacific (White 2011b). The genus consists of 151 species worldwide (Horton et al. 2021 onwards), nine of which are currently known from Brazilian waters (Serejo and Siqueira 2018; Alves et al. 2020).

The Ilha Grande Bay is considered an area of extreme biological importance for the conservation of Brazilian biodiversity (MMA 2002), with many marine species already described or recorded. However, some groups remain poorly known, like ascidians and sponges, despite advances in recent years (Skinner et al. 2016; Huguenin et al. 2018). The knowledge on Crustacea from the bay is scarce, especially when it comes to the order Amphipoda. Serejo et al. (2007) listed 20 species of Amphipoda representing 16 genera and 12 families from 42 stations around the Ilha Grande Bay. However, this study included only unconsolidated substrate, not inventorying crustaceans in algae, sponges, ascidians and other biological substrates.

Here we describe a new species of *Leucothoe*, associated with the ascidian *P. nigra*, from Ilha Grande Bay, on the southeastern Brazilian coast.

Material and methods

Ilha Grande Bay, located in the southwest of the Rio de Janeiro state (22°50' – 23°20' S, 44°00' – 44°45' W), has an area of about 65,258 ha and 350 km of perimeter. Marine waters are characterised as oligotrophic, with temperatures ranging from 18°C to 30°C (Creed et al. 2007), but recent monitoring in the region have indicated surface temperature ranging from 15°C to 33°C (Skinner 2018a, 2018b).

Phallusia nigra samples were collected from Ponta Leste (23°03'10.5"S, 44°14'37.6"W), inside the Ilha Grande Bay, from the intertidal to 6 m deep, using free diving (Figure 1). Ten specimens were collected and kept individually inside plastic bags containing seawater until narcotisation using magnesium chloride or menthol up to the complete relax of syphons of the animal. Once relaxed, animals were then fixed in 10% saline formalin solution. In the lab, individuals of *P. nigra* were dissected to expose the internal cavities of the body. All amphipod specimens found in the internal cavities were collected and fixed in 70% ethanol. All of the examined material is housed at the Crustacea Collections of *Universidade do Estado do Rio de Janeiro* (UERJ) and *Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo* (MZUSP).

For the taxonomic study, the mouthparts and appendages were dissected and mounted in glycerine jelly slides. The drawings were made under a Motic BA-310 optical microscope with camera lucida, and digitalised in CorelDRAW 2018. The setal/spine classification adopted in this paper follows Garm and Watling (2013) and the nomenclature of gnathopod palms is based on Poore and Lowry (1997).




Figure 1. Collection site of *Leucothoe angraensis* sp. nov.: (a) Rocky shore of Ponta Leste, Angra dos Reis, Rio de Janeiro state, Brazil; (b) Two specimens *in situ* of *Phallusia nigra*.

Results

Order **Amphipoda** Latreille, 1816
Suborder **Amphilocheia** Boeck, 1871
Family **Leucothoidae** Dana, 1852
Genus **Leucothoe** Leach, 1814

Type species

Leucothoe spinicarpa (Abildgaard, 1789)

1444  A. R. SENNA ET AL.

Genus diagnosis

See White and Reimer (2012).

Leucothoe angraensis **sp. nov.**
(Figures 2–7)

Material examined

Holotype: female, 6.1 mm, dissected and drawn, 23°03'10.5"S, 44°14'37.6"W, 0–6 m depth, in *Phallusia nigra*, Ponta Leste, Angra dos Reis municipality, Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro state, Brazil, 21/V/2015, B.S. Ramos and L.F. Skinner col. (UERJ 1350).

Paratypes: 1 male, 7.5 mm, dissected and drawn, same collection data (UERJ 1351); 1 female, 4.1 mm, habitus drawn, same collection data (UERJ 1352); 1 female, 7.4 mm, dissected, same collection data (UERJ 1353); 6 specimens, same collection data (UERJ 1354); 3 specimens, same collection data (MZUSP 41126).

Diagnosis

Ventral cephalic keel, anterior margin produced and round. Mandibular palp, second article with 14 slender setae. Maxilla 2, inner plate, inner margin with 10 slender setae, apical margin with one stout and one slender seta, distolateral region and outer margin setulose; outer plate, apical margin with three stout setae, distal region and outer margin setulose. Female gnathopod 1, coxa with one anteroventral facial seta; dactylus reaching $0.35 \times$ the length of propodus. Male gnathopod 1, coxa without facial setae; dactylus reaching $0.35 \times$ the length of propodus. Female gnathopod 2, basis anterior margin with three medium slender setae, without anterodistal tubercle; carpus apically smooth; propodus with one mediofacial setal row above midline, reaching $0.4 \times$ of propodus length, lateral face without setal row, a submarginal row of slender setae reaching $0.6 \times$ of propodus length, palm convex with two major and two small distal tubercles near

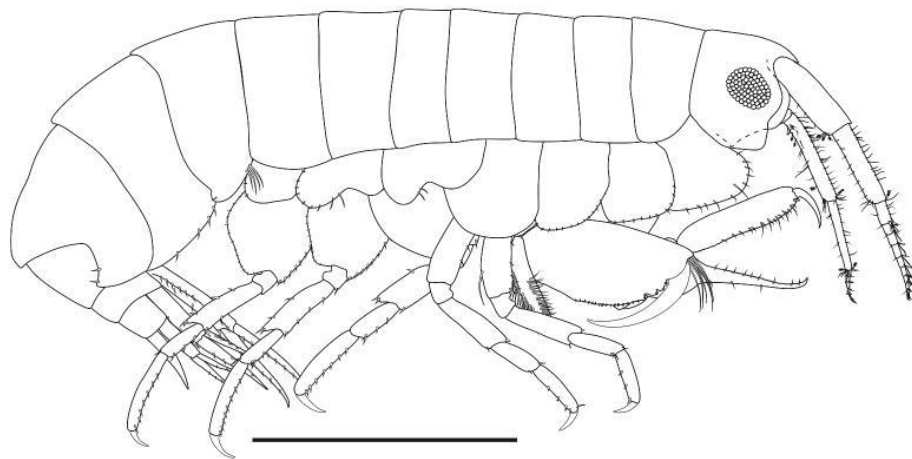


Figure 2. *Leucothoe angraensis* sp. nov. Female paratype (UERJ 1352): Habitus. Scale bar: 1.0 mm.

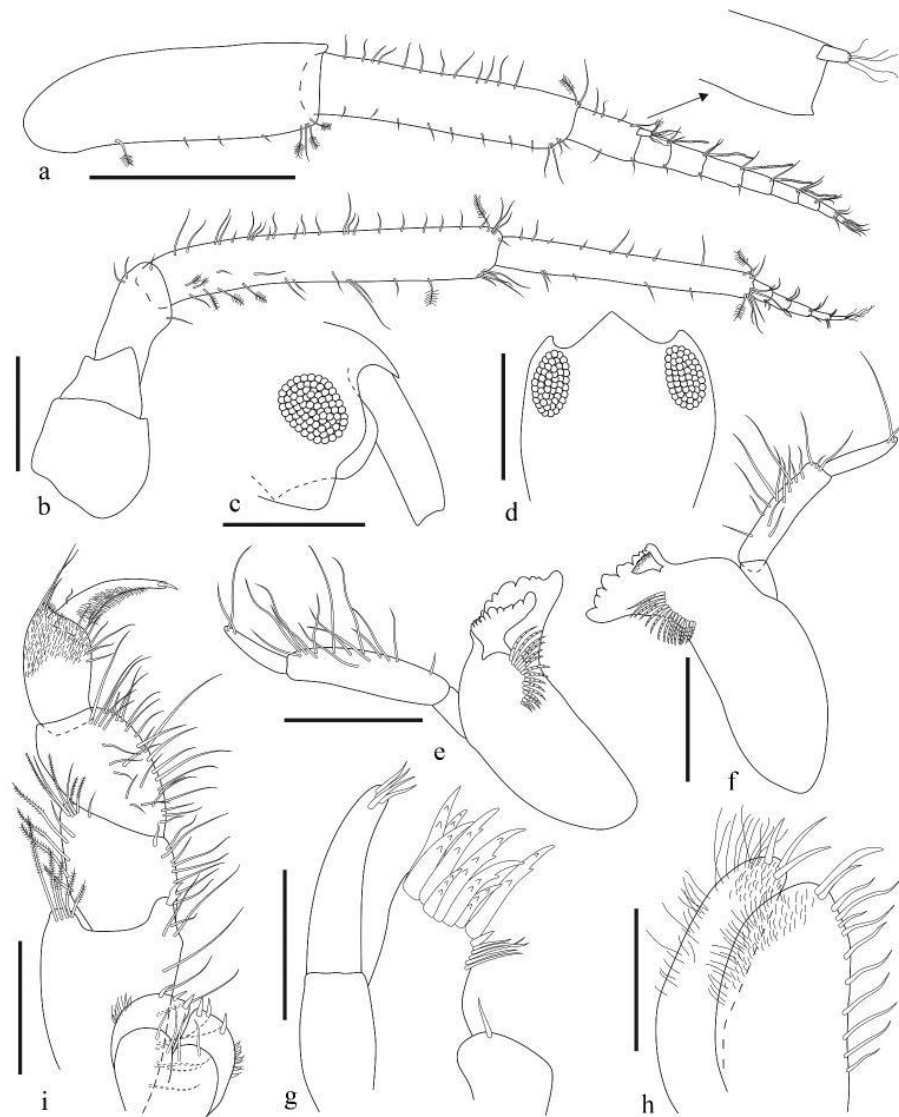


Figure 3. *Leucothoe angraensis* sp. nov. Female holotype (UERJ 1350): (a) Antenna 1; (b) Antenna 2; (c) Head in lateral view; (d) Head in dorsal view; (e) Left mandible; (f) Right mandible; (g) Maxilla 1; (h) Maxilla 2; (i) Maxilliped. Scale bars: 0.5 mm for C–D; 0.4 mm for A; 0.1 for G–H; 0.2 mm for the remaining.

dactylus articulation; dactylus reaching half the length of propodus. Male gnathopod 2, basis anterior margin with 14 small and medium slender setae, bearing an anterodistal tubercle; carpus apically smooth, distally truncate; propodus with one mediofacial setal row above midline, reaching $0.4 \times$ of propodus length, lateral face without setal row, without submarginal row of slender setae, palm convex with one major and two small

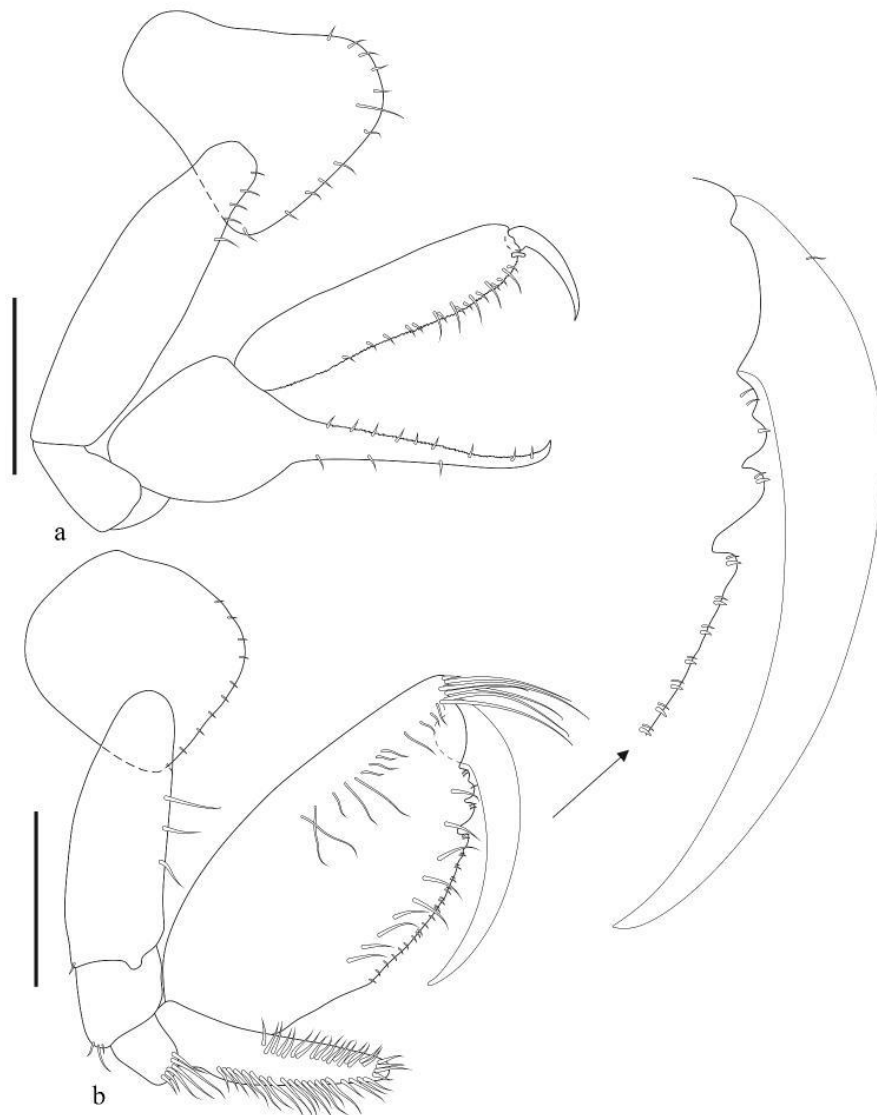


Figure 4. *Leucothoe angraensis* sp. nov. Female holotype (UERJ 1350): (a–b) Gnathopods 1–2, medial view. Scale bars: 0.2 mm for A; 0.5 mm for B.

distal tubercles near dactylus articulation, plus one major tubercle about half the length of the dactylus; dactylus reaching $0.6 \times$ the length of propodus. Epimeral plate 1 with anteroventral row of four slender setae. Epimeral plate 2, posteroventral corner produced and acute. Epimeral plate 3, posterior margin with two distal small stout setae, posteroventral corner weakly produced and subacute. Telson, lateral margin with two proximal small slender setae, apex round, with two subapical small slender setae.

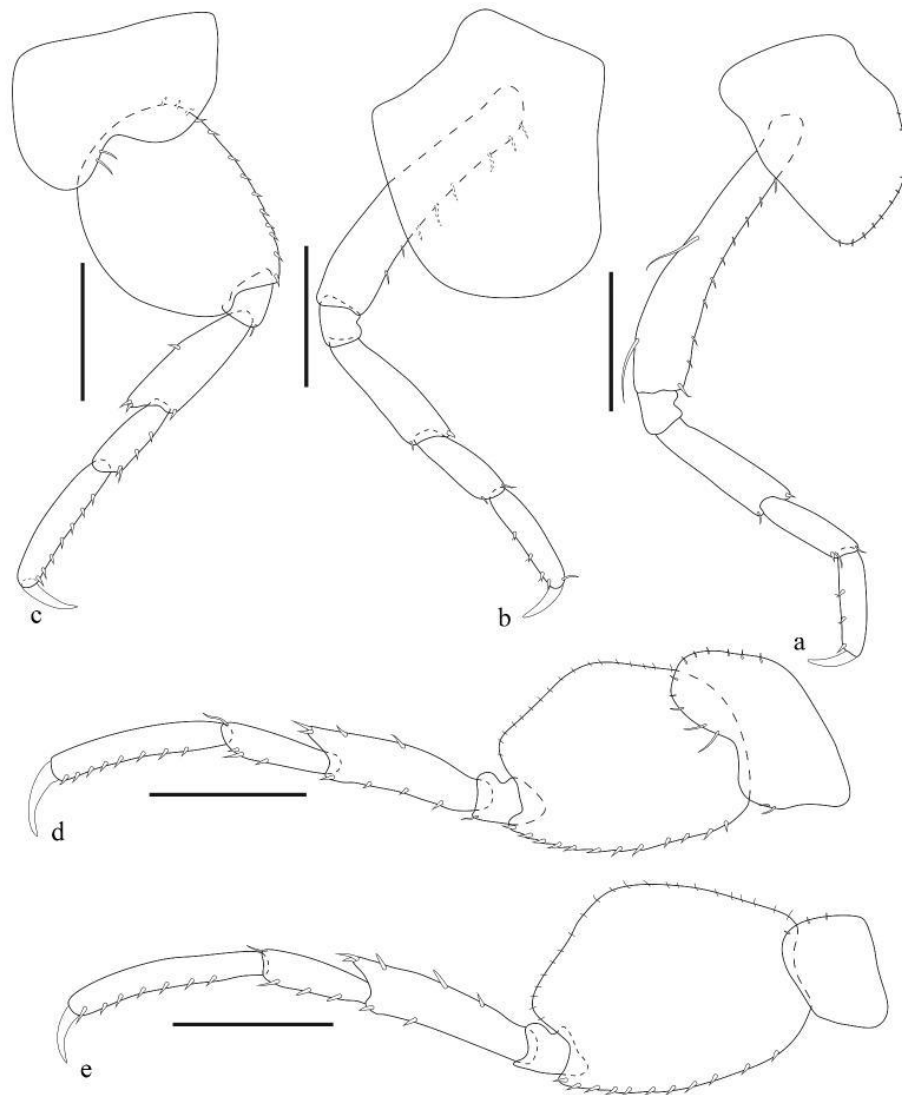


Figure 5. *Leucothoe angraensis* sp. nov. Female holotype (UERJ 1350): (a–e) Pereopods 3–7. Scale bars: 0.5 mm.

Description

Based on female holotype (UERJ 1350). **Body** dorsally smooth and naked. **Head** about as deep as long. **Rostrum** slightly produced downwards, subacute. **Lateral cephalic lobe** rounded. **Ventral cephalic keel**, anterior margin produced and round, anteroventral margin sinuous, ventrally cusped. **Eyes** oval. **Antennae** subequal in length, about

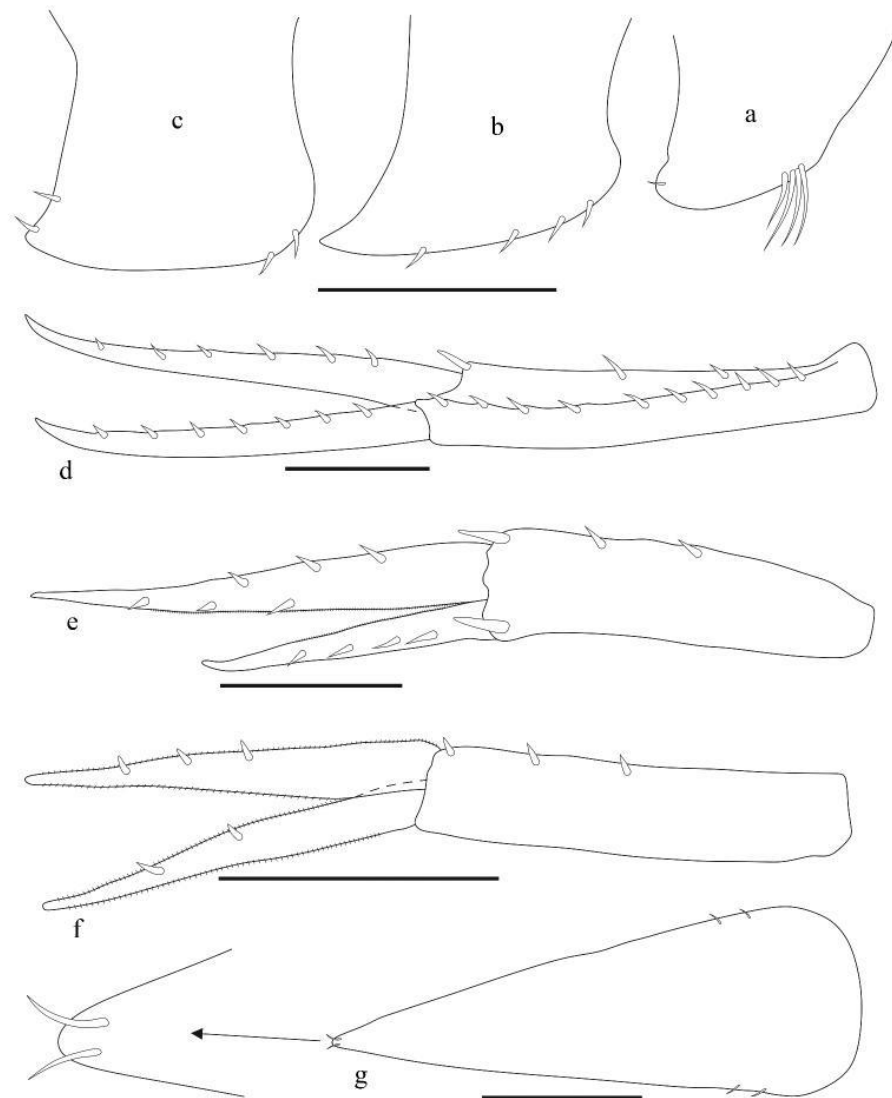


Figure 6. *Leucothoe angraensis* sp. nov. Female holotype (UERJ 1350): (a–c) Epimeral plates 1–3; (D–F) Uropods 1–3; (G) Telson. Scale bars: 0.5 mm for A–C; 0.2 mm for the remaining.

a quarter of habitus length. **Antenna 1**, peduncle, first article $3.3 \times$ longer than wide, dorsal margin naked, ventral margin with one proximal plumose seta, some sparse small slender setae, ventrodistal corner with a tuft of one simple and three plumose slender setae; second article $4.5 \times$ longer than wide, slightly shorter than first article, dorsal and ventral margins moderately setose; third article small, $1.8 \times$ longer than wide, about $0.3 \times$ the length of second article, scarcely setose; flagellum 8-articulate, about $0.4 \times$ the

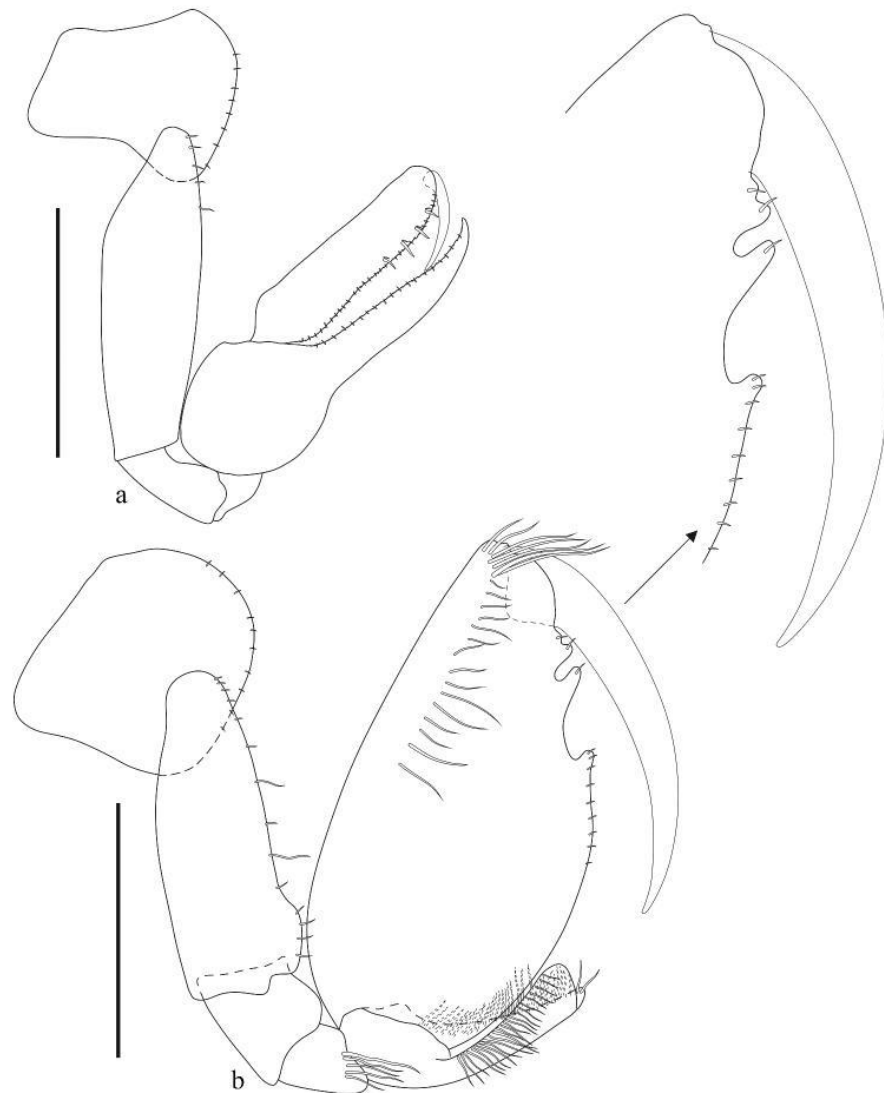


Figure 7. *Leucothoe angraensis* sp. nov. Male paratype (UERJ 1351): (a–b) Gnathopods 1–2, medial view. Scale bars: 0.5 mm.

length of peduncle, articles 1–5 bearing an esthetasc at the distodorsal corner each; accessory flagellum 1-articulate, apically setose. **Antenna 2**, peduncle, first and second articles small, without setae; third article about $0.7 \times$ the length of first and second articles combined; fourth article slender, about $6.5 \times$ longer than wide, dorsal and ventral margins moderately setose, with some sparse plumose slender setae; fifth article slender, about $8.3 \times$ longer than wide, about $0.8 \times$ the length of fourth article, scarcely setose; flagellum

5-articulate, about $0.1 \times$ the length of peduncle. **Mandibles** slightly asymmetric. **Left mandible**, molar absent, accessory setal row with 15 multi-cuspidate curved setae, lacinia mobilis strong, apically multi-cuspidate, incisor multi-cuspidate; palp 3-articulate, first article about $1.7 \times$ longer than wide, naked, second article slightly elongate, about $4 \times$ longer than wide and $3.5 \times$ longer than first article, bearing 14 slender setae, third article, slender, about $0.4 \times$ the length of second article, slightly curved ventrally, with two subapical slender setae. **Right mandible** like the left one, accessory setal row with 16 multi-cuspidate curved setae, lacinia mobilis feeble; peduncle, second article bearing 15 slender setae. **Maxilla 1**, inner plate small, rounded, bearing one apical slender seta; outer plate sub-rectangular, inner margin with five distal slender setae and one small stout seta, apical margin with nine multi-cuspidate stout setae; palp 2-articulate, second article slender, with four apical slender setae. **Maxilla 2**, inner plate about $1.8 \times$ longer than wide and $1.8 \times$ wider than outer plate, inner margin with 10 slender setae, apical margin with one stout and one slender seta, distolateral region and outer margin setulose; outer plate slightly longer than inner plate, apical margin with three stout setae, distal region and outer margin setulose. **Maxilliped**, inner plate distal margin truncate with v-shaped indentation and three small stout setae, outer margin with a row of small slender setae; outer plate, inner margin smooth and setose, reaching $0.4 \times$ the length of palp article 1, bearing an apical bifid stout seta, distolateral corner with a row of five plumose setae; palp 4-articulate, first article about $1.2 \times$ longer than wide, inner margin with simple setae, outer margin with plumose setae, second article slightly longer than first, inner margin convex and setose, third article facially setulose in its distal half, fourth article slender, curved, subequal in length to third article, distally acute, nail present.

Coxae 1–4 subequal in length, slightly overlapping. **Gnathopod 1**, coxa subtrapezoidal, slightly longer than wide, anteroventrally produced and round, with one anteroventral facial seta, anteroventral and ventral margins bearing small slender setae; basis about $3.3 \times$ longer than wide, anterior margin with five proximal small slender setae; ischium and merus naked; carpus elongate, palmar margin minutely serrate, with small setae, apex curved upwards; propodus straight, margin minutely serrate, with small setae, bearing a blunt stout seta near dactylus articulation; dactylus smooth, reaching $0.35 \times$ the length of propodus. **Gnathopod 2**, coxa subquadrate, anteroventral and ventral margins bearing small slender setae; basis about $2.8 \times$ longer than wide, anterior margin with three medium slender setae; ischium and merus small, both with setae posteroventrally; carpus expanded and setose, about $0.6 \times$ the length of propodus, apically smooth; propodus enlarged, slightly longer than basis, ischium, and merus combined, about twice longer than wide, with one mediofacial setal row above midline, reaching $0.4 \times$ of propodus length, lateral face without setal row, with a submarginal row of slender setae, subparallel to palm, reaching $0.6 \times$ the length of propodus, anterior margin smooth, distal margin subtruncate, anterodistal corner with a small row of long setae, posterior margin smooth, palm convex with two major and two small distal tubercles near dactylus articulation, bearing couples of small setae spread on its entire length; dactylus smooth and curved, reaching half the length of propodus. **Pereopod 3**, coxa $1.5 \times$ longer than wide, anteroventral and ventral margins bearing small slender setae; basis slender, $5.7 \times$ longer than wide, anterior margin bearing small slender setae, posterior margin with two long slender setae; ischium naked; merus and carpus slender, with small setae in the anterodistal and posterodistal corners, combined reaching $0.7 \times$ the length of basis, merus about 1.3

× longer than carpus; propodus slender, slightly longer than carpus, posterior margin bearing three small stout setae; dactylus smooth and curved. **Pereopod 4** similar to pereopod 3, coxa slightly longer than wide, margins smooth, posteroventral lobe sub-acutely produced, posterodorsal margin slightly concave; basis, posterior margin without setae. **Pereopod 5**, coxa about 1.5 × wider than long, bilobated, posteroventral lobe with two marginal slender setae, slightly more produced than anteroventral lobe; basis broadly expanded, about 1.3 × longer than wide, anterior margin bearing small stout setae spread on its entire length, posterior margin smooth, posteroventral lobe weakly produced; ischium slightly longer than wide; merus about 2.9 × longer than wide, posteroventral corner slightly produced; carpus and propodus slender, combined subequal in length to basis, about 1.7 × longer than merus, anterior margin bearing small stout setae, propodus about 1.7 × longer than carpus; dactylus smooth and curved. **Pereopod 6**, coxa about 1.5 × wider than long, bilobated, posteroventral lobe with five marginal slender setae, slightly more produced than anteroventral lobe, posterior margin with six small slender setae; basis broadly expanded, about 1.3 × longer than wide, anterior margin bearing small stout setae spread on its entire length, posterior margin smooth, posteroventral lobe weakly produced; ischium slightly longer than wide; merus about 3.7 × longer than wide, posteroventral corner slightly produced; carpus and propodus slender, combined about 1.2 × longer than basis, about 1.6 × longer than merus, anterior margin bearing small stout setae, propodus about 1.5 × longer than carpus; dactylus smooth and curved. **Pereopod 7**, coxa small, subrectangular, about 1.4 × wider than long, posterior margin with three small slender setae; basis broadly expanded, about 1.3 × longer than wide, anterior margin bearing small stout setae spread on its entire length, posterior margin continuously setulose, posteroventral lobe weakly produced; ischium slightly longer than wide; merus about 4 × longer than wide, posteroventral corner slightly produced; carpus and propodus slender, combined slightly longer than basis, about 1.6 × longer than merus, anterior margin bearing small stout setae, propodus about 1.8 × longer than carpus; dactylus smooth and curved.

Epimeral plate 1, ventral margin with an anterior row of four slender setae, posterior margin naked and slightly concave, posteroventral corner weakly produced and round, bearing a small slender seta. **Epimeral plate 2**, ventral margin with four small stout setae irregularly spread, posterior margin naked and concave, posteroventral corner produced and acute. **Epimeral plate 3**, ventral margin with two anterior small stout setae, posterior margin not sinuous, with two distal small stout setae, posteroventral corner weakly produced and subacute. **Uropod 1**, peduncle slender, about 5.5 × longer than wide, dorsal margin bearing small stout setae spread on its entire length; rami slender, apically acute and slightly curved upwards, dorsal margin bearing small stout setae spread on entire length; outer ramus slightly shorter than peduncle; inner ramus subequal in length to peduncle. **Uropod 2**, peduncle about 4 × longer than wide, dorsal margin with three stout setae; rami lanceolate, with sparse stout setae, margins minutely setulose; outer ramus about 0.75 × the length of peduncle; inner ramus about 1.5 × longer than outer ramus. **Uropod 3**, peduncle about 4.6 × longer than wide, dorsal margin with three stout setae; rami lanceolate, with sparse stout setae, margins minutely setulose; outer ramus slightly shorter than peduncle; inner ramus subequal in length to outer ramus. **Telson** entire, 2.8 × longer than wide, lateral margin with two proximal small slender setae, apex round, with two subapical small slender setae.

Sexual dimorphism

Based on male paratype (UERJ 1351). **Gnathopod 1**, coxa subtrapezoidal, slightly longer than wide, anteroventrally produced and subtriangular, anteroventral facial seta absent, anterior margin concave, naked, ventral margin bearing small slender setae, posterior margin concave, naked; basis about $3.3 \times$ longer than wide, anterior margin with four proximal small slender setae; ischium and merus naked; carpus elongate, palmar margin minutely serrate, with small setae, apex curved upwards; propodus straight, margin minutely serrate, with small setae, bearing four distal stout setae; dactylus smooth, reaching $0.35 \times$ the length of propodus. **Gnathopod 2**, more robust than in female; coxa subquadrate, slightly wider than long, anterior margin convex, anteroventral and ventral margins bearing small slender setae; basis about $2.6 \times$ longer than wide, anterior margin with 14 small to medium setae spread on its entire length, bearing an anterodistal tubercle; ischium and merus small, merus with setae posteroventrally; carpus expanded and setose, about half the length of propodus, apically smooth, distally truncate; propodus enlarged, subequal in length to basis, ischium, and merus combined, about twice longer than wide, with one mediofacial setal row above midline, reaching $0.4 \times$ of propodus length, lateral face without setal row, without facial row of setae, anterior margin smooth, distal margin subtruncate, anterodistal corner with a small row of long setae, posterior margin smooth, palm convex with one major and two small distal tubercles near dactylus articulation, plus one major tubercle about half the length of the dactylus; dactylus smooth and curved, reaching $0.6 \times$ the length of propodus.

Etymology

The specific epithet is given in reference to the provenance of the type material, the municipality of Angra dos Reis, Rio de Janeiro state, Brazil.

Remarks

The most morphologically similar species to *L. angraensis* **sp. nov.** is *L. wuriti* Thomas & Klebba, 2007, with type locality from Belize, since both share the following characters: head anterior margin rounded, eyes present, mandibular palp article 2 with 11–20 setae (14–15 in *L. angraensis* **sp. nov.**, 18 in *L. wuriti*); gnathopod 1, coxa anterodistal margin subtriangular, basis posterior margin naked, propodus palm without large triangular spines, dactylus reaching greater than $0.2 \times$ propodus length ($0.35 \times$ in *L. angraensis* **sp. nov.**, $0.36 \times$ in *L. wuriti*); gnathopod 2, basis posterior margin smooth, carpus apically smooth, $0.6 \times$ propodus length, propodus distal margin subtruncate; pereopods 5–7 basis broadly expanded; and epimeral plate 3, posterior margin not sinuous, with posteroventral corner weakly produced. However, *L. angraensis* **sp. nov.** differs from *L. wuriti* in the following characters (those of *L. wuriti* in parenthesis): Ventral cephalic keel anterior margin produced and round (straight, vertical); gnathopod 1, carpus, distal and proximal margins naked and smooth (with slender and stout setae, respectively); gnathopod 2 basis with anterodistal tubercle (without anterodistal tubercle), carpus distally truncate (subacute), propodus mediofacial setal row reaching $0.4 \times$ of propodus length (reaching $0.92 \times$), dactylus reaching $0.6 \times$ the length of propodus (almost $0.8 \times$); pereopod 5, basis, posterior margin smooth (bearing three distal setae); pereopod 6, basis, posterior margin oblique to the anterior margin, angle at half-length (almost parallel to the anterior margin,

angle at two-thirds of the length); and telson, lateral margin with two proximal small slender setae (naked), apex round (tridentate).

According to White (2011b), *L. spinicarpa*, is the most frequently cited species of Leucothoidae, with a supposed cosmopolitan distribution and bathymetrical range from the intertidal to 3,600 m depth, which contradicts the typically highly specific habitat requirements of leucothoid amphipods. The authors claim that this suggests that different species have been misidentified as *L. spinicarpa*. This species, originally described from Denmark, but with a neotype determined by Crowe (2006) based on material from Norway. *Leucothoe angraensis* **sp. nov.** can be easily distinguished from *L. spinicarpa* in the following characters (those of *L. spinicarpa* in parenthesis): antenna 1, about a quarter of habitus length (one-third), flagellum 8-articulate (16-articulate), accessory flagellum 1-articulate (absent); gnathopod 2, basis bearing an anterodistal tubercle (without tubercle), carpus apically smooth (apically dentate), propodus mediofacial setal row reaching $0.4 \times$ of propodus length (reaching about two-thirds), palm with one major and two small distal tubercles near dactylus articulation, plus one major tubercle about half the length of the dactylus (with small projections); pereopods 5–7, basis broadly expanded (narrowly expanded); epimeral plate 3, posterior margin not sinuous (sinuous); and telson, apex round (bifid).

Regarding the species of *Leucothoe* currently known from Brazilian waters, all of them can be differentiated from *L. angraensis* **sp. nov.** by a series of characters. *Leucothoe basilobata* Serejo, 1998 is easily distinguished from the others, including *L. angraensis* **sp. nov.** by the presence of a well-developed anterodistal lobe in basis of male gnathopod 2, which gives the name to the species. Besides that, it differs from the new species by the following (characters in *L. angraensis* **sp. nov.** in parenthesis): mandible, incisor almost smooth (about 10 cusps), the second article of palp bearing two setae (14/15 setae); gnathopod 2, carpus subacute, ending in a long stout seta (truncate, smooth), palm with four blunt spines which increase in size in direction of the dactylus insertion (with one major and two small distal tubercles near dactylus articulation, plus one major tubercle about half the length of the dactylus); telson, apex minutely excavate (round).

Leucothoe cheiriserra Serejo, 1998 is another species easily differentiated from *L. angraensis* **sp. nov.** by the gnathopod 1 with strong spines in two rows on the posterior margin of propodus and dactylus small, about 9% (female) to 13% (male) of propodus length. Additionally, *L. cheiriserra* presents gnathopod 2 with carpus subacute, ending in a long stout seta, and telson apex minutely excavate, like *L. basilobata*, while *L. angraensis* **sp. nov.** has propodus of gnathopod 1 with margin minutely serrate, small setae, and four distal stout setae, dactylus reaching $0.35 \times$ the of propodus length, gnathopod 2 with carpus apically truncate and smooth, and telson, apex round.

Leucothoe kensleyi Thomas & Klebba, 2006, whose type locality is Ft. Lauderdale, Florida, USA, is also easily recognised as dissimilar to the new Brazilian species by (*L. angraensis* **sp. nov.** in parenthesis): lateral cephalic lobe acute (round); mandible, palp second article with three setae (14/15 setae); gnathopod 2, basis without anterodistal tubercle (bearing anterodistal tubercle), palm smooth (with one major and two small distal tubercles near dactylus articulation, plus one major tubercle about half the length of the dactylus); pereopod 4, coxa with anteroventral corner sharp, ventral margin serrate (anteroventral corner round, ventral margin smooth); telson, apex tridentate (round).

Leucothoe laurensi Thomas & Ortiz, 1995 was originally described from Cuba, Ascension Island and from the Florida Keys to the Carolinas (Thomas and Ortiz 1995) and, after that, was recorded from the Brazilian states of Pernambuco and Bahia by Serejo (1998). This species can be distinguished from all the other species of *Leucothoe* known from Brazilian waters, including the new species described herein, because it is the only one presenting: gnathopod 1 with carpal spur thick, with a long lateral slender seta; and gnathopod 2, carpus with apical rounded cusps, anterodistal corner of propodus projected as a blade-like process and inner margin of dactylus minutely serrate. On the other hand, this species shares with *L. angraensis* sp. nov. the truncate apex of carpus of gnathopod 2.

Leucothoe leptosa Serejo, 1998 differs from the new species by the following (*L. angraensis* sp. nov. in parenthesis): antenna 1, peduncle article 3 enlarged distally (ordinary); coxae 3–4 ventral margin crenulate (smooth); gnathopod 2 carpus apically dentate (apically smooth); pereopods 3–4, propodus, posterodistal corner with three stout setae (one stout seta); epimeral plate 1 naked (with anteroventral row of setae); and telson, apex acute (round).

Leucothoe lihue J.L. Barnard, 1970 can also be easily distinguished from all the other species from Brazil by its exclusive gnathopod 1 of stout form, with dactylus very short. Additionally, *L. lihue* shares with *L. angraensis* sp. nov. the gnathopod 2 with an anterodistal tubercle present in the basis and male carpus apically smooth, distally truncate, but differs from the latest by some other characters (*L. angraensis* sp. nov. in parenthesis): head, lateral cephalic lobe truncate and angulate (round); mandible, palp second article with two setae (14/15 setae), third article shorter than first (longer than); coxae 5, 6 with facial setae (without); pereopods 5–7, basis narrowly expanded (broadly expanded).

Leucothoe occidentalis Reid, 1951 has type locality from Tropical West Africa, about 9° 30'N 14–15°W, was described by Reid (1951) as *L. spinicarpa* var. *occidentalis*, rediagnosed by Krapp-Schickel and Menioui (2005), and previously recorded from Brazil by; Serejo (1998) as *L. spinicarpa*. It resembles *L. angraensis* sp. nov. in many characters, but can be distinguished from that by the following (*L. angraensis* sp. nov. in parenthesis): mandible, second article of palp bearing six setae (14/15 setae); gnathopod 1, coxa with ventral margin naked (bearing small slender setae); male gnathopod 2, palm with all projections near dactylus articulation (projections more developed, the most proximal one about half the length of the dactylus; pereopods 6–7, basis with posterior margin finely crenulate, without setae (smooth, continuously setulose); epimeral plate 2, posteroventral corner weakly produced (strongly produced); epimeral plate 3, posteroventral corner not produced (weakly produced).

Leucothoe oxumae Alves, Neves & Johnsson, 2020 differs from the latest by presenting (*L. angraensis* sp. nov. in parenthesis): mandible, incisor 5-cuspidate (about 10 cusps), the second article of palp bearing ten setae (14/15 setae), lacinia mobilis asymmetrical in shape, but similar in size (left strong, right feeble); maxilla 2, outer and inner plates, lateral margin naked (setulose); gnathopod 1, coxa with margins naked; male gnathopod 2, basis without anterodistal tubercle (bearing anterodistal tubercle); epimeral plate 1 naked (with anteroventral row of setae); epimeral plate 2, posteroventral corner rounded, not produced (produced and acute); and epimeral plate 3, posteroventral corner produced and rounded (weakly produced and subacute).

Finally, *Leucothoe urospinosa* Serejo, 1998 differs from *L. angraensis* sp. nov. by the following (*L. angraensis* sp. nov. in parenthesis): Lateral cephalic lobe bevelled (round);

mandible, palp second article with three setae (14/15 setae), third article shorter than first (longer than); gnathopod 1, coxa subquadrate, with corners slightly dentate (subtrapezoidal, anteroventrally produced and subtriangular); gnathopod 2, carpus subacute, ending in a long stout seta (truncate, smooth) pereopod 4, coxa with posteroventral margin oblique (posteroventral lobe subacutely produced, posterodorsal margin slightly concave); epimeral plate 3, posterior margin sinuous, posteroventral corner round (not sinuous, weakly produced and subacute); uropods 1 and 3, outer ramus greatly shorter than inner ramus (rami subequal in length); telson bearing a couple of dorsal plumose setae (dorsal setae absent).

Biology

The ascidians have their bodies wrapped in a tunic and their anatomy forms three main cavities: internal cavity of the branchial sac, outer cavity of the mantle, and peribranchial cavity. The presence of *L. angraensis* **sp. nov.** in *P. nigra* was observed in all cavities of the ascidians, but with much less frequency in the outer cavity of the mantle than in the other cavities.

Other macroinvertebrates were also found in the ascidian cavities, such as polychaetes and nematodes. Individuals of the new species were found in all 10 collected specimens of *P. nigra*, even when these other organisms were present. The individuals were found sometimes alone in each tunicate, in pairs, or even in groups.

More studies are needed with a wide number of ascidians species along the entire Ilha Grande Bay and vicinities, in order to determine the real distribution of the new species and whether it has a species-specific association with *P. nigra* or if it can be found on other biological substrates.

Type locality

Ponta Leste (23°03'10.5"S 44°14'37.6"W), Angra dos Reis municipality, Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro state, Brazil.

Geographical distribution

Known only from its type locality (Figure 8).

Bathymetric range

0–6 m depth.

Discussion

Currently, there are nine species of the genus *Leucothoe* known from Brazil: *L. basilobata* Serejo, 1998; *L. cheiriserra* Serejo, 1998; *L. kensleyi* Thomas & Klebba, 2006; *L. laurensi* Thomas & Ortiz, 1995; *L. leptosa* Serejo, 1998; *L. lihue* J.L. Barnard 1970; *L. occidentalis* Reid, 1951; *L. oxumae* Alves, Neves & Johnsson, 2020; and *L. urospinosa* Serejo, 1998 (Serejo and Siqueira 2018; Alves et al. 2020). Only *L. occidentalis* has been already recorded from Rio de Janeiro state whilst all other species were recorded from northeastern Brazilian coast on coral reef environments. *Leucothoe lihue* was recorded on wider distribution suggesting it as cryptogenic species. However, none of the above-mentioned records indicated *P. nigra*, or even any Ascidiacea species, as a host.

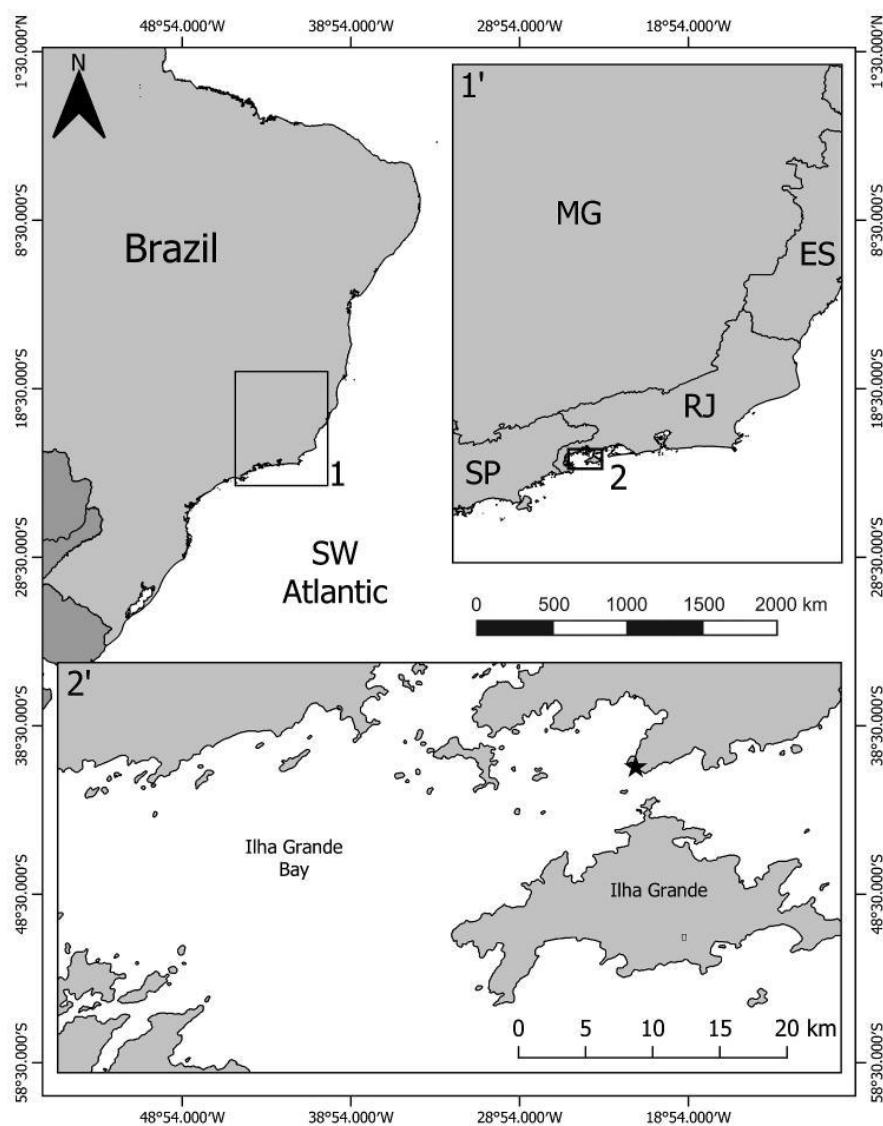


Figure 8. Known distribution of *Leucothoe angraensis* sp. nov.: Ponta Leste, Angra dos Reis, Ilha Grande Bay, Brazil.

Only one record of Leucothoidea associated to *P. nigra* was found from Brazil, previously. *Leucothoe wuriti* Thomas & Klebba, 2007 was recorded by Ramos et al. (2015) from Itaguá beach, Ubatuba municipality, northeastern coast of São Paulo state. This species had already been previously found by White (2011a) associated with ascidiacean species, including *P. nigra*, in Bocas del Toro, Panama, Caribbean Sea. However, although Ramos et al. (2015) identified the specimens as *L. wuriti*, they did not

present any description or illustration of the diagnostic characters, nor deposited the material examined in a zoological collection. This species was not mentioned by Serejo and Siqueira (2018) and must be considered as a doubtful record. In view of the high degree of morphological similarities between *L. angraensis* **sp. nov.** and *L. wuriti*, in addition to the two records (the present study and Ramos et al. 2015) having occurred in the same host species and a not too long distance between them, less than 100 km in a straight line (= 54 nmi), within the same eco-region (Spalding et al. 2007), it is possible that the material analysed by Ramos and collaborators is, in fact, the same new species described in this paper.

Another ascidian-dweller species is *L. furina* (Savigny, 1816), that lives in the branchial chambers of *Pyura* Molina, 1782, in Taiwanese waters (White and Machida 2018), *P. nigra* in the Mediterranean (Savigny 1816), and *Polycarpa aurata* (Quoy and Gaimard, 1834) on the Great Barrier Reef, Australia (Barnard 1937).

More incentives for the development of studies and the training of specialised human resources are needed in order to have a broader view on the diversity of macroinvertebrate species associated to Ascidian species, mainly in a strategic locality for the conservation of Brazilian marine Biodiversity, as Ilha Grande Bay.

Acknowledgements

We are grateful to *Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro* (FAPERJ) and by providing scholarship to BSR (E-26/202.251/2016) and *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil* (CAPES) - Finance Code 001 for scholarship to LFA. ARS and LFS are also supported by PROCIENCIA (UERJ). Research authorizations from *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio-SisBio #25024) and *Instituto Estadual do Ambiente* (INEA #057/2011).

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

This work was supported by the FAPERJ under Grants numbers to LFS [E-26/111.392/2014] and ARS [E-26/202.768/2019].

ORCID

André R. Senna  <http://orcid.org/0000-0003-0976-849X>

Luiz F. Andrade  <http://orcid.org/0000-0002-4868-737X>

Brenda S. Ramos  <http://orcid.org/0000-0001-5710-1097>

Luis F. Skinner  <http://orcid.org/0000-0003-0971-4870>

References

Abildgaard PC. 1789. Zoologia Danica seu animalium Daniae et Norvegiae rariorum ac minus notorum Descriptiones et Historia. Havniae: Möller et filius; p. 71.

- Alves J, Neves E, Johnsson R. 2020. Two new Amphilochida (Amphipoda: Amphilochidea) associated with the bioinvasive *Tubastraea coccinea* from Todos-os-Santos Bay, Bahia State, Brazil. *Zootaxa*. 4743(1):021–034. doi:10.11646/zootaxa.4743.1
- Aued AW, Smith F, Quimbayo JP, Cândido DV, Longo GO, Ferreira CEL, Witman JD, Floeter SR, Segal B. 2018. Large-scale patterns of benthic marine communities in the Brazilian Province. *PLoS ONE*. 13(6):e0198452. doi:10.1371/journal.pone.0198452
- Bahrndorff S, Lofstedt M. 2004. Commensal amphipods in ascidians and sponges off Phuket Island. *Phuket Mar Biol Cent Res Bull*. 65:45–54.
- Barnard JL. 1970. Sublittoral Gammaridea (Amphipoda) of the Hawaiian Islands. *Smithson Contrib Zool*. 34(34):1–286. doi:10.5479/si.00810282.34
- Barnard KH. 1937. Amphipoda. *John Murray Exp*. 1933–34. *Brit Mus Nat Hist Sci Rep*. 4(6):131–209.
- Boeck A. 1871. Crustacea Amphipoda borealia et arctica. *Forh Vidensk-Selsk Kristiania*. 1870:81–280. doi:10.5962/bhl.title.2056
- Cañete JI, Rocha RM. 2013. *Modiolarca lateralis* (Pteryomorpha: Mytilidae): bivalve associated to six species of ascidians from Bocas Del Toro, Panama. *Lat Am J Aquat Res*. 41(5):1030–1035. doi:10.3856/vol41-issue5-fulltext-25
- Creed JC, Oliveira AES, Pires DO, Figueiredo MAO, Ferreira CEL, Ventura CRR, Brasil ACS, Young PS, Absalão RS, Paiva PC, et al. 2007. RAP Ilha Grande - um levantamento da Biodiversidade: histórico e conhecimento da biota. In: Creed JC, Pires DO, Figueiredo MAO, editors. *Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande*. Brasília: MMA/SBF; p. 41–64.
- Crowe SE. 2006. A redescription of *Leucothoe spinicarpa* (Abildgaard, 1789) based on material from the North Atlantic (Amphipoda: Leucothoidae). *Zootaxa*. 1170(1):57–68. doi:10.11646/zootaxa.1170.1.3
- Dalby JE Jr. 1996. Nemertean, copepod, and amphipod symbionts of the dimorphic ascidian *Pyura stolonifera* near Melbourne, Australia: specificities to host morphs, and factors affecting prevalences. *Mar Biol*. 126(2):231–243. doi:10.1007/BF00347448
- Dana JD. 1852. On the classification of the Crustacea Choristopoda or Tetracapoda. *Am J Sci Arts*. 2(14):297–316.
- Fransen CHJM. 2006. On Pontoniinae (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) collected from ascidians. *Zoosystema*. 28(3):713–746.
- Garm A, Watling L. 2013. The crustacean integument: setae, setules, and other ornamentation. In: Watling L, Thiel M, editors. *The natural history of the Crustacea. Functional morphology and diversity*. Oxford: Oxford University Press; p. 167–198. doi:10.1093/acprof:osobl/9780195398038.003.0006
- Gier W, Fransen CHJM. 2018. *Odontonia plurellicola* sp. n. and *Odontonia bagginsi* sp. n., two new ascidian-associated shrimp from Ternate and Tidore, Indonesia, with a phylogenetic reconstruction of the genus (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Zookeys*. 765:123–160. doi:10.3897/zookeys.765.25277
- Hirose E, Turon X, López-Legentil S, Erwin PM, Hirose M. 2012. First records of didemnid ascidians harbouring *Prochloron* from Caribbean Panama: genetic relationships between Caribbean and Pacific photosymbionts and host ascidians. *Syst Biodivers*. 10(4):435–445. doi:10.1080/14772000.2012.735716
- Horton T, Lowry J, De Broyer C, Bellan-Santini D, Coleman CO, Corbari L, Costello MJ, Daneliya M, Dauvin J-C, Fišer C, et al. (2021). World Amphipoda database. Leucothoidae Dana, 1852. [Accessed 2021 Jul 13]. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetail&id=101393>.
- Huguenin L, Salani S, Lopes MF, Albano RM, Hajdu E, Esteves EL. 2018. Integrative taxonomy of *Hemimycale* (Hymedesmiidae: Poecilosclerida: Demospongiae) from Southeastern Brazil, with the description of two new species. *Zootaxa*. 4442(1):137–152. doi:10.11646/zootaxa.4442.1.7
- Johnsson R, Bahia C, Neves E. 2016. A new genus of Asterocheridae (Copepoda: Siphonostomatoida) ectoassociate of the ascidian *Eudistoma vannamei* Millar, 1977 (Polycitoridae) from Brazil. *Zootaxa*. 4114(2):162–170. doi:10.11646/zootaxa.4114.2.5
- Kim I, Moon SY. 2011. Eight new species of ascidicolous copepods from the eastern coast of Korea (Crustacea, Copepoda, Cyclopoida). *Ocean Sci J*. 46:23–46. doi:10.1007/s12601-011-0003-1

- Kim IH, Edwin CR, Mohie-El-Din S, Salma ES. 2016. Cyclopoid Copepods (Ascidicolidae, Notodelphyidae) associated with *Phallusia nigra* Savigny, 1816 (Ascidacea) in the Red Sea: a new ascidicolid and first descriptions of the males from two notodelphyids. *J Crustacean Biol.* 36(4):553–566. doi:10.1163/1937240X-00002439
- Krapp-Schickel T, Menioui M. 2005. *Leucothoe* species from Moroccan Atlantic coasts with redefinition of some species within the *Leucothoe-spinicarpa* clade. *Boll Mus Civ Stor Nat Verona.* 29:63–83.
- Latreille PA. 1816. Nouveau Dictionnaire d'histoire naturelle, appliquée aux arts, à l'Agriculture, à l'Economie rurale et domestique, à la Médecine, etc. Par une Société de Naturalistes et d'Agriculteurs Nouvelle Édition. 1:467–469. Paris.
- Leach WE. 1814. Crustaceology. In: Brewster D, editor. The Edinburgh encyclopedia. Edinburgh: Blackwood; p. 383–437. 7(2).
- Levitt-Barmats Y, Shenkar N. 2018. Observations on the symbiotic relationship between the caridean shrimp *Odontonia sibogae* (Bruce, 1972) and its ascidian host *Herdmania momus* (Savigny, 1816). *PLoS ONE.* 13(2):e0192045. doi:10.1371/journal.pone.0192045
- Martin D, Nygren A, Cruz-Rivera E. 2017. *Proceraea exoryxae* sp. nov. (Annelida, Syllidae, Autolytinae), the first known polychaete miner tunneling into the tunic of an ascidian. *PeerJ.* 5:e3374. doi:10.7717/peerj.3374
- Ministério do Meio Ambiente - MMA. 2002. Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros. Brasília: MMA/SBF; p. 404.
- Molina J. 1782. Saggio sulla storia naturale del Chili. Libro IV: Animali del Chili; p. 1966. Bologna.
- Nóbrega R, Solé-Cava AM, Russo CAM. 2004. High genetic homogeneity of an intertidal marine invertebrate along 8000 km of the Atlantic coast of the Americas. *J Exp Mar Biol Ecol.* 303(2):173–181. doi:10.1016/j.jembe.2003.11.009
- Poore AGB, Lowry JK. 1997. New amphithoid amphipods from Port Jackson, New South Wales, Australia (Crustacea: Amphipoda: Amphithoidae). *Invertebr Taxon.* 11(6):897–941. doi:10.1071/IT95045
- Quoy J, Gaimard A. 1834. Animaux Mollusques. In: Tastu J, editor. Voyages de découvertes de l'Astrolabe exécuté par ordre du Roi, pendant les années 1826–29, sous le commandement de M. J. Dumont d'Urville. Vol. 3. Paris: Zoologie; p. 559–625.
- Ramos EKS, Rosa AHB, Cobo VJ. 2015. Influence of the endo-symbiont *Leucothoe wuriti* (Thomas & Klebba, 2007) (Crustacea, Leucothoidae) on the biomass of *Phallusia nigra* (Savigny, 1816) (Tunicata, Ascidiidae), in the northeastern coast of the São Paulo State, Brazil. *Rev Biociências.* 21:38–43.
- Reid DM. 1951. Report on the Amphipoda (Gammaridea and Caprellidea) of the coast of Tropical West Africa. *Atlantide Rep.* 2:189–291.
- Rocha RM, Lotufo TMC, Rodrigues SA. 1999. The biology of *Phallusia nigra* Savigny, 1816 (Tunicata: Ascidiacea) in southern Brazil: spatial distribution and reproductive cycle. *B Mar Sci.* 64(1):77–87.
- Savigny JC. 1816. Mémoires sur les Animaux sans vertèbres. Première partie. Description et classification des animaux invertébrés et articulés, connus sous les noms de Crustacés, d'Insectes, d'Annélides, etc. Paris: Chez Deterville.
- Schellenberg A. 1938. Litorale Amphipoden des tropischen Pazifiks nach Sammlungen von Prof. Bock (Stockholm), Prof. Dahl (Berlin) und Prof. Pietschmann (Wein). *K Sven Vetensk-akad Handl.* 16(6):1–105.
- Scott T. 1907. Observations on some Copepoda that live as messmates or commensals with ascidians. *Trans Edinburgh Field Nat Microsc Soc.* 1906–1907(5):357–372. doi:10.5962/bhl.title.59824
- Sepulveda R, Cancino JM, Thiel M. 2003. The peracarid epifauna associated with the ascidian *Pyura chilensis* (Molina, 1782) (Ascidacea: Pyuridae). *J Nat Hist.* 37(13):1555–1569. doi:10.1080/00222930110099615
- Serejo CS. 1998. The genus *Leucothoe* (Crustacea, Amphipoda) from the Brazilian Coast. *Beaufortia.* 48(6):105–135.

- Serejo CS, Young PS, Cardoso IA, Tavares CR, Abreu CR, Senna AR, Amâncio IC, Sittrop DJP. 2007. Crustacea de substrato não consolidado. In: Creed JC, Pires DO, Figueiredo MAO, editors. Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande. Brasília: MMA/SBF; p. 253–270.
- Serejo CS, Siqueira SGL. 2018. Catalogue of the Order Amphipoda from Brazil (Crustacea, Peracarida): Suborders Amphilochidea, Senticaudata and Order Ingolfiellida. *Zootaxa*. 4431(1):001–139. doi:10.11646/zootaxa.4431.1.1
- Skinner LF 2018a. Sea surface temperature measured since 2012 for Dois Rios cove, Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brazil. [Accessed 2020 May 14]. https://www.researchgate.net/publication/327118103_Sea_surface_Temperature_measured_since_2012_for_Dois_Rios_cove_Ilha_Grande_Rio_de_Janeiro_Brazil
- Skinner LF 2018b. Sea surface temperature measured since 2012 for Ponta Leste, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brazil. [Accessed 2020 May 14]. https://www.researchgate.net/publication/327118113_Sea_surface_Temperature_measured_since_2012_for_Ponta_leste_Angra_dos_Reis_Rio_de_Janeiro_Brazil
- Skinner LF, Barboza DF, Rocha RM. 2016. Rapid Assessment survey of introduced ascidians in a region with many marinas in the southwest Atlantic Ocean, Brazil. *Manag Biol Invasion*. 7(1):13–20. doi:10.3391/mbi.2016.7.1.03
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A, Lourie SA, et al. 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience*. 57(7):573–583. doi:10.1641/B570707
- Stebbing TRR. 1897. Amphipods from the Copenhagen Museum and Other Sources. *Trans Linn Soc London. Zoology*. 2(7):25–45.
- Stebbing TRR. 1899. Revision of Amphipoda. *Ann Mag Nat Hist*. 4(21):205–211. doi:10.1080/00222939908678185
- Thomas JD. 1997. Systematics, ecology, & phylogeny of the Anamixidae (Crustacea, Amphipoda). *Rec Aust Mus*. 49(1):35–98. doi:10.3853/j.0067-1975.49.1997.298
- Thomas JD, Klebba KN. 2006. Studies of commensal leucothoid amphipods, two new sponge-inhabiting species from south Florida and the western Caribbean. *J Crustacean Biol*. 26(1):13–22. doi:10.1651/C-2624.1
- Thomas JD, Klebba KN. 2007. New species and host associations of commensal leucothoid amphipods from coral reefs in Florida and Belize (Crustacea: Amphipoda). *Zootaxa*. 1494(1):1–44. doi:10.11646/zootaxa.1494.1.1
- Thomas JD, Ortiz M. 1995. *Leucothoe laurensi*, a new species of leucothoid amphipod from Cuban waters (Crustacea, Amphipoda, Leucothoidae). *P Biol Soc Wash*. 108:613–616.
- Vandepas LE, Oliveira LM, Lee SSC, Hirose E, Rocha RM, Swalla BJ. 2015. Biogeography of *Phallusia nigra*: is it really black and white? *Biol Bull*. 228(1):52–64. doi:10.1086/BBLv228n1p52
- Voultsiadou E, Pyrounaki MM, Chintiroglou C. 2007. The habitat engineering tunicate *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 and its associated peracarid epifauna. *Estuar Coast Shelf S*. 74(1–2):197–204. doi:10.1016/j.ecss.2007.04.003
- White KN. 2011a. Caribbean Leucothoidae (Crustacea: Amphipoda) of Panama. *Gulf Caribb Res*. 23:23–35. doi:10.18785/gcr.2301.03
- White KN. 2011b. A taxonomic review of the Leucothoidae (Crustacea: Amphipoda). *Zootaxa*. 3078(1):1–113. doi:10.11646/zootaxa.3078.1.1
- White KN, Krapp-Schickel T. 2017. Red Sea Leucothoidae (Crustacea: Amphipoda) including new and re-described species. *Eur J Taxon*. 324:1–40. doi:10.5852/ejt.2017.324
- White KN, Machida RJ. 2018. Taiwanese Leucothoidae (Crustacea: Amphipoda), including three new species from Dongsha Atoll. *Zool Stud*. 57:47. doi:10.6620/ZS.2018.57-47
- White KN, Reimer JD. 2012. Commensal Leucothoidae (Crustacea, Amphipoda) of the Ryukyu Archipelago, Japan. Part I: ascidian-dwellers. *ZooKeys*. 163:13–55. doi:10.3897/zookeys.163.2003