

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução
Universidade Federal da Bahia

**Biologia populacional e reprodutiva de *Sipunculus nudus*
Linnaeus, 1766 (Annelida: Sipunculidae) na Praia da
Penha, Baía de Todos-os-Santos**

Erika Catugy Rocha

Salvador

2024

Erika Catugy Rocha

**Biologia populacional e reprodutiva de *Sipunculus nudus* Linnaeus, 1766
(Annelida: Sipunculidae) na Praia da Penha, Baía de Todos-os-Santos**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia para a obtenção do Título de Mestre em Biodiversidade e Evolução pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução.

Orientador: Wagner Ferreira Magalhães

Co-orientadora: Gisele Yukimi Kawauchi

Salvador

2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rocha, Erika

Biologia populacional e reprodutiva de *Sipunculus nudus* Linnaeus, 1766 (Annelida:Sipunculidae) na Praia da Penha, Baía de Todos -os-Santos / Erika Rocha. -- Salvador, 2024.

52 f. : il

Orientador: Wagner Magalhães.

Coorientador: Gisele Kawauchi.

Dissertação (Mestrado - Ciências Biológicas) -- Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia - UFBA, 2024.

1. Reprodução. 2. Invertebrados marinhos. 3. entremarés. I. Magalhães, Wagner. II. Kawauchi, Gisele. III. Título.

Comissão julgadora

**Biologia populacional e reprodutiva de *Sipunculus nudus* Linnaeus, 1766
(Annelida: Sipunculidae) na Praia da Penha, Baía de Todos-os-Santos**

Erika Catugy Rocha

Orientador: Wagner Ferreira Magalhães

Co-orientadora: Gisele Yukimi Kawauchi

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre na área de Biodiversidade e Evolução.

Aprovada por:

Em: ____/____/2024.

Prof. Dr. Wagner Ferreira Magalhães

Prof. Dr. Emilio Lanna

Profa. Dra. Alexandra Elaine Rizzo

Orientador: Wagner Ferreira Magalhães (UFBA)

Co-orientadora: Gisele Yukimi Kawauchi (UFMG)

Dedicatória

Dedico primeiramente a Deus pela oportunidade de concluir o mestrado.

Dedico a minha família por toda força e dedicação para chegar até aqui.

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço pela força criadora da vida, Deus e os anjos de luz, pela imensa energia e saúde que tive durante esse período do Mestrado, para realizar minhas tarefas e alcançar meus objetivos com sucesso.

A todos da minha família (Andre, Eliane, Etienne, Louise e vovó Ruth) pela força e paciência durante os momentos mais difíceis, sempre estiveram me apoiando e nunca largaram minha mão. Obrigada por todo incentivo durante essa trajetória do mestrado com muito orgulho e inspiração da minha família.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao professor e orientador Wagner Magalhães e Co-orientadora Gisele Kawauchi, pelas valiosas e imprescindíveis orientações proporcionando sempre uma boa comunicação e troca de conhecimento, confiança em meu trabalho possibilitando amadurecimento e crescimento profissional.

Aos membros do laboratório Annelida UFBA, por estarem juntos ao longo das coletas durante 1 ano, pelas boas risadas e momentos de agonia e nervosismo, mas sempre convivendo em harmonia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução, por proporcionar infraestrutura de qualidade para desenvolver o estudo. Em especial, agradeço ao Professor Emílio Lana, por todo ensinamento e dedicação sobre reprodução. Agradeço a Gabriel Barros pelo auxílio com as análises estatísticas, pela interpretação dos dados obtidos e esclarecimentos.

Imensamente agradeço a meu grande amigo irmão Aldo Borges por ter me dado todo apoio e incentivo para entrar e concluir o Mestrado. Aldo foi o primeiro amigo que contei sobre a tentativa de iniciar o mestrado e sempre me deu total apoio. Agradeço a Daniel Fiscina pelos puxões de orelha e dedicação em manter nossa amizade mesmo estando muitas vezes malquinha, e sempre me colocando pra cima falando que só tem euzinha aqui da Bahia trabalhando com Sipuncula, como diz Dan (Labaxúrias), risos.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO GERAL.....	14
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 ÁREA DE ESTUDO E PROCEDIMENTO EM CAMPO.....	15
3.2 PROCEDIMENTO EM LABORATÓRIO	17
3.3 ANÁLISE DOS DADOS	22
3.4 OBTENÇÃO DE DADOS AMBIENTAIS.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. INVESTIGAÇÃO DAS VARIÁVEIS DE TAMANHO.....	24
4.2 ASPECTOS POPULACIONAIS DE <i>SIPUNCULUS NUDUS</i> NA PRAIA DA PENHA, BTS	27
4.3. ASPECTOS REPRODUTIVOS DE <i>SIPUNCULUS NUDUS</i> NA PRAIA DA PENHA, BTS	35
4.3.1 RAZÃO SEXUAL	35
4.3.2 MATURAÇÃO SEXUAL E DESOVA DE <i>SIPUNCULUS NUDUS</i> NA PRAIA DA PENHA, BTS	38
4.3.3 RELAÇÃO COM OS DADOS AMBIENTAIS	42
5. CONCLUSÃO.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	46

Resumo

Sipuncula inclui invertebrados exclusivamente marinhos encontrados em substratos arenosos, lodosos de regiões entremarés até grandes profundidades. Eles servem de alimento para diversos animais e também são utilizados como isca para pesca em vários locais do mundo. Este trabalho tem como objetivo principal investigar a biologia populacional e reprodutiva de *Sipunculus nudus* na Praia da Penha, Baía de Todos-os-Santos, Bahia, Brasil. Durante o período de 14 meses, 30 indivíduos de *S. nudus* foram coletados mensalmente na região entremarés e diversas medidas foram analisadas tais como o comprimento total, comprimento posterior, espessura, número de bandas musculares longitudinais, comprimento total dos nefrídios e número de voltas do intestino. Os resultados indicam que o comprimento posterior representa bem o tamanho do corpo de *S. nudus* já que estaria altamente correlacionado com o comprimento total ($r=0.97$) e é uma variável de tamanho que não sofre interferência do grau de retração da introverte. A população estudada apresentou indivíduos maduros (machos e fêmeas) e imaturos ao longo de todos os meses coletados e uma razão sexual próxima de 1:1. O comprimento dos nefrídios também foi uma variável altamente correlacionada ao tamanho do corpo dos indivíduos, não apresentando diferenças entre machos e fêmeas, mas claramente distinguindo indivíduos maduros dos imaturos. A presença de nefrídios com tamanhos anômalos (acima de 40 mm) em todos os meses de coleta pode indicar períodos de desova contínua para a população estudada. Novos estudos comparativos devem ser feitos com outras populações que não sofrem essa pressão de remoção a fim de entender os possíveis impactos na estruturação e reprodução deste recurso pesqueiro. Os dados populacionais e reprodutivos indicam que a população de *S. nudus* na Praia da Penha possui produção e amadurecimento de gametas, períodos de desova e recrutamento contínuos ao longo do ano, sendo uma estratégia de vida importante para garantir o repovoamento frente às pressões de remoção de biomassa sofridas pela ação dos pescadores locais.

Palavras-chave: Reprodução, invertebrados marinhos, entremarés.

Abstract

Sipuncula includes exclusively marine invertebrates found in sandy and muddy substrates from intertidal to deeper regions. They serve as food for several animals and are also used as fishing bait in various parts of the world. This work aims to investigate the population and reproductive biology of *Sipunculus nudus* at Praia da Penha, Baía de Todos-os-Santos, Northeastern Brazil. During a period of 14 months, 30 individuals of *S. nudus* were collected monthly in the intertidal region and several measurements were analyzed such as total length, posterior length, width, number of longitudinal muscle bands, total length of the nephridia and number of intestinal coils. The results indicate that posterior length represents well the body size of *S. nudus* as it is highly correlated with total length ($r=0.97$) and is a size variable that is not influenced by the retractedness of the introvert. The studied population presented mature (males and females) and immature individuals throughout all collected months and a sex ratio close to 1:1. The length of the nephridia was also a variable highly correlated with the body size of the individuals, showing no differences between males and females but clearly distinguishing mature from immature individuals. The presence of nephridia with anomalous sizes (above 40 mm) in all sampling months may indicate periods of continuous spawning for the studied population. It is recommended that new comparative studies be carried out with other populations that do not suffer this removal pressure in order to understand the possible impacts on the structuring and reproduction of this fishing resource. Population and reproductive data indicate that the population of *S. nudus* at Praia da Penha has gamete production and maturation, spawning periods and continuous recruitment throughout the year, being an important life strategy to guarantee repopulation given the anthropogenic pressures of biomass removal by local fishermen.

Keywords: Reproduction, Marine invertebrates, Intertidal

1. INTRODUÇÃO

Sipuncula são invertebrados exclusivamente marinhos, celomados e com corpo vermiforme dividido em duas regiões: um tronco não segmentado e um introverte com tentáculos na região proximal (Cutler, 1994; Schulze & Kawauchi, 2021). Eles podem ser encontrados em diversos habitats marinhos, como substratos arenosos, lodosos, como bioerodidores de corais e conchas, ocorrendo em regiões tropicais e temperadas, de zonas entre-marés até grandes profundidades (Murina, 1973; Edmonds, 1980; Hylleberg, 1994).

O posicionamento filogenético deste grupo na irradiação dos anelídeos foi objeto de discussões, e somente nas últimas décadas, com a combinação de dados morfológicos e moleculares, foram estabelecidos como um grupo monofilético de Annelida (e.g. Schulze et al., 2007; Kawauchi et al., 2012). Estes autores, reconheceram seis famílias e 16 gêneros de Sipuncula sem classificação superior. Existem aproximadamente 160 espécies consideradas como válidas (Schulze et al., 2005) e, nas últimas décadas, apenas 13 destas foram descritas recentemente, principalmente a partir de estudos integrativos (e.g. Silva-Morales et al., 2019, Schulze & Kawauchi, 2021; Dixit et al., 2023). A simplicidade morfológica destes organismos, atrelada à falta de taxonomistas treinados(as), atribuiu a muitas espécies uma distribuição cosmopolita que não tem sido corroborada por dados moleculares (ver Schulze & Kawauchi, 2021).

A maioria destes animais são dióicos não apresentando dimorfismo sexual (Ditadi & Migotto, 1982). Existem alguns casos de espécies hermafroditas (*Nephasoma minutum* – Gibbs, 1975), partenogenéticas facultativas (*Themiste lageniformis* – Pilger, 1987), e que se reproduzem assexuadamente por brotamento (*Aspidosiphon elegans* – Rice, 1970) ou por fissão transversal e brotamento lateral (*Sipunculus robustus* – Rajulu & Krishnan, 1969). Para as espécies que se reproduzem sexuadamente, os testículos e ovários ocorrem na base dos músculos retratores ventrais e os gametas são liberados no celoma do tronco, onde passam pela maior parte do seu desenvolvimento (Maiorova & Adrionov, 2005). No celoma, os gametas crescem, amadurecem e mudam a sua morfologia em formatos e tamanhos que variam de espécie para espécie (Rice, 1993). Os ovócitos celomáticos em Sipuncula podem variar de formas irregulares, para esféricos ou ovóides e podem ou não ter células foliculares, associadas ao envelope do ovócito durante a sua maturação (Schulze et al., 2019). Os

testículos liberam os espermátocitos no celoma em aglomerados, onde os gametas de um mesmo aglomerado se desenvolvem sincronicamente (Rice, 1974; Reunov & Rice, 1993).

Antes de ocorrer a desova, os gametas maduros são recolhidos e armazenados nos nefrídios antes de serem liberados pelos nefridióporos na coluna d'água (Maiorova & Adrionov, 2005). Ditadi & Migotto (1982), observaram que existe uma sincronização em relação a liberação dos gametas, de modo que, um dos sexos libera os gametas primeiro estimulando assim a liberação do sexo oposto. A fertilização ocorre na água do mar (Rice, 1989; Cutler, 1994; Maiorova & Adrianov, 2005), onde, a metamorfose é seguida de quatro possíveis histórias de vida: (I) desenvolvimento direto; (II) desenvolvimento indireto seguido de uma larva trocófora lecitotrófica; (III) desenvolvimento indireto com dois estágios larvais subsequentes: uma trocófora lecitotrófica seguida de uma pelagosfera lecitotrófica; e IV) desenvolvimento indireto com larva trocófora lecitotrófica dando origem a uma larva pelagosfera planctotrófica (Ditadi, 1982; Schulze et al., 2019).

Existem poucos trabalhos sobre aspectos da biologia populacional de *Sipuncula* que incluam dados sobre a frequência reprodutiva e maturação sexual (e.g. Pilger, 1987; Amor, 1993), ainda que algumas espécies sejam muito abundantes em ambientes costeiros e de fácil acesso. Ferrero-Vicente et al. (2014) monitoraram mensalmente uma população de *Aspidosiphon muelleri* Diesing, 1851, durante 1 ano em uma região do Mar Mediterrâneo. Estes autores encontraram uma razão sexual próxima à 1:1, ausência de dimorfismo sexual, densidade populacional aumentada nos meses de verão (junho a agosto) e características reprodutivas (porcentagem de fêmeas maduras e tamanho dos ovócitos) significativamente relacionadas ao aumento da temperatura das águas superficiais. As populações de *Sipunculus nudus* na costa da China estiveram sexualmente maduras entre os meses de maio a setembro (Quo & Li, 1993; Wang et al. 2005) enquanto que, esta mesma espécie na Tailândia se reproduziu o ano inteiro (Quo & Li, 1993; Wang et al. 2005).

Amor (1993), ao estudar na Argentina a espécie bipolar *Golfingia margaritacea* (com distribuição conhecida para o Ártico e Antártico), observou-se uma distribuição da frequência do tamanho dos ovócitos distinta ao longo do ano. Durante a maior parte do ano, a distribuição foi bimodal, com ovócitos de tamanhos pequenos e grandes encontrados no celoma ao mesmo tempo. Nos meses de junho, julho e setembro, a distribuição foi unimodal, com apenas ovócitos da classe de tamanho pequena presentes no celoma. Pilger (1987)

também observou uma distribuição bimodal ao longo do ano no tamanho dos ovócitos da espécie *T. lageniformis*, indicando que a produção de ovócitos pelas gônadas ocorre durante todo o ano, com a maturação destes principalmente nos meses de julho e agosto. Gonse (1956) verificou que as fêmeas de *Golfingia vulgaris vulgaris* (como *Phascolosoma vulgare*) apresentavam ovócitos de tamanho pequeno o ano inteiro, indicando também uma produção contínua pelas gônadas. Já em *Phascolosoma arcuatum* na Austrália, Green (1975) observou que durante os meses precedendo a desova, os ovócitos apresentavam tamanhos consideravelmente maiores e, nos meses seguintes à desova, o celoma estava desprovido de gametas (Green, 1975).

O diâmetro dos ovócitos, medidos a partir da coleta do líquido celomático, tem sido uma variável importante para entender o ciclo reprodutivo e maturação sexual em *Sipuncula* (e.g. Rice, 1988; 1989), sendo que, a maturação sexual dos indivíduos machos nunca foi investigada a nível populacional.

Sipunculus nudus Linnaeus, 1766 foi, por muito tempo, considerada como uma espécie cosmopolita encontrada em todos os oceanos, em regiões tropicais e temperadas, das zonas entremarés até 900 m de profundidade (Cutler, 1994). Kawauchi & Giribet (2014), a partir de dados moleculares, demonstraram a existência de pelo menos cinco linhagens distintas ainda não formalmente descritas e delimitadas morfologicamente. No Atlântico Oeste, estes autores reconhecem a ocorrência de monofiletismo deste complexo desde a Flórida até a costa brasileira. O complexo de espécies *S. nudus* é, notavelmente, o *Sipuncula* mais bem estudado com relação aos aspectos fisiológicos e bioquímicos (e.g. Andreae, 1882), citológicos (e.g. Gonse, 1956), ecológicos (e.g. Hsieh et al., 2013., Li et al., 2015), metabólicos e nutricionais (e.g. Shen et al., 2004; Zhang et al., 2014) e reprodutivos (e.g. Rice, 1988, 1989; Lan & Yan, 2002; Ainnoun et al., 2019).

Além de ser amplamente estudada em vários aspectos da sua biologia, este complexo de espécies também tem sido utilizado como recurso alimentar e como isca para pesca em várias localidades do mundo (e.g. Fidalgo et al., 2006; Ha et al., 2007). Em vários países asiáticos, eles são conhecidos como uma iguaria alimentar e a sua comercialização sustenta várias comunidades locais (Li et al., 2017; Ferdinandus et al., 2022). No Vietnã, eles são vendidos secos por cerca de 250 dólares americanos por quilo (Truong, 2022) enquanto que na China, eles podem ser vendidos frescos por cerca de 14 dólares americanos por quilo

(Junwei et al., 2017). Estes autores ainda indicam que o cultivo anual desta espécie tem produzido mais de 20.000 toneladas, não sendo isento de impactos aos ecossistemas costeiros.

Na praia da Penha (Baía de Todos-os-Santos, Salvador), os pescadores locais coletam esta espécie há décadas nas regiões entremarés para utilizá-las como isca na pesca artesanal (Oliveira et al., 2024). Estes pescadores são homens com mais de 40 anos de idade que residem em bairros vizinhos e utilizam estes vermes como isca há pelos menos duas gerações em uma atividade claramente ancestral (Oliveira et al., 2024). Eles reportaram que nunca consomem esta espécie e indicaram que são iscas mais resistentes que lulas e crustáceos para capturar peixes com alto valor comercial. Desta forma, dados acerca da biologia populacional e reprodutiva desta população poderá subsidiar estratégias para o manejo e conservação deste recurso pesqueiro localmente relevante e altamente desconhecido.

2. OBJETIVO GERAL

Investigar a biologia populacional e reprodutiva de uma população de *Sipunculus nudus* na Baía de Todos-os-Santos.

2.1. Objetivos específicos

1. Estudar os aspectos populacionais de *S. nudus* ao longo de 14 meses.
2. Estudar os aspectos reprodutivos de *S. nudus* tais como maturidade sexual, razão sexual e período reprodutivo ao longo de 14 meses.
3. Estudar os fatores ambientais tais como: temperatura média, salinidade, pluviosidade e maré baixa ao longo de 14 meses.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo e Procedimento em Campo

O estudo foi realizado na Praia da Penha, Salvador/BA (12° 54' 40.18"S, 38° 29' 50.82"W), localizada na cidade baixa, banhada pela Baía de Todos-os-Santos (BTS) (Fig. 1). O clima da BTS é do tipo tropical úmido com uma temperatura média anual de 25.3°C e precipitação de 2086 mm (Cirano & Lessa, 2007). Estes autores demonstraram que as estações chuvosas (inverno) e secas (verão) geram alterações consideráveis nas características das águas desta baía, afetando a sua temperatura e salinidade em comparação com a região costeira adjacente. A região em estudo apresenta uma planície de maré arenosa que fica exposta durante a maré baixa (Fig. 1C).

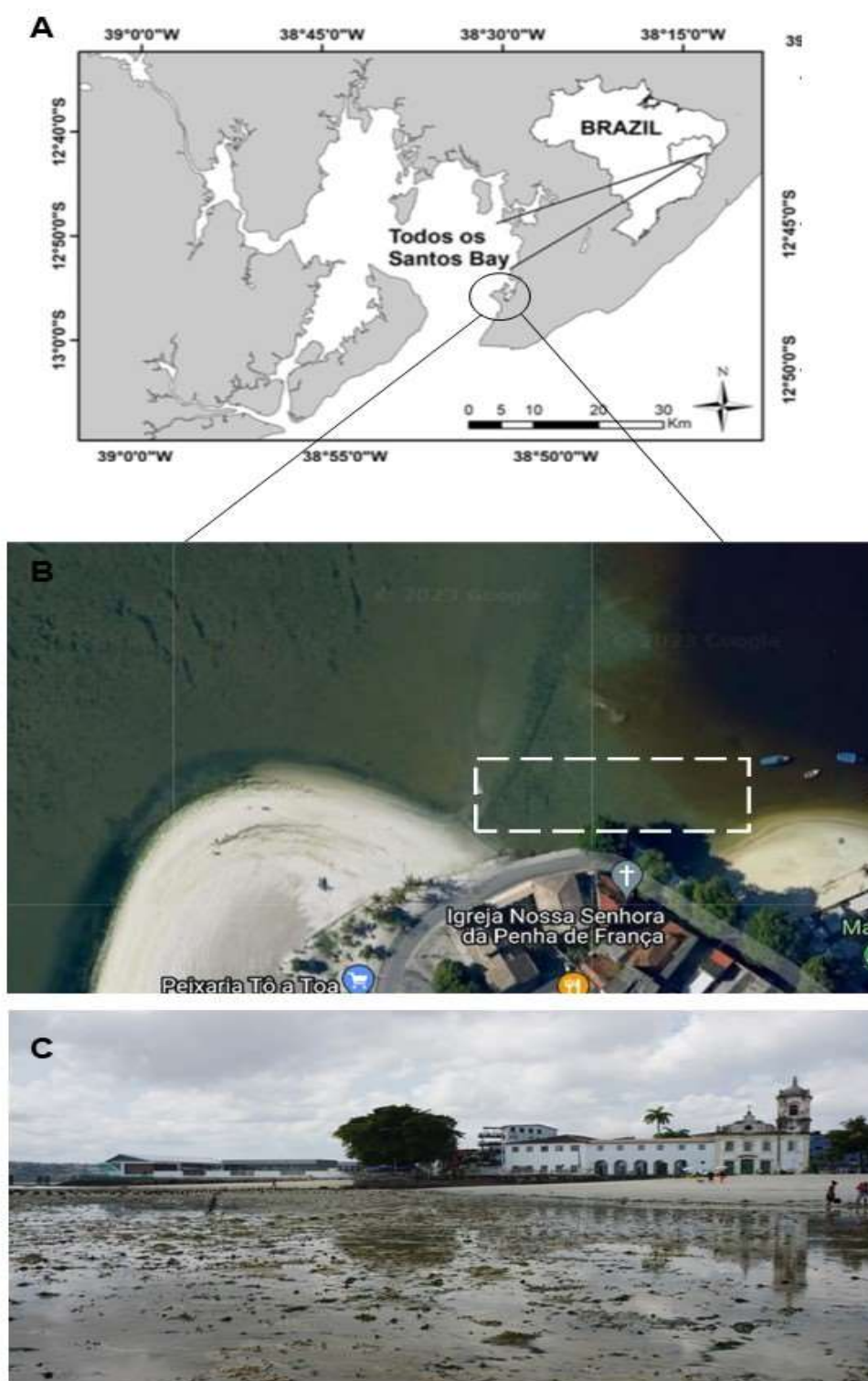


Figura 1. Área de estudo: A, Mapa da Baía de Todos-os-Santos, mostrando a localização da Praia da Penha que fica na entrada da Baía da Ribeira. B, Imagem do *Google Earth* mostrando a região entremarés em frente à Igreja da Penha onde a população em estudo foi coletada. C, Foto da Praia da Penha durante a maré baixa.

Durante o período de 17 meses, tentativamente, 30 indivíduos de *S. nudus* foram coletados mensalmente, totalizando 434 espécimes. A presença dos organismos no sedimento foi identificada pelo orifício das suas galerias enquanto não havia água na superfície do substrato (Fig. 2A), e foram removidos com o auxílio de uma pá cavando aproximadamente 40 cm de profundidade. Entretanto, em ocasiões em que a maré não deixou o substrato à mostra, as investidas a procura dos organismos foram feitas aleatoriamente, colocando o substrato em uma peneira improvisada com flutuadores laterais para manter a mesma na superfície da água (Fig. 2B). O substrato foi peneirado para a retirada dos indivíduos e estes foram acondicionados em potes plásticos com água do mar (Fig. 2C) e transportados para o laboratório.

3.2 Procedimento em Laboratório

Em laboratório, os organismos foram mantidos em água do mar em temperatura ambiente e uma alíquota do líquido celomático foi retirada com auxílio de uma seringa de 5 ml e fixada em formol à 10% (Fig. 2E). Esta alíquota foi mantida em *eppendorfs*, para observação posterior dos gametas, e realização da sexagem e mensuração do diâmetro dos ovócitos. Os *eppendorfs* contendo os gametas foram etiquetados e presos aos seus respectivos indivíduos (Fig. 2F). Após a remoção da alíquota do líquido celomático, os indivíduos foram anestesiados em água doce por um período de 30 minutos (Fig. 2D), como método anestésico sugerido para indivíduos grandes (G. Kawauchi, obs. pessoal). Em seguida, todos os indivíduos foram fixados em formol à 10% a partir da inserção deste fixador em três regiões ao longo do tronco, para garantir a preservação dos órgãos internos. Após estes procedimentos, os organismos foram acondicionados em frascos etiquetados registrados com dados da coleta e, posteriormente, foram transferidos e conservados em álcool 70%.

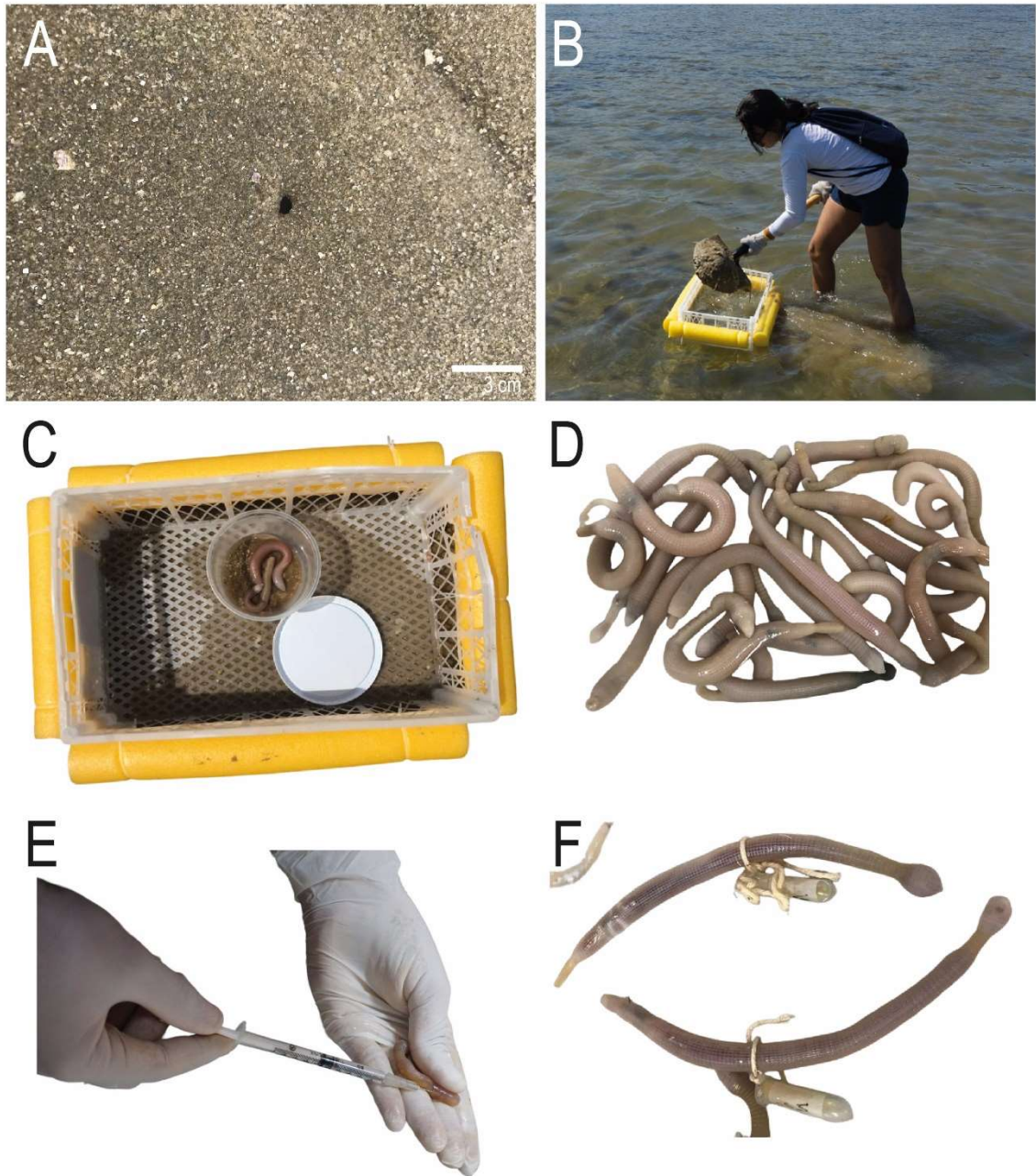


Figura 2. Método de coleta e extração do líquido celomático. A, Orifício da galeria de *Sipunculus nudus* na Praia da Penha, BTS; B, Coleta dos vermes no sedimento com auxílio de uma pá; C, Peneira adaptada com flutuadores; D, Organismos em anestesia com água doce; E, Remoção das alíquotas do líquido celomático com auxílio de uma seringa; F, Indivíduos presos as suas respectivas alíquotas nos *ependorff* para posterior sexagem.

A partir dos indivíduos preservados, diversas medidas de tamanho foram realizadas externamente utilizando um paquímetro (Figs. 3 e 4), tais como: 1) comprimento total (CT, comprimento da introverte até a região posterior do tronco); 2) comprimento posterior (CP, comprimento da região do ânus até a região posterior do tronco); e 3) espessura (E, mensurada na posição do ânus) (Figs. 3 e 4). Após a realização das medidas da morfologia externa, todos os indivíduos foram dissecados a partir de uma incisão na linha mediana dorsal da parede do tronco, do lado esquerdo do ânus até a região posterior, como recomendado na literatura (Ditadi & Migotto, 1982). Em seguida, medidas adicionais da anatomia interna foram realizadas, tais como: 4) número de bandas musculares longitudinais (BML); 5) comprimento total do nefrídio esquerdo (N1) e direito (N2) e 6) número de voltas do intestino (I) (Figs. 3B e 4).

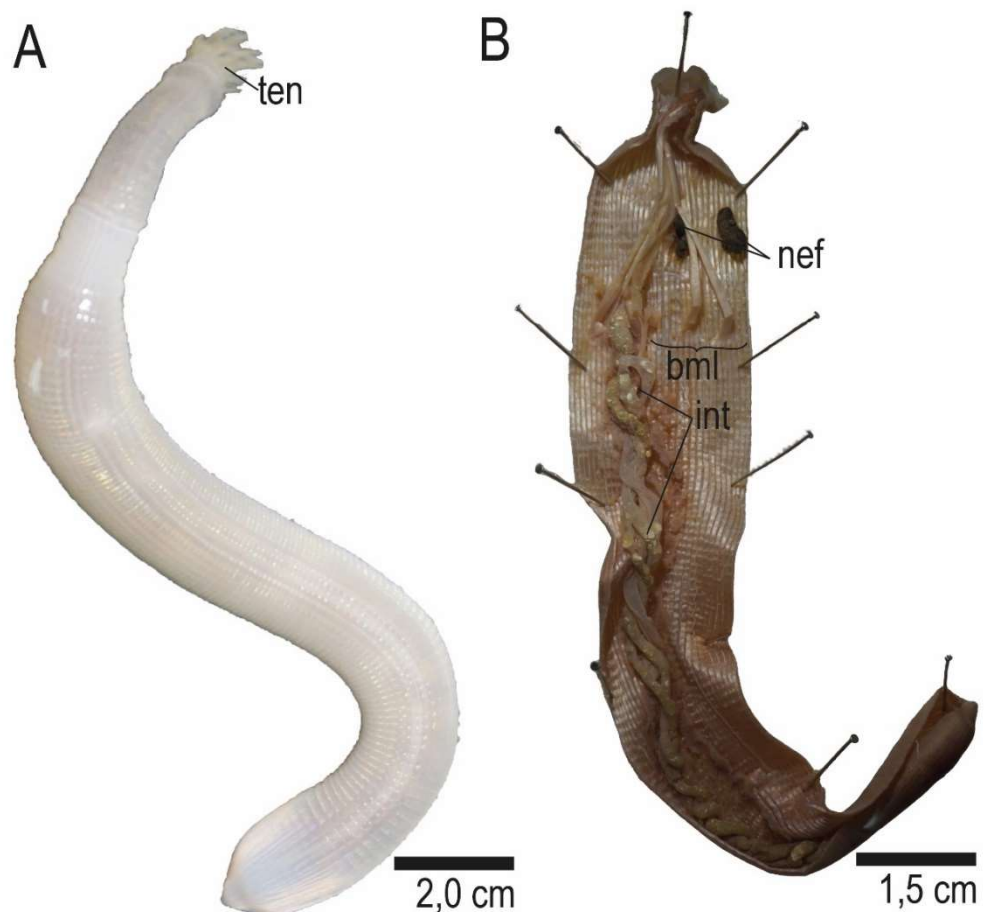


Figura 3. A, Indivíduo vivo de *Sipunculus nudus* demonstrando a sua morfologia externa e sua coroa de tentáculos (ten); B, Indivíduo dissecado e preservado demonstrando a anatomia interna: nefrídios (nef), bandas musculares longitudinais (bml), e intestino (int).

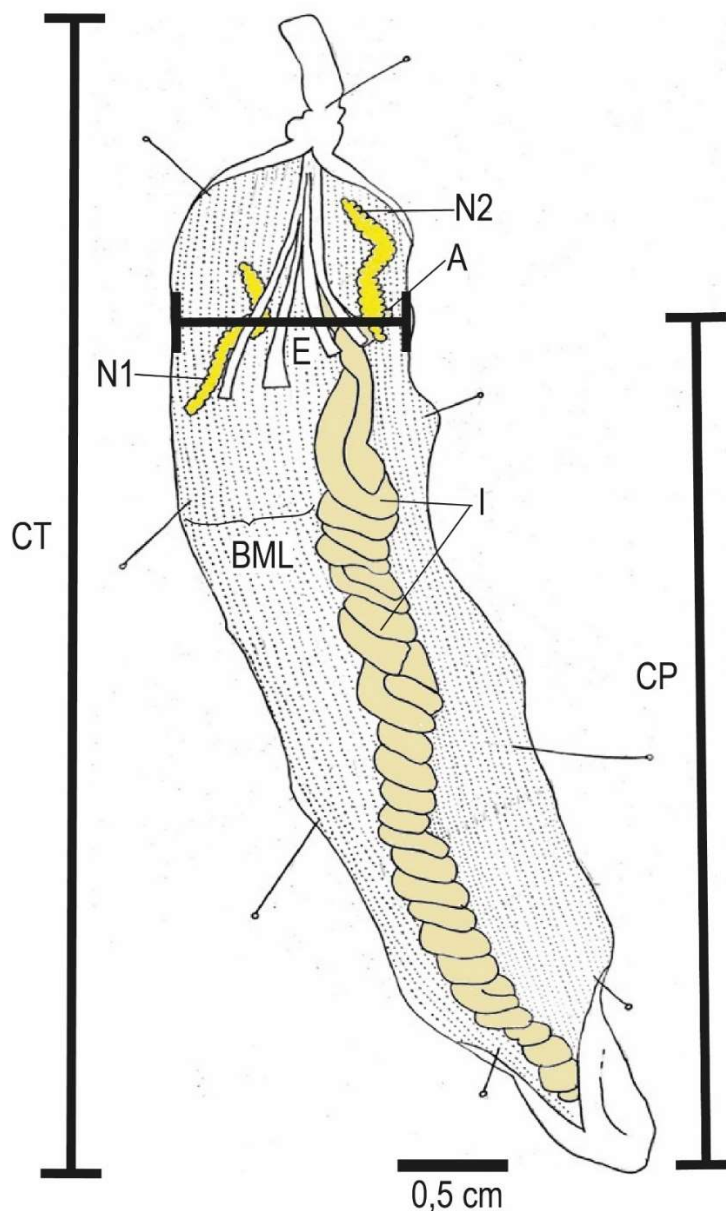


Figura 4. Desenho esquemático da anatomia interna de *Sipunculus nudus* ilustrando as variáveis da morfologia externa: 1) Comprimento total (CT), medido desde a introverte até a região posterior do tronco; 2) Comprimento posterior (CP), medido desde a altura da abertura do ânus (A) até a região posterior do tronco; e 3) Espessura (E) medida na posição do ânus. Anatomia interna: 4) número de bandas musculares longitudinais (BML); 5) comprimento do nefrídio esquerdo (N1) e nefrídio direito (N2) e 6) número de voltas do intestino (I).

A maturidade e o sexo dos indivíduos foram identificados pela presença/tipo de gametas no celoma. O tamanho dos ovócitos foi comparado tanto com o animal vivo quanto com o animal anestesiado em água doce. Os indivíduos foram então classificados em fêmeas, machos ou imaturos. As fêmeas foram identificadas pela presença de ovócitos (Fig. 5 A, B), os machos através da presença de placas espermáticas (Fig. 5C, D) e os imaturos pela ausência de gametas.

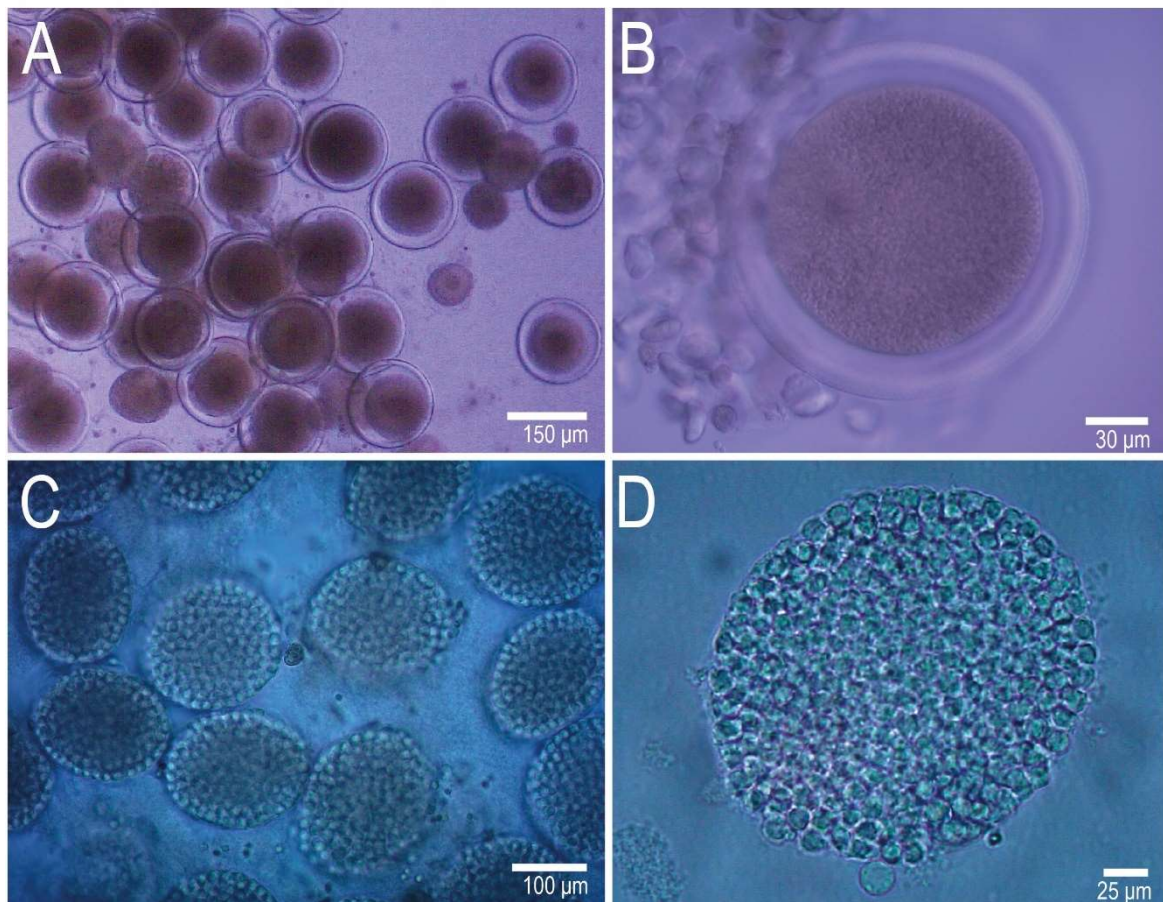


Figura 5. Gametas de *Sipunculus nudus* coletados na Praia da Penha. A, Ovócitos de um indivíduo coletado em agosto de 2023; B, detalhe de um ovócito entre os estágios IV e V; C, Placas espermáticas em maturação e D, detalhe de uma placa espermática.

A maturidade sexual das fêmeas foi determinada pela presença e diâmetro dos ovócitos no celoma (Fig. 5A e B). Lâminas temporárias com glicerina foram realizadas com o líquido celomático contendo os gametas femininos tentativamente de 10 fêmeas ao longo de todos os meses estudados. Trinta ovócitos de cada uma das 10 fêmeas foram mensurados

a partir de fotografias com escalas utilizando o microscópio Olympus CX31RTSF e ocular de 40x. As medições foram realizadas através do software livre ImageJ.

A ovogênese de duas populações asiáticas do complexo de espécies *S. nudus* foi estudada e caracterizada em cinco estágios (Lan & Yan, 2002; Wang et al. 2005): estágio I (crescimento citoplasmático, ovócitos com 25–30 µm de diâmetro), estágio II (formação de cobertura folicular, 60–70 µm), estágio III (alta taxa de crescimento, 120–150 µm), estágio IV (formação de película gelatinosa, 150–160 µm), e estágio V (maturação, 170–180 µm). Os ovócitos foram então classificados nos diferentes estágios de acordo com o seu diâmetro.

3.3 Análise dos dados

Para avaliar quais variáveis se relacionam melhor com o comprimento total (CT), foi realizada uma análise de correlação múltipla. A normalidade da distribuição dos dados foi previamente analisada através do teste de Shapiro-Wilk. Com base nos resultados deste último teste, foi aplicada a Correlação de *Spearman*, que é uma análise não-paramétrica adequada para dados que não possuem distribuição normal. Estas análises foram conduzidas com nível de significância de 0,01 através do ambiente computacional R (R Core Team, 2023), utilizando os pacotes 'Hmisc' e 'PerformanceAnalytics' (Fig. 6).

Previamente, para checar a colinearidade entre as medidas biológicas, foi utilizado o Draftsman plot. A análise (DistLM - Distance-based linear models) foi aplicada com 9999 permutações e o melhor modelo foi selecionado utilizando o procedimento “step-wise” baseado no critério AICc (corrected Akaike Information Criterion). Adicionalmente, a análise de redundância baseada em distância (dbRDA - Distance based redundancy analysis) foi utilizada para visualizar os resultados do DistLM (Fig. 7). Estas análises foram implementadas no software PRIMER 6 (Clarke & Gorley, 2006).

Para verificar a variação temporal das variáveis anatômicas e morfológicas da população foram realizados *pirateplots* com todos os meses analisados, indicando as médias populacionais em vermelho (Figs. 8 e 10). Os gráficos foram realizados em ambiente computacional R (R Core Team, 2023).

A razão sexual foi calculada para cada mês e para todos os meses baseada na frequência relativa de machos e fêmeas nas amostras, com deviações significativas da razão 1:1 usando o teste do qui-quadrado como proposto por Sokal & Rohlf (1995). O teste do qui-quadrado foi realizado através do ambiente computacional R (R Core Team, 2023).

3.4 Obtenção de dados ambientais

Os dados de precipitação pluviométrica (mm) total mensal foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia na Bahia (INMET) para o período de março de 2022 a abril de 2023 para a cidade de Salvador (Fig 15. A). Já os dados de temperatura média da água (°C) e salinidade média (psu) foram obtidos a partir da boia meteo-oceanográfica localizada na BTS (12°59'22" S, 38°32'30" W) disponibilizada no Sistema de Monitoramento da Costa Brasileira (SiMCosta; simcosta.furg.br). O SiMCosta é uma rede integrada de plataformas flutuantes ou fixas, que coletam regularmente dados meteorológicos e oceanográficos de acesso público e gratuito. Os dados utilizados compreendem média e desvio padrão mensais dos meses de março de 2022 a abril de 2023 (Fig. 15).

Os dados de maré foram obtidos a partir da tabua de marés disponibilizada pelo Centro de Navegação da Marinha (<https://www.marinha.mil.br/chm/tabuas-de-mare>) para o Porto de Salvador (12° 58' 23.988" S, 38° 30' 59.76" W). As alturas das marés baixas de um mesmo dia foram somadas e a média e desvio padrão mensal foi calculado (Fig. 15D).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Investigação das variáveis de tamanho

Para investigar quais variáveis de tamanho mensuradas seriam as mais representativas do tamanho corpóreo dos indivíduos coletados, optou-se em realizar uma matriz de correlação (Fig. 6), onde todas as variáveis foram correlacionadas entre si.

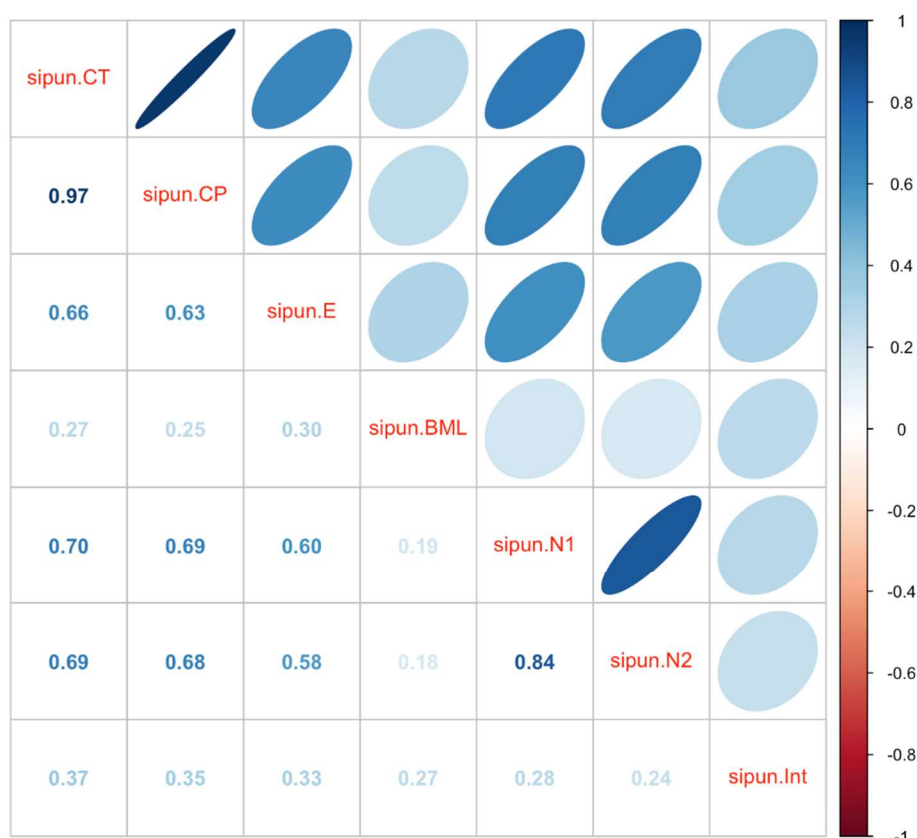


Figura 6. Matriz de correlação entre as medidas do comprimento total (CT), comprimento posterior (CP), espessura (E), número de bandas musculares longitudinais (BML), comprimento do nefrídio esquerdo (N1) e nefrídio direito (N2) e número de voltas do intestino (I). A distribuição de cada variável é demonstrada na diagonal; acima da diagonal são gráficos de dispersão bivariada e abaixo da diagonal são os valores de correlação.

Das sete variáveis de tamanho investigadas, três delas (comprimento posterior, $R=0.97$; espessura, $R=0.66$; e comprimento do nefrídio esquerdo (N1), $R=0.70$), apresentaram altas correlações com o comprimento total (CT) dos indivíduos, demonstrando

o seu uso potencial para estudos populacionais (Fig. 6). O comprimento posterior foi medido da abertura do ânus até a parte posterior do tronco, não sendo afetado pelos diferentes graus de retração da introverte. Mesmo padronizando o tempo de relaxamento dos indivíduos, alguns apresentaram a introverte completamente exposta enquanto outros apresentaram a mesma contraída. Desta forma, o comprimento posterior representa uma variável confiável de tamanho do corpo dos indivíduos para estudos de biologia populacional e também para estudos taxonômicos que geralmente utilizam tanto o comprimento total quanto o comprimento do tronco (excluindo a introverte mas sem levar em consideração os diferentes graus de retração da mesma).

A espessura dos animais mensurados também apresentou uma correlação positiva com o comprimento total ($R=0.66$; $N=434$ indivíduos). Porém, durante a anestesia, era comum observar que os indivíduos perdiam bastante volume do celoma ao liberar gametas na água. Portanto, acredita-se que o uso desta variável para estimar o tamanho populacional seja realizado com cautela, e, se possível, medida em campo durante a coleta.

As outras variáveis de tamanho mensuradas, tais como o número de bandas musculares longitudinais (BML) ($R=0.27$) e o número de voltas do intestino ($R=0.37$), não apresentaram correlações fortes com o comprimento total dos indivíduos, indicando que o seu uso para estimar o tamanho dos indivíduos deva ser feito com cautela (Fig. 6). Os resultados encontrados indicam então que o número de BML não aumenta em relação ao tamanho do animal, não sendo, portanto, uma boa variável para acompanhar o tamanho populacional. Porém, os dados validam esta variável como uma importante ferramenta taxonômica na separação de espécies de *Sipunculus*, uma vez que geralmente é atribuída uma faixa de variação de BML para cada espécie (Kawauchi, 2005).

O comprimento do N1 apresentou uma maior correlação ($R= 0.70$) com o CT em comparação ao N2 ($R= 0.69$) (Fig. 6). O N1 e o N2 demonstraram altas correlações entre si ($R=0.84$). Existem diversos trabalhos que indicam uma assimetria entre os tamanhos dos nefrídios e isso tem sido utilizado também como um caráter taxonômico (Kawauchi, 2005, Schulze et al., 2019). Geralmente, sipunculídeos possuem um par de nefrídios ventrolaterais, localizados na região anterior do tronco, com formato de saco, que podem ser alongados e espessos distalmente (Kawauchi, 2005). Cutler & Cutler (1989) analisaram uma grande quantidade de indivíduos de várias espécies de *Aspidosiphon* e observaram uma

grande variação entre os comprimentos dos nefrídios. Estes autores ainda ressaltam que não há uma correlação entre o tamanho dos nefrídios e o comprimento do tronco podendo variar em uma mesma espécie, *e.g. Aspidosiphon elegans*, de 35–88% do comprimento do tronco.

De todos os indivíduos analisados neste trabalho (N=434), dois espécimes apresentaram apenas um nefrídio preso à parede do tronco, sendo então caracterizados como casos anômalos. Anomalias morfológicas são raras mas já foram encontradas em estudos morfométricos onde um grande número de indivíduos foram analisados como observado em Coutinho & Santos (2014) para anelídeos poliquetas. Os gêneros *Onchnesoma* Koren & Danielssen, 1875 e *Phascolion* Théel, 1875 possuem espécies com apenas um nefrídio (Cutler & Cutler, 1985), indicando que a ausência de um nefrídio não torna o indivíduo reprodutivamente inviável.

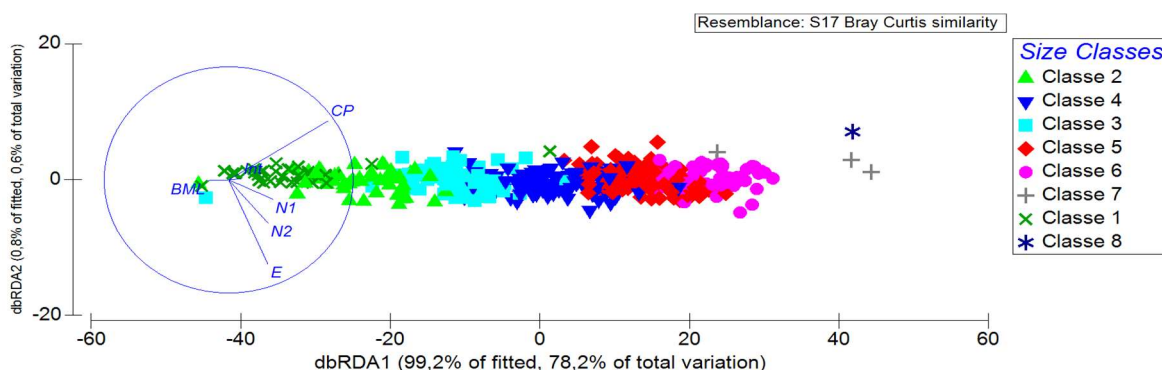


Figura 7. Modelo de análise baseado em distância (dbRDA) para verificar quais destas variáveis relacionam-se melhor com o comprimento total dos indivíduos, agrupados em 8 classes de tamanho a partir da análise DistLM.

Uma segunda análise (DistLM), classificando os indivíduos em oito classes de tamanho de corpo utilizando o comprimento total, também indicou relações significativas entre o comprimento total (CT) dos espécimes e outras medidas biológicas. Foi observada colinearidade entre os comprimentos dos nefrídios 1 e 2 (correlação > que 0,75), sendo utilizada apenas uma das medidas na análise. O modelo mais parcimonioso explicou 78,8% da variabilidade total, sendo que as variáveis preditoras foram o comprimento posterior (CP) que explicou 78,2% da variabilidade e espessura (E) que explicou 0,6% da variabilidade total. A análise dbRDA explicou 100% da variabilidade ajustada nos dois primeiros eixos (Fig. 7), representando 78,8% da variabilidade total da matriz de similaridade dos

comprimentos totais, conforme informado acima. Os indivíduos ficaram agrupados de acordo com as classes de tamanho, com tamanhos maiores associados a maiores comprimentos posteriores. Essa análise de classes de tamanho indicou quais variáveis estariam mais relacionadas com o tamanho dos indivíduos, no qual o CP foi a variável mais indicada para entender a variação do tamanho corpóreo do animal ao longo do tempo.

4.2 Aspectos populacionais de *Sipunculus nudus* na Praia da Penha, BTS

Os indivíduos foram medidos em relação às variáveis do comprimento total (CT), comprimento posterior (CP) e espessura (E) durante os meses de outubro de 2021 à abril de 2023 (Fig. 8). O CT variou de 2,4–32 cm ($\bar{x}=15 \pm 5,4$ cm), enquanto que o CP variou de 2,0–26 cm ($\bar{x}=11,57 \pm 4,31$) e a espessura variou de 2,4–14 mm ($\bar{x}=8,56 \pm 2,24$). (Fig 8). De todos os meses analisados, os meses com médias de CT e CP acima das médias globais foram fevereiro, março, maio, julho-julho, e setembro de 2022. Os valores de espessura seguiram o mesmo padrão das outras variáveis, com a adição dos meses de outubro de 2021 e abril de 2023 (Fig. 8). Os meses que apresentaram os menores indivíduos com relação à CT e CP foram novembro e dezembro de 2022 e com relação à espessura foram de novembro e dezembro de 2022 e janeiro e fevereiro de 2023 (Fig. 8). Estes meses também correspondem à presença de uma maior quantidade de indivíduos imaturos (Fig. 13).

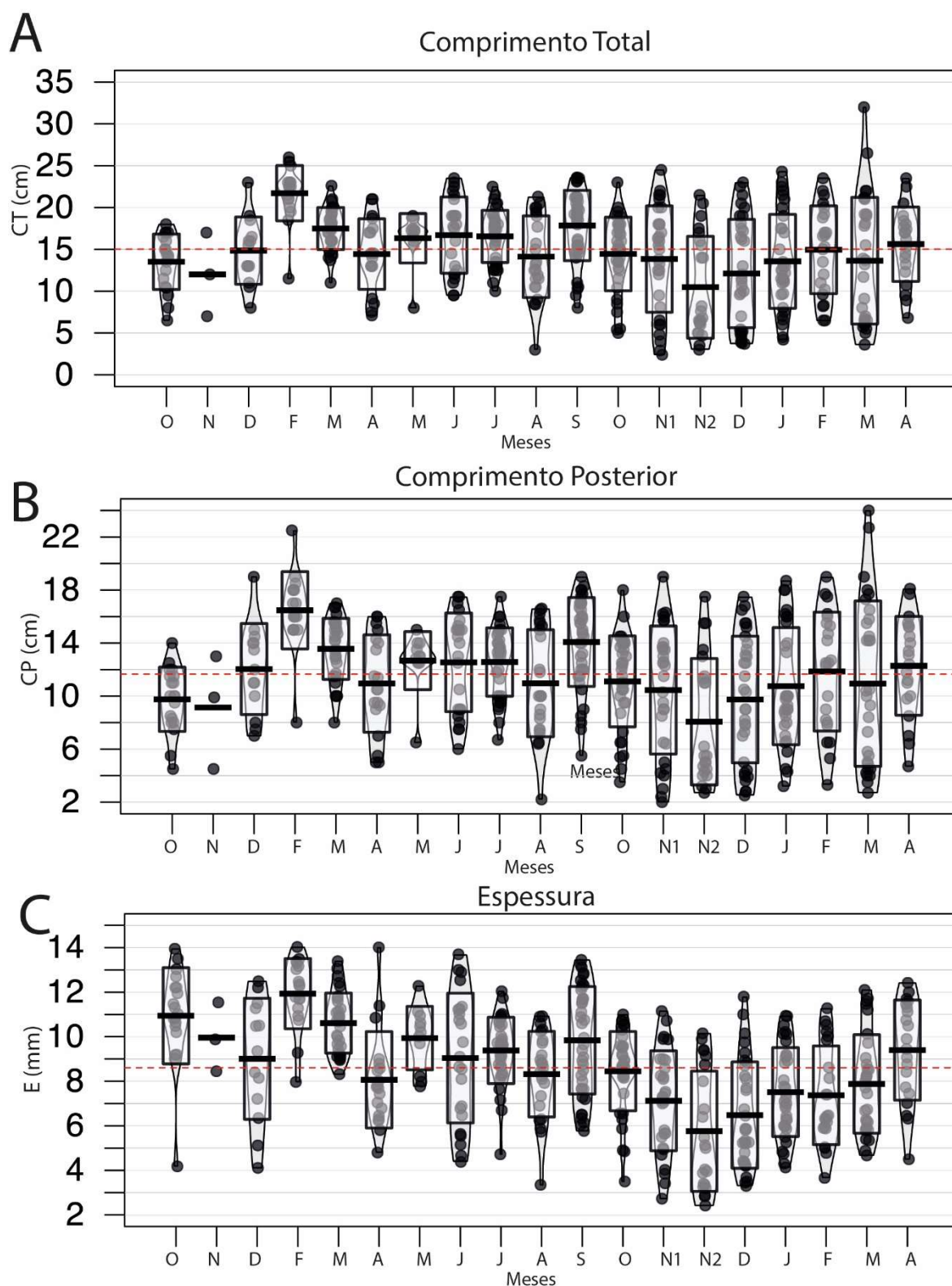


Figura 8. *Pirateplots* mensais demonstrando o comportamento das variáveis de tamanho do corpo da morfologia externa. A, comprimento total (CT), B, comprimento posterior (CP) e C, espessura (E), analisados durante os meses de Outubro de 2021 a Abril de 2023. Linha vermelha representa a média populacional global.

Como o CP tem demonstrado ser uma variável mais confiável do tamanho dos indivíduos, foi possível então comparar se existe uma variação entre o CP de machos e fêmeas e confirmar a ausência de dimorfismo sexual com relação ao tamanho dos indivíduos (Fig. 9).

Não foram observadas diferenças entre o CP dos machos ($\bar{x}=12,28$ cm) e das fêmeas ($\bar{x}=12,88$ cm) (Fig. 9). Portanto, não é possível realizar a sexagem desta população estudada em campo, somente com a identificação dos gametas em laboratório. Estes dados confirmam a ausência de dimorfismo sexual em *Sipunculus nudus* com relação ao tamanho dos indivíduos. Os indivíduos que não apresentaram gametas no celoma foram classificados como imaturos/juvenis. Estes indivíduos apresentaram uma variação do CP de 2,2–16,0 cm, ($\bar{x}= 6,28 \pm 4,11$). Apesar da análise da presença de gametas no celoma não garantir que indivíduos maduros recém desovados sejam classificados como juvenis, observa-se que a média do tamanho dos juvenis é bastante inferior à média do tamanho dos machos e das fêmeas (Fig. 9).

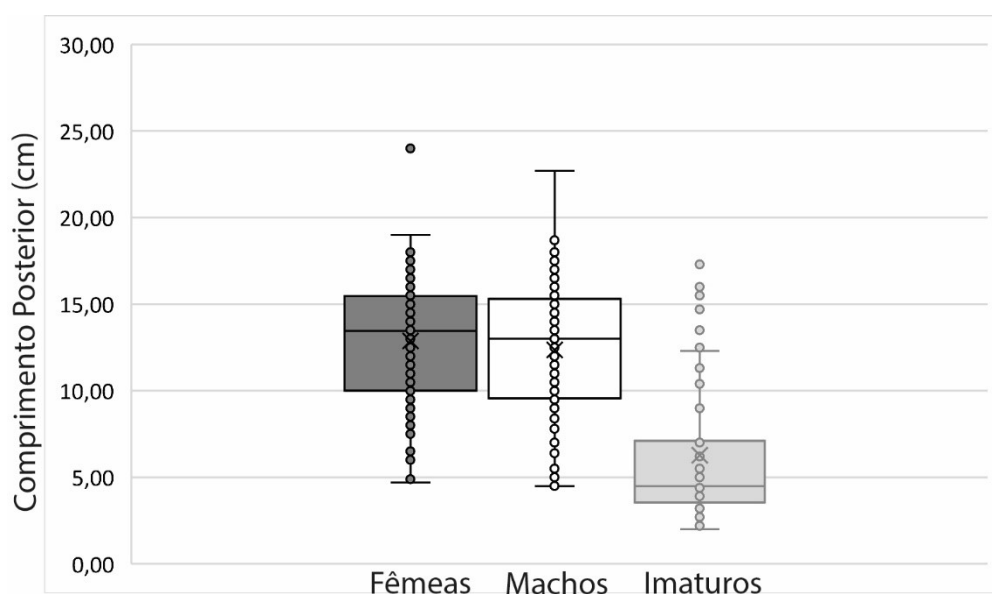


Figura 9. *Boxplots* demonstrando o comprimento posterior (CP) dos indivíduos classificados como fêmeas (N=152), machos (N=180) e imaturos (N= 61).

Neste trabalho, o número de BML variou de 26–38 ($\bar{x}= 31 \pm 2$) e não demonstrou uma diferença clara que indique o crescimento ou diminuição dos indivíduos ao longo dos meses analisados (Figura 10A). Os meses que apresentaram indivíduos com o número de

BMLs maiores que a média populacionais foram março, abril, junho e julho de 2022. De todos os exemplares coletados, dois indivíduos apresentaram 38 BMLs no mês de Junho, com comprimento total de 13 e 20 cm e comprimento posterior de 9,2 e 14,8 cm. Em comparação, para o Sudeste do Brasil, Kawauchi (2005) analisou 22 espécimes e encontrou uma variação de 28–33 BMLs. Outras populações do complexo *S. nudus* apresentaram variações de BML não excedendo 32 BMLs tais como: Carolina do Norte (28–33, Cutler, 1973), Índia (24–32, Haldar, 1991), Tailândia (26–27, Ainnoun et al., 2020). Franco et al. (2024) reportaram *Sipunculus polymyotus* pela primeira vez na Praia da Penha/BA, uma espécie rara com dimensões consideráveis de 30,5 cm de CT. A literatura retrata o número de BMLs de *S. polymyotus* com faixas entre 42–55 (Cutler, 1994), 53–55 (Silva-Morales et al., 2021), 49 (Silva-Morales, 2022) e no indivíduo da mesma localidade deste trabalho foram contadas 46 BMLs. A faixa de variação de BMLs é considerada como uma variável taxonômica importante para diferenciar o gênero *Sipunculus* (Cutler & Cutler, 1985) e estes dois indivíduos com 38 BMLs podem então corresponder a indivíduos jovens de *S. polymyotus*.

Outras variáveis analisadas foram o comprimento total dos nefrídios N1 e N2 (direito e esquerdo, respectivamente), aderidos à parede interna do tronco. O comprimento total de N1 variou de 1,52–61,21 mm ($\bar{x} = 21,6 \pm 7,39$) e o N2 variou de 2–69,80 mm ($\bar{x} = 21,86 \pm 8,42$) mm. Percebe-se que o N2 apresentou valores de comprimento ligeiramente maiores que o N1 dos indivíduos medidos e de uma forma geral a variação de comprimento do nefrídio foi pequena ao longo dos meses estudados, com exceção dos meses de setembro de 2022 onde houve uma média mensal bem acima da média populacional, tanto pra N1 quanto pra N2 (Fig. 10B e C).

Foi observado também o comprimento dos nefrídios em comparação com a presença e tipos de gametas. Os nefrídios dos indivíduos juvenis apresentaram uma variação de 1,52–28,80 mm para o N1 e de 1,80–42,34 mm para o N2 (Fig. 11). Observou-se que os indivíduos classificados como juvenis apresentaram nefrídios marcadamente menores que os indivíduos maduros (machos e fêmeas) enquanto que não existem diferenças entre o comprimento de N1 e N2 dos machos e fêmeas (Fig. 11). Como os nefrídios possuem papel fundamental no armazenamento dos gametas pré desova, o seu comprimento pode ser utilizado para caracterizar a maturidade dos indivíduos de uma população.

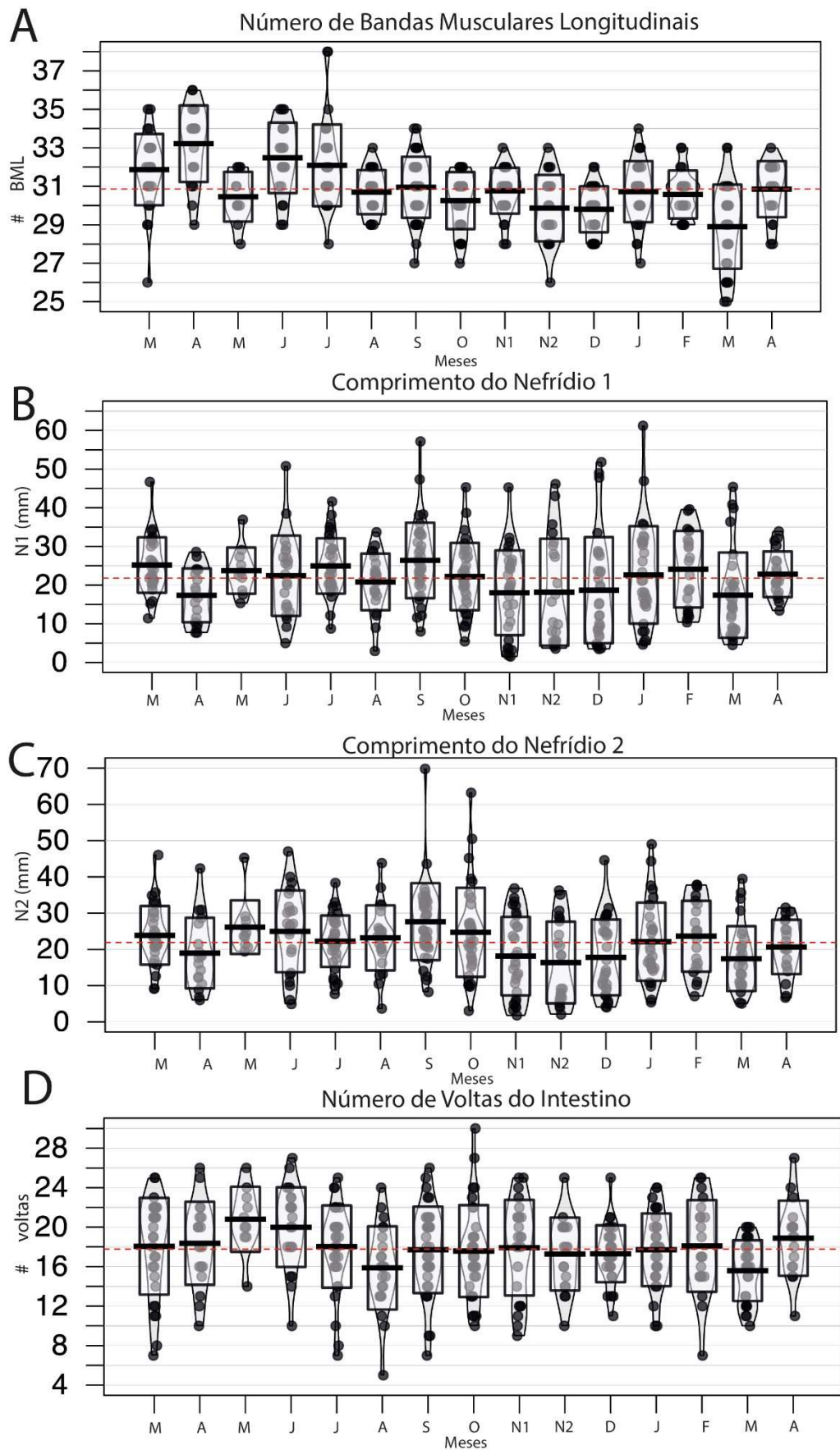


Figura 10. *Pirateplots* mensais demonstrando o comportamento das variáveis de tamanho do corpo da anatomia interna. A, bandas musculares longitudinais (BMLs), B, comprimento do nefrídio esquerdo (N1), C, comprimento do nefrídio direito (N2) e D, número de voltas do intestino (I), analisados no período de março de 2022 até abril de 2023. As linhas vermelhas representam as médias populacionais.

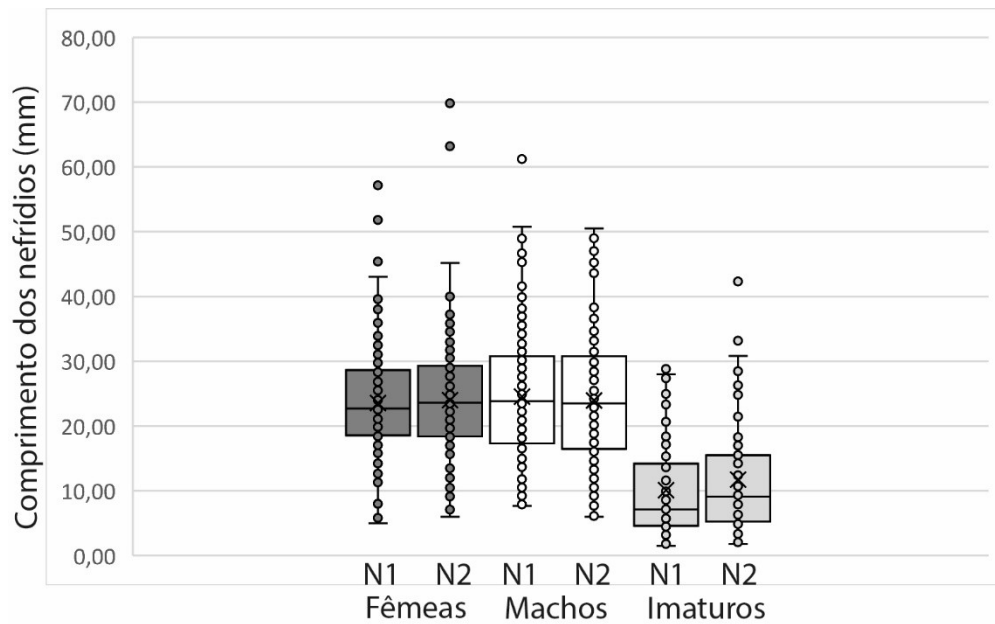


Figura 11. *Boxplots* demonstrando o comprimento dos nefrídios N1 e N2 dos indivíduos classificados como fêmeas (N=152), machos (N=180) e imaturos (N= 61).

Houveram alguns indivíduos com tamanhos anômalos de nefrídios (Figura 10B, C; Tabela 1). Os nefrídios com comprimentos acima de 40 mm (acima da média para N1 e N2) foram arbitrariamente considerados como anômalos e ocorreram em 19 indivíduos distribuídos em 11 meses de coleta (Tabela 1; Fig. 12).

Tabela 1. Indivíduos com nefrídios considerados com tamanhos anômalos, dados do mês de coleta, comprimento posterior (CP) e sexo.

Indivíduos	Mêses	N1 (mm)	N2 (mm)	CP (cm)	Sexo
1	Março 22	46,70	46,04	15,5	Fêmea
2	Maio 22	50,78	47,00	17,0	Macho
3	Junho 22	41,60	38,33	13,0	Macho
4	Julho 22	33,69	32,40	16,5	Macho
5	Agosto 22	57,15	69,80	16,7	Fêmea
6	Agosto 22	47,35	43,60	20,7	Fêmea
7	Setembro 22	45,30	63,20	12,5	Macho
8	Setembro 22	38,67	45,17	11,5	Fêmea
9	Novembro 1/ 22	45,27	32,02	19,0	Macho
10	Novembro 2/ 22	46,15	30,65	11,0	Macho
11	Dezembro 22	51,81	31,41	11,5	Fêmea
12	Dezembro 22	48,95	44,60	14,5	Macho
13	Dezembro 22	47,80	20,70	14,0	Macho
14	Janeiro 23	46,93	44,30	18,7	Macho
15	Janeiro 23	61,21	49,00	16,5	Macho
16	Fevereiro 23	39,61	37,25	17,5	Fêmea
17	Março 23	40,82	39,45	18,0	Macho
18	Março 23	39,90	34,00	15,5	Macho
19	Abril 23	33,90	23,95	15,5	Fêmea

Os nefrídios em *Sipuncula*, além de serem uma estrutura excretora, também participam da reprodução, armazenando os gametas maduros e liberando na coluna d'água pelos nefridióporos para que ocorra a fertilização (Rice & Pilger, 1988). Logo, existe a expectativa de que nos meses precedentes à desova, o volume dos nefrídios seja maior. Os resultados encontrados indicam que a população de *S. nudus* da Praia da Penha possivelmente desova o ano inteiro, indicativo pelo tamanho anômalo dos nefrídios encontrados em todos os meses de coleta (Tabela 1). Além disso, os indivíduos que

apresentaram os nefrídios anômalos possuíam CP variando de 11–20,7 cm, indicando que com o mínimo de 11 cm de CP já estariam prontos para desova.

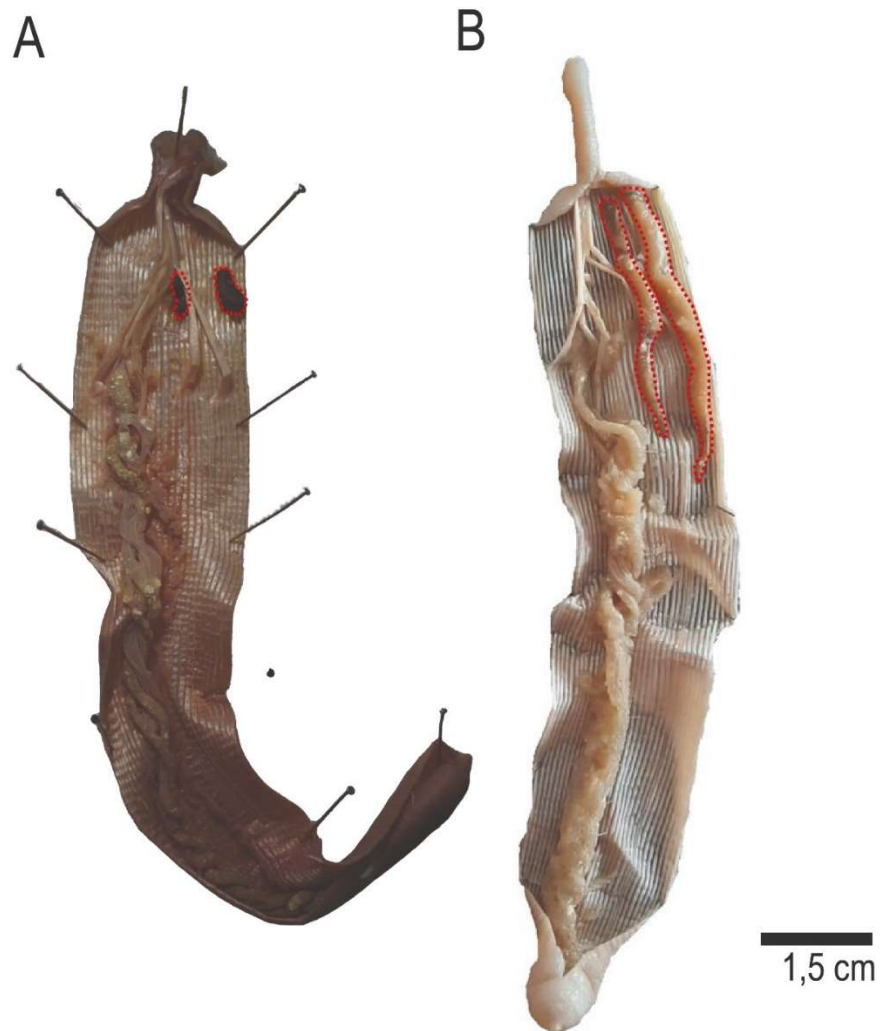


Figura 12. Dois indivíduos de *S. nudus* dissecados mostrando diferenças no tamanho dos nefrídios. A. Nefrídios (N1 e N2) menores de indivíduo medido no mês de agosto de 2022. B. Nefrídios (N1 e N2) de indivíduo coletado no mês de agosto de 2022, representado os maiores nefrídios encontrados.

O número de voltas do intestino variou de 5–30 voltas, durante os meses de março de 2022 a abril de 2023 (Figura 10D), não apresentando uma tendência clara de aumento ou redução ao longo dos meses analisados. Apenas nos meses de maio e junho de 2022 as médias do número de voltas do intestino foram superiores que a média populacional. O

número de voltas do intestino também foi mencionado por Kawauchi (2005) onde identificou 16–24 voltas do intestino para esta espécie em um estudo no Sudeste do Brasil e Cutler (1994) que identificou um número de 20–30 para o gênero *Sipunculus* e sugeriu que esta variável poderia chegar até 100 voltas. Este mesmo autor, indicou que esta variável apresentaria uma relação com a idade dos animais, o que não foi encontrado no presente trabalho uma vez que esta variável não obteve correlações altas com nenhuma outra variável de comprimento (CP ou CT). Desta forma, os resultados aqui encontrados não recomendam o uso do número de voltas do intestino como uma forma de caracterização da idade dos indivíduos de *S. nudus*.

4.3. Aspectos reprodutivos de *Sipunculus nudus* na Praia da Penha, BTS

4.3.1 Razão sexual

Foram examinados 360 indivíduos de *S. nudus*, sendo classificados como machos (180), fêmeas (142) e imaturos (61) (Fig. 13), de acordo com a presença e natureza dos gametas encontrados no celoma. Houveram oscilações na razão sexual ao longo dos meses analisados com mais machos sendo encontrados de junho à agosto de 2022 e mais fêmeas encontradas em março e maio de 2022 (Fig. 13). Os indivíduos imaturos foram mais abundantes em abril, novembro e dezembro de 2022 e em março de 2023 (Fig. 13). Os imaturos estiveram ausentes durante cinco meses de coleta (Fig. 13).

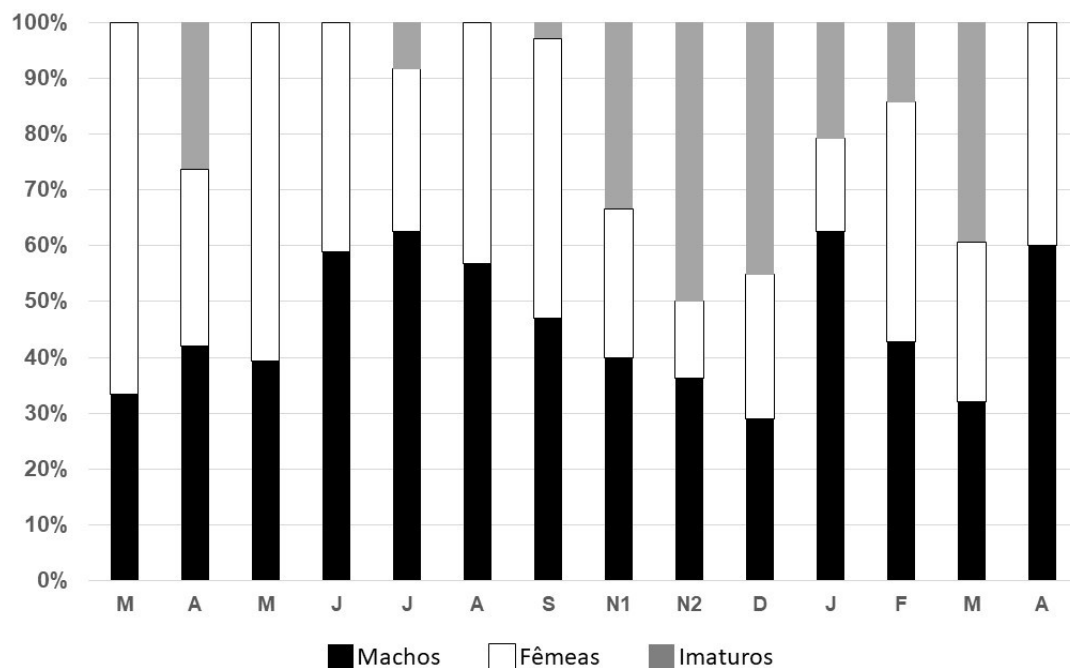


Figura 13. Sexagem de *S. nudus* representados pelos indivíduos fêmeas, machos e imaturos coletados durante os meses de março de 2022 a abril de 2023. Novembro 1 (N1) e Novembro 2 (N2) representam as duas coletas realizadas em datas distintas do mês de novembro.

A razão sexual (mensal e total) foi verificada pelo teste Qui-quadrado com intuito de verificar se a proporção encontrada segue a proporção esperada de 1:1 como proposto por Sokal & Rohlf (1995) (ver tabela 2). O Qui-quadrado foi analisado para todos os meses, mas só obteve diferença significativa em janeiro de 2023, com valores obtidos do χ^2 : 6.368 e p : 0.0116.

Tabela 2. Valores de sexagem, razão sexual, teste do Qui-quadrado e valor de p foram analisados em treze meses de estudo da população de *S. nudus* na praia da Penha/BA.

Mês	Total da amostra (N)	Machos (M)	Fêmeas (F)	Razão Sexual	Teste (χ^2)	Valor de p
Março/22	30	10	20	1:0,5	3.333	0.067
Abril/22	14	8	6	1:1,3	0.285	0.593
Maio/22	28	11	17	1:06	1.285	0.256
Junho/22	34	20	14	1:1,4	1.058	0.303
Julho/22	22	15	7	1:2,1	2.909	0.088
Agosto/22	37	21	16	1:1,3	0.675	0.411
Setembro/22	33	16	17	1:0,9	0.030	0.861
Novembro/22	20	12	8	1:1,5	0.8	0.371
Dezembro/22	17	9	8	1:1,1	0.058	0.808
Janeiro/23	19	15	4	1:3,7	6.368	0.011
Fevereiro/23	18	9	9	1:1	0	1
Março/23	17	9	8	1:1,1	0.058	0.808
Abril/23	20	12	8	1:1,5	0.8	0.371
Total:	309	167	142	1:1,18	2.022	0.155

Os resultados do presente estudo confirmaram uma razão sexual entre machos e fêmeas de 1:1,17 (M:F) de *S. nudus* da praia da Penha/BA, mostrando que durante o período estudado, a população apresentou pouca diferença entre essa relação. O resultado esperado foi semelhante aos trabalhos que foram encontrados com razão sexual de M:F próxima de 1:1 para *S. nudus* na Tailândia (Ainnoun et al., 2019), e *Golfingia margaritacea* na Argentina (Amor, 1993). Uma outra população de Sipuncula da espécie *Themiste lageniformis* foi estudada na costa da Índia e observada com uma razão sexual de 1:1 (Awati & Pradhan, 1936), sendo que outra população da mesma espécie na Flórida obteve uma razão sexual de 24:1 (Pilger, 1987). Os autores do estudo realizado na Flórida indicam que a população de *T. lageniformis* apresenta um número desproporcional de fêmeas por reproduzir a partir de partenogênese facultativa. Keferstein (1863) encontrou proporções iguais na maioria das populações de *Golfingia* (*G. elongata*, *G. vulgaris* e *G. minuta*) na França.

4.3.2 Maturação sexual e desova de *Sipunculus nudus* na Praia da Penha, BTS

Foram mensurados e fotografados um total de 3.640 ovócitos das fêmeas coletadas nos 14 meses de estudo. Os ovócitos de *S. nudus* apresentaram morfologia condizente com a descrita na literatura para o gênero (e.g. Rice, 1989). Os ovócitos foram de uma forma geral esféricos, transparentes e apresentaram um envelope espesso de até 5 μm . Os menores ovócitos livres tiveram um tamanho cerca de 6 μm de diâmetro e o maior alcançou 228 μm . O tamanho médio dos ovócitos para a população de *S. nudus* estudada foi de 118,28 μm ($\pm 7,83 \mu\text{m}$). O tamanho médio dos ovócitos variou entre populações de *S. nudus* estudadas (ver Tabela 3). Porém, muitos trabalhos não indicam quantos indivíduos foram utilizados nem quantos gametas foram medidos. Tendo em vista que as populações asiáticas provavelmente se referem a espécies distintas (Kawauchi & Giribet, 2014), os dados reprodutivos podem ajudar futuramente na delimitação destas linhagens.

Tabela 3. Comparação entre tamanho dos indivíduos, gametas, razão sexual de populações estudadas do complexo *S. nudus*.

Referências dos estudos com <i>S. nudus</i>	Comprimento do tronco (cm)	Tamanho dos adultos (mm)	Tamanho médio dos ovócitos	Período de crescimento dos ovócitos	Razão Sexual (F:M)	Localidade
Rice (1988)	-	200	178 μm	Julho e Setembro	-	Puerto Rico e Flórida, EUA
Ainnoun et al. (2019)	3,2-16,8 cm	150	180 μm	-	1:1	Trang, Tailândia
Quo & Li (1993)	-	-	170 μm	-	-	Xiamen, China
Wu (1999)	-	-	175 μm	-	-	Beihai, China
Lan & Yan (2002)	-	-	180 μm	-	-	Gulf of Tonkin, China
Wang et al. (2005)	-	-	190 μm	-	-	Zhanjiang, China
Presente trabalho	2,4 – 32 cm	332	118,28 μm	Todo o ano	1:1.17	Bahia, Brasil

A maturação dos gametas foi investigada a partir da análise dos histogramas mensais para a população em estudo. A distribuição da frequência do tamanho dos ovócitos coletados de março de 2022 a abril de 2023 está representada na Figura 14. Ao analisar os histogramas, foi possível identificar que diferentes classes de tamanho dos ovócitos estiveram presentes ao longo do ano.

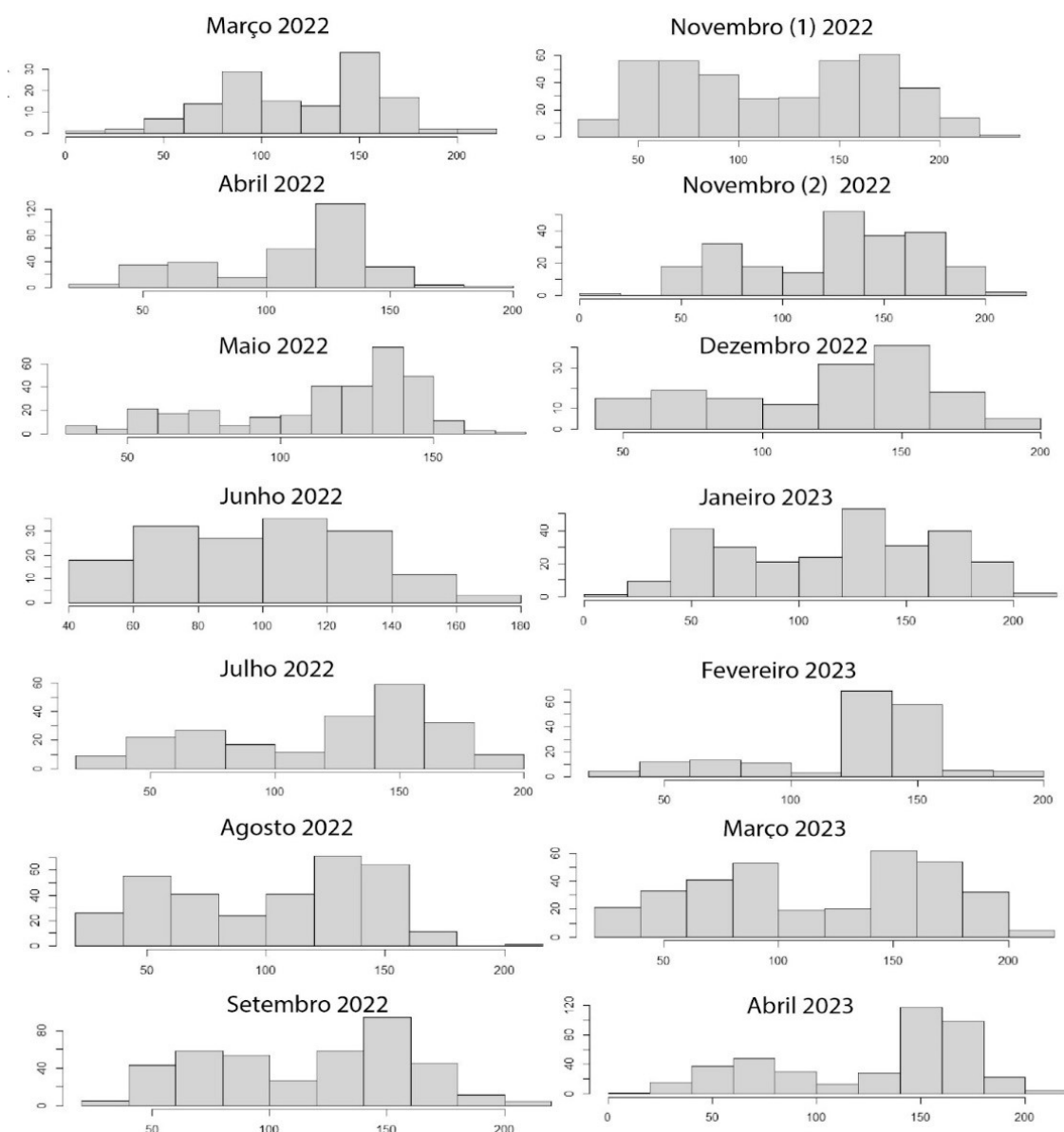


Figura 14. Distribuição de frequência de tamanho dos ovócitos celômicos coletados durante o período de março de 2022 a abril de 2023. Classes de tamanho definidas segundo a regra de Sturges.

Em todos os meses analisados foram encontrados ovócitos com pelo menos 30 μm de diâmetro coincidente com o primeiro estágio de ovogênese. Isso indica que durante todo o ano, as gônadas estão lançando ovócitos para serem desenvolvidos no celoma das fêmeas.

Em uma população estudada de *Golfingia margaritacea*, Amor (1993) também relatou que a gametogênese era ativa nas gônadas durante boa parte do ano indicativo pela presença contínua de ovócitos pequenos no celoma.

Ao longo do período amostral, observa-se uma distribuição bimodal da frequência das classes de tamanho dos ovócitos mensurados, com exceção do mês de junho de 2022 (Fig. 14). Neste mês, observou-se uma distribuição unimodal, com ovócitos de tamanhos entre 60–140 μm de diâmetro com uma maior frequência de ocorrência. De acordo com Lan & Yan (2002) e Wang et al. (2005) que estudaram populações de *S. nudus* para localidades da China, os ovócitos entre 60-70 μm foram classificados no estágio II (formação da camada folicular) e entre 120-150 μm foram classificados no estágio III (fase de crescimento). De acordo com estes mesmos autores, o último estágio de maturação (estágio V) apresentaria ovócitos com diâmetros entre 170-180 μm , que foram raros no mês de junho de 2022.

Em todos os outros meses estudados, os ovócitos em maturação (estágio V) foram encontrados em abundância nas fêmeas dissecadas. Nos meses de março e abril de 2023, houve uma maior quantidade de ovócitos maduros indicados pela maior frequência de ocorrência das classes de tamanho entre 160-200 μm de diâmetro. Desta forma, pode-se indicar que a população estudada apresentou fêmeas maduras ao longo de todos os meses do ano. Um estudo concomitante dedicado a compreender sobre a maturação sexual dos machos de *S. nudus* foi realizado e também indicou que estes indivíduos produzem gametas ao longo do ano e apresentam placas espermáticas em fase final de maturação ao longo do ano (Deisiane Oliveira, dados não publicados do Pibic 2022 – Anexo 1).

A população em estudo apresentou gametas femininos e masculinos no celoma em diferentes estágios de maturação durante todos os meses estudados. Esta capacidade de sempre apresentar na população indivíduos com gametas prontos para serem desovados indica uma estratégia reprodutiva importante para a manutenção das populações. Outras espécies de Sipuncula, como *Golfingia vulgaris* (Gonse, 1956), *Themiste petricola* (Amor, 1977), *Themiste lageniformis* e *Nephasoma minuta* também apresentaram um ciclo reprodutivo contínuo e com estratégias de desenvolvimento dos ovócitos para garantir uma reprodução anual (Gonse, 1956, Amor, 1977, Pilger, 1987). A reprodução contínua em anelídeos é tida como uma estratégia para garantir a sobrevivência da larva e o sucesso no assentamento e repopulação dos juvenis (Giangrande, 1997). Outras espécies de invertebrados marinhos na Bahia também apresentam ciclos reprodutivos contínuos

(reprodução ocorrendo ao longo do ano), como moluscos bivalves (e.g. *Anomalocardia brasiliana* – Barreira & Araújo, 2005, *Tagelus plebeius* – Ceuta & Boehs, 2012) e crustáceos decápodes (e.g. *Eriphia gonagra* – Rios, 2021).

Tabela 4. Período reprodutivo de diversas espécies estudadas de Sipuncula (modificado de Ainnoun et al., 2019). S/d: sem dados.

Species	Month												Localidade	Referência
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D		
<i>Golfingia margaritacea</i>	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Ushuaia, Argentina	Amor (1993)
<i>Phascolosoma scolops</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	Kuroshima, Japão	Catalan & Yamamoto (1994)
<i>Siphonosoma cumanense</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	Nishiwaki Beach, Japão	Catalan & Yanamoto (1994)
<i>Phascolosoma arcuatum</i>	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	Flórida	Pilger (1987)
<i>Phascolosoma arcuatum</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	Zhejiang, China	Ying et al. (2014)
<i>Aspidosiphon muelleri</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	Sudeste da Espanha	Ferrero-Vicente et al. (2009)
<i>Sipunculus nudus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	Xiamen, China	Quo et al. (2014)
<i>Sipunculus nudus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	Beihai, china	Wu & Li (1993)
<i>Sipunculus nudus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Sudeste de Beihai, China	Lan & Yan (2002)
<i>Sipunculus nudus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	Zhanjiang, China	Wang et al. (2005)
<i>Sipunculus nudus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Trang, Tailândia	Ainooun et al. (2019)
<i>Sipunculus nudus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	s/d	+	+	Praia da Penha, Brasil	Este estudo
<i>Themiste nigra</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Canadá	Adrianov & Maiorov (2010)
<i>Themiste nigra</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	Baía de Pedro, Japão	Adrianov & Maiorov (2010)
<i>Themiste lageniformis</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	Flórida, EUA	Pilger (1987)
<i>Golfingia pugettensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Costa Noroeste dos EUA	Rice (1966, 1975)

Ainnoun et al. (2019) associaram a presença de fêmeas com ovócitos maduros aos períodos de desova, não necessariamente observando a presença de gametas na coluna d'água. Estes autores apenas observaram um indivíduo com gametas no nefrídio e justificaram que os indivíduos poderiam ter desovado durante a coleta ou que os nefrídios só recolheriam os gametas imediatamente antes de ocorrer a desova. Desta forma, os dados observados no presente estudo, indicam que as fêmeas estariam aptas a desovar durante todos os meses do ano. Além disso, como também foram mensurados os comprimentos dos nefrídios, estes também poderiam indicar possíveis períodos de desova. Como observado na Figura 6 (B e C), houveram vários indivíduos com tamanhos de nefrídios anômalos (acima de 40 mm).

4.3.3 Relação com os dados ambientais

A pluviosidade na região de estudo apresentou picos nos meses de novembro e dezembro de 2021, abril e novembro de 2022 (Fig. 15A). As menores temperaturas da água do mar foram observadas de junho à setembro de 2022 (Fig. 15B) enquanto que os menores valores de salinidade foram encontrados em janeiro a março de 2023 (Fig. 15C). Com relação às alturas das marés baixas, estas foram maiores em junho e julho de 2022 e de dezembro de 2022 à janeiro de 2023.

Observa-se que nos dois meses onde o tamanho médio dos ovócitos foi menor (junho e agosto de 2022) coincidiu com os menores valores da temperatura da água (Fig. 16). Para a espécie *Golfingia margaritacea* na Argentina, os meses de desova coincidem com os meses onde a temperatura da água do mar é maior (final de fevereiro até abril – Amor, 1993). Os resultados de Lan & Yan (2002) e Wang et al. (2005) também indicam que o período de desova estaria associado quando a temperatura da água estaria entre 27 e 34°C enquanto que as populações de *S. nudus* na Tailândia em água tropicais estariam desovando o ano inteiro (Ainnoun et al. 2019), coincidindo com as populações de *S. nudus* na Bahia.

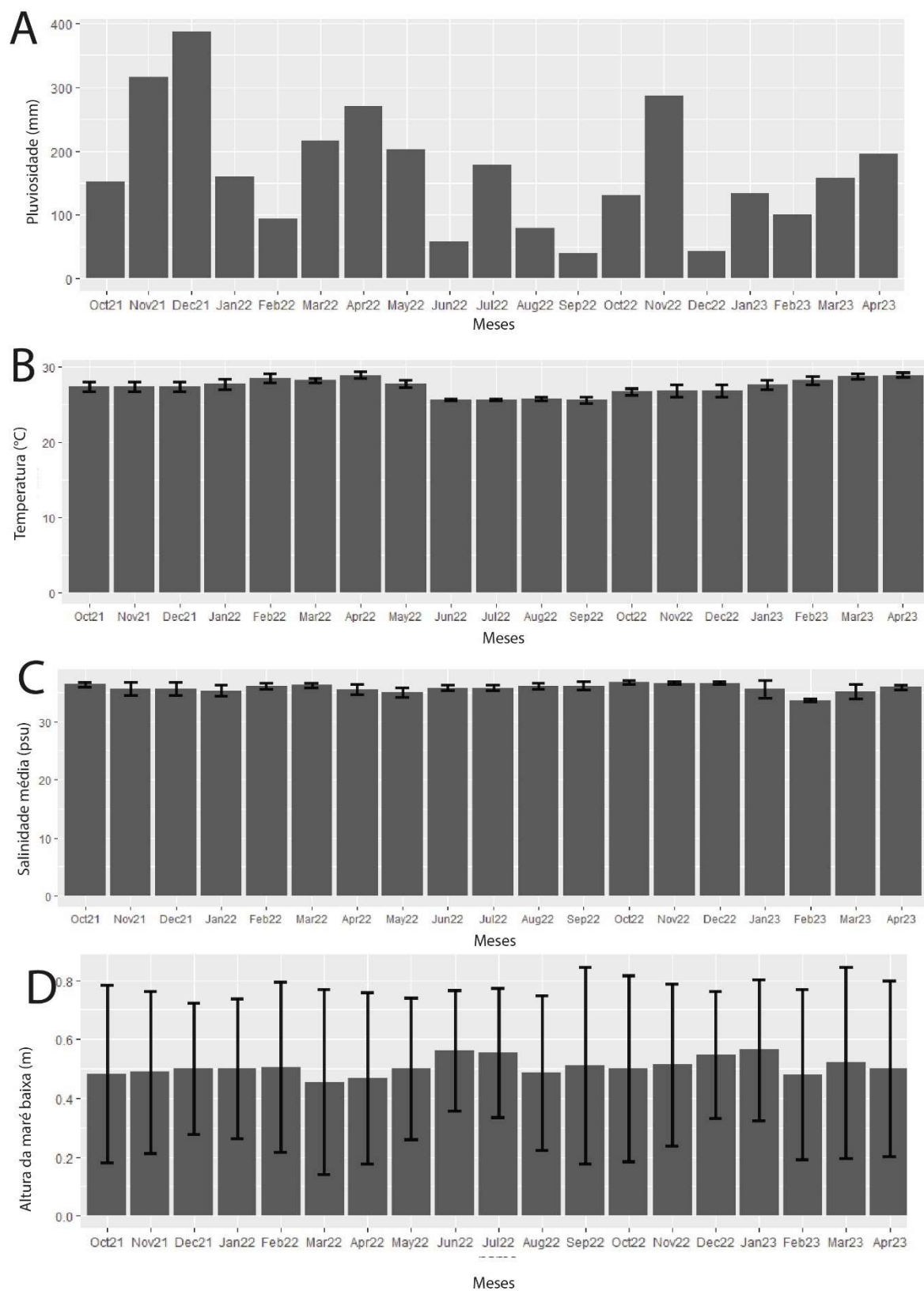


Figura 15. Dados ambientais com variação média. A, Pluviosidade (168,67 mm); B, Temperatura média (27 °C); C, Salinidade média (35.8 psu) e D, Maré baixa, com uma variação média (0.5m).

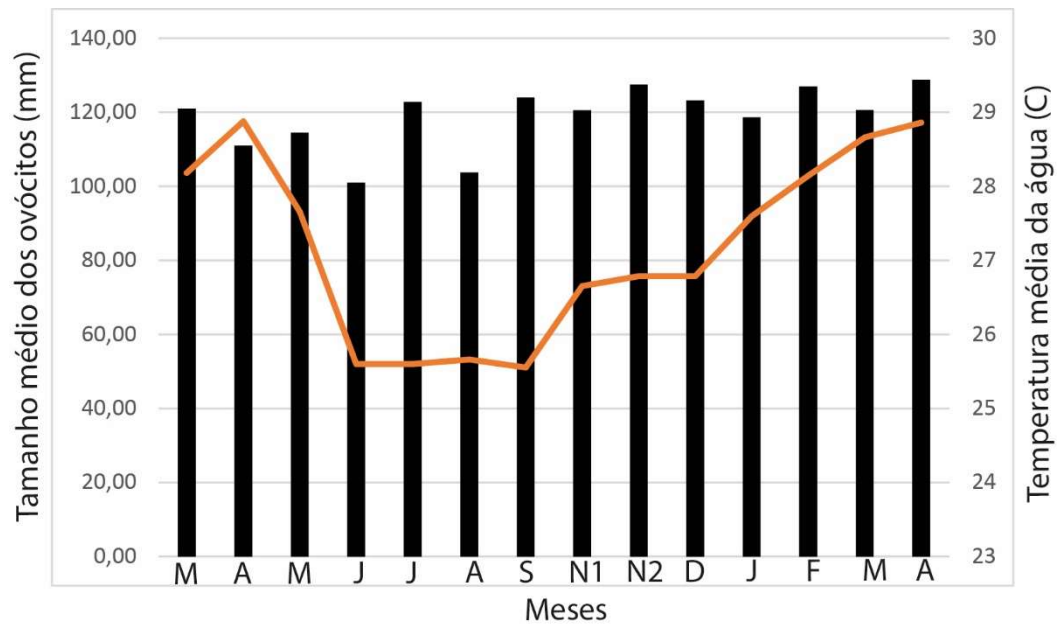


Figura 16. Relação entre o tamanho médio dos ovócitos e a temperatura média da água do mar ao longo do período de março de 2022 à abril de 2023. A linha vermelha representa os dados de temperatura média da água enquanto que as colunas pretas representas o tamanho médio dos ovócitos durante os meses analisados.

5. CONCLUSÃO

Sipuncula compreende anelídeos não segmentados o que apresenta um desafio para estimar tamanhos corpóreos. Os resultados aqui apresentados indicaram que o comprimento posterior (CP) representa bem o tamanho do corpo de *Sipunculus nudus* e não sofre interferência do grau de retração da introverte. Desta forma, apresenta potencial uso para estudos futuros da biologia populacional.

A população estudada apresentou indivíduos maduros (machos e fêmeas) e imaturos ao longo de todos os meses coletados com uma maior proporção de imaturos nos meses de novembro e dezembro de 2023.

O comprimento dos nefrídios também foi uma variável altamente correlacionada ao tamanho do corpo dos indivíduos, não apresentando diferenças entre machos e fêmeas, mas claramente distinguindo indivíduos maduros dos imaturos. A presença de nefrídios com tamanhos anômalos (acima de 40 mm) em todos os meses de coleta pode indicar períodos de desova contínua para a população estudada.

Não foi encontrado dimorfismo sexual em relação ao tamanho dos indivíduos nesta população que apresentou uma razão sexual próxima de 1:1.

Com relação à distribuição da frequência de tamanho dos ovócitos ao longo dos meses estudados, observou-se uma curva bimodal, indicando que as gônadas produzem gametas o ano inteiro que também amadurecem ao longo do ano. Gametas em todos os estágios de maturação foram encontrados em todos os meses, indicando uma reprodução contínua.

Os dados populacionais e reprodutivos indicam que a população de *Sipunculus nudus* na Praia da Penha possui produção e amadurecimento de gametas, períodos de desova e recrutamento contínuos ao longo do ano, sendo uma estratégia de vida importante para garantir o repovoamento frente às pressões da exploração comercial sofridas pela ação dos pescadores locais.

6. REFERÊNCIAS

- AINNOUN, M., ARANYAKANANDA, P., PETSOM, A. Annual reproductive cycle of peanut worm, *Sipunculus nudus* from Thailand. **Agriculture and Natural Resources**, 53: 161–167, 2019.
- AINNOUN, M., ARANYAKANANDA, P., PETSOM, A & NGAMPRASERTWONG, P. New record of peanut worm *Sipunculus nudus* from Thailand, **Phuket Marine Biology Cen. Research Bulletin**, 77: 9–24, 2020.
- AMOR, A. El ciclo reproductivo de *Themiste petricola* (Sipuncula, Golfingiidae). **Physis**, Buenos Aires, 37: 67–73, 1977.
- AMOR, A. Reproductive cycle of *Golfingia margaritacea*, a bipolar sipunculan, in subantarctic water. **Marine Biology**, Berlin, 117: 409–414, 1993.
- ANDREAE, J. Beitrage zur Anatomie und Histologie des *Sipunculus nudus* L. **Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie**, 36: 201–255, 1882.
- AWATI, P. R & PRADHAN, L.B. The anatomy of *Dendrostoma signifera* Selenka and de Man. II. **Journal of University Bombay**, 4: 114–131, 1936.
- BARREIRA, C. A. R & ARAÚJO, M. L. R. Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia brasiliensis* (GMELIN, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneriidae) na Praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 31(1): 9 – 20, 2005.
- CEUTA, LO & BOEHS, G. Reproductive cycle of *Tagelus plebeius* (Mollusca: Bivalvia) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2: 569–576, 2012.
- CIRANO, M & LESSA, G.C. Oceanographic characteristics of Baía de Todos os Santos. Brasil. **Revista Brasileira de Geofísica**, 25 (4): 363–387, 2007.
- CUTLER, E.B. Sipuncula of the western North Atlantic. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 152 (3): 105–204, 1973.
- CUTLER, N.J. & CUTLER, E.B. A revision of the genus *Nephasoma* (Sipuncula: Golfingiidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, Washington, 99(4): 547–573, 1986.
- CUTLER, E.B. & CUTLER, N.J. A revision of the of the genus *Aspidosiphon* (Sipuncula: Aspidosiphonidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, Washington, 102 (4): 826–865, 1989.
- CUTLER, E.B. The Sipuncula: Their systematics, biology and evolution. New York, **Cornell University Press**, 1994.
- CLARKE, K. R., & GORLEY, R. N. Primer. PRIMER-e, **Plymouth** 866, 2006.

- COUTINHO, M.C.L. & SANTOS, C.S.G. Morphological anomalies in polychaetes: *Perinereis* species (Polychaeta: Annelida) examples from the Brazilian coast. **Memoirs of the Museum Victoria**, 71: 45–51, 2014.
- DITADI, A.S.F. & MIGOTTO, A.E. O filo Sipuncula: **Guia de coleta, identificação e manutenção em laboratório**. Série Manuais de identificação da Fauna Brasileira. Brasília, 44, 1982.
- DIXIT, S.; SILVA-MORALES, I.; SARAVANANE, N. The genus *Aspidosiphon* Diesing, 1851 (Sipuncula: Aspidosiphonidae): description of a new shell dwelling species, notes on *Aspidosiphon* (*Paraspidosiphon*) *laevis* de Quatrefages, 1866 and current status from India, **Bulletin Marine Science**, 99(3):339–352, 2023.
- EDMONDS, S.J. A revision of the systematics of Australian sipunculans (Sipuncula): **Records of the South Australian Museum**, Adelaide, 1–74, 1980.
- FERDINANDUS, A., LILINE, S. & WAEL, S. Density and morphometric analysis of *Sipunculus nudus* from Nusalaut island beach waters central Maluku. **BIOEDUPAT: Pattimura Journal of Biology and Learning**, 2(1), 1–6, 2002.
- FERRERO-VICENTE, L.M., MARCO-MÉNDEZ, C., LOYA-FERNÁNDEZ, A., SÁNCHEZ-LIZASO, J.L. Observations on the ecology and reproductive biology of the sipunculan worm *Aspidosiphon muelleri* in temperate waters. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, Spain, 94 (E-03130): 1629–1638, 2014.
- FRANCO, L.C., MAGALHÃES, W.F., GUIMARÃES, L.S., OLIVEIRA, D., ROCHA, E.C. & KAWAUCHI, G.Y. Four new records of Sipuncula (Annelida) from Northern Brazil. **Zootaxa**, 5410 (1), 134–144, 2024.
- FIDALGO, P. C., GIL, J., PASSOS, A.M., PEREIRA, P., MELO, P., BATISTA, F. & CANCELA, F. L. The market features of imported non-indigenous polychaetes in Portugal and consequent ecological concerns. **Scientia Marina**, 70 (S3), 287–292, 2006.
- GIANGRANDE, A. Polychaete reproductive patterns, life cycle and life histories: an overview, in: Ansell, A.D. et al. *Oceanogr. Marine Biology*. Ann. Rev. 35. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review**, 35: 323–386, 1997.
- GIBBS, P.E. Gametogenesis and spawning in a hermaphroditic population of *Golfingia minuta* (Sipuncula). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, Spain, 69–82, 1975.
- GONSE, P. H. L'ovogenese Chez *Phascolosoma vulgare*. I. Definition Cytologique Des Stades de Croissance Des Ovocytes. **Acta Zoologica**, 37 (3): 193–224, 1956.
- GREEN, W. A. The annual reproductive cycle of *Phascolosoma lurco* (Sipuncula). In: **Proceedings of the International Symposium on the Biology of the Sipuncula and Echiura**. (Eds. M.E. Rice and M. Todorovic) Naucno Delo Press, Belgrade, 161–167, 1975.

HA, N.T.T., NHUAN, M.T., NGOC, N.T., DUNG, H.T. The distribution of peanut-worm (*Sipunculus nudus*) in relation with geo-environmental characteristics. **VNU Journal of Sciences, Earth Science**, 23:110–115, 2007.

HALDAR, B. P. Sipuncula. In: Fauna of Lakshadweep. **Rec. Zool. Surv.India**, 87 (1): 148–162, 1991.

HSIEH, I. T., MOK, H. K., KO, F. C & AÇIK, S. Environmental assessment of trace element bioaccumulation in sipunculan from seagrass and wetland sediments. **Environmental Monitoring and Assessment**, 185: 2269–2279, 2013.

HYLLEMBERG, J. Phylum Sipuncula. Part 1. A detailed catalogue of valid genera, species, synonyms and erroneous interpretations of sipunculans from the world, with special reference to the Indian Ocean and Thailand. **Phuket Marine Biological Research Bulletin**, 58, 1–88, 1994.

JUNWEI, LI., XIAOYONG, X., CHANGBO, Z., YONGJIAN, G & SUWEN, C. Edible peanut worm (*Sipunculus nudus*) in the Beibu Gulf: Resource, aquaculture, ecological impact and counterplan. **Journal of Oceanography of the University of China**, 16: 823–830, 2017.

KAWAUCHI, G.Y. Sipuncula do litoral sul e sudeste do Brasil. **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

KAWAUCHI, G.Y.; SHARMA, P.P.; GIRIBET, G. Sipunculan phylogeny based on six genes, with a new classification and the descriptions of two new families. **Zoologica Scripta**, 41, pp. 186–210, 2012.

KAWAUCHI, G. Y & GIRIBET, G. *Sipunculus nudus* Linnaeus, 1766 (Sipuncula): cosmopolitan or a group of pseudo-cryptic species? An integrated molecular and morphological approach. **Marine Ecology**, 35 (4): 478–491, 2014.

KEFERSTEIN, W. Beitrage zur Kenntnis der Gattung Phascolosoma F. S. Leuck. Untersuchungen über niedere Seethiere. **Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie**, 12:35–51, 1863.

KOREN, J & DANIELSSEN, D. C. Bidrag til de norske Gephyrea Naturhistorie. **Nytt Magazin for Naturvidenskapene**, 21:1 08–138, 1875.

LAN, G. B & YAN, B. The reproductive biology of peanut worm, *Sipunculus nudus*. **Journal of Fisheries of China**, 26, 503–509, 2002.

LI, J. W., ZHU, C. B., GUO, Y. J., XIE, X. Y., CHEN, S. W & ZHANG, W. W. Adaptability of *Sipunculus nudus* to three types of different sediments. **Progress in Fishery Sciences**, 36 (6): 95–99, 2015.

LI, J., XIE, X., ZHU, C., GUO, Y & CHEN, S. Edible peanut worm (*Sipunculus nudus*) in the Beibu Gulf: resource, aquaculture, ecological impact and counterplan. **Journal of Ocean University of China**, 16(5), 823–830, 2017.

LINNAEUS, C. **Systema naturae sive regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis**, 12th edn. Holmiae, Laurentii Salvii. 1 (pt 1): 1–532, 1766.

MAIOROVA, A.S.; ADRIANOV, A.V. Spermatzeugmata and sperm ultrastructure of *Thysanocardia nigra* (Sipuncula, Sipunculidea), **Journal of Invertebrate Reproduction and Development**, 47 (3): 125–131, 2005.

MURINA, G.V.V. The fauna of sipunculids from the Peruvian-Chilean Trench. **Zoologicheskii Zhurnal, Russian**, 5: 66–71, 1973.

OLIVEIRA, D.S., ROCHA, E.C., KAWAUCHI, G.Y., FRANCO, L.C., BARROSO, R. & MAGALHÃES, W.F. Peanut worms as unreported fishery resources in Brazil. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, 34(5), e4169, 2024.

PILGER, J.F. Reproductive biology and development of *Themiste lageniformis*, a parthenogenic sipunculan. **Bulletin Marine Science**, 41: 59–67, 1987.

QUO, X.W. & LI, F.X. Study on the reproductive cycle of *Sipunculus nudus*. **Journal Tropical Oceanography**, 12: 69–75, 1993.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2023.

RAJULU, G.S. & KRISHNAN, N. The occurrence of asexual reproduction by budding in Sipunculida. **Nature**, London, 223: 186–187, 1969.

REUNOV, A. & RICE, M.E. Ultrastructural observations on spermatogenesis in *Phascolion cryptum* (Sipuncula). **Transactions of the American Microscopical Society**, 112, 195–207, 1993.

RICE, M.E. Asexual reproduction in a sipunculan worm. **Science**, 167: 1618–1620, 1970.

RICE, M.E. Gametogenesis in three species of Sipuncula: *Phascolosoma agassizii*, *Golfingia pugettensis*, and *Themiste pyroides*. **Cellule**, 70: 295–313, 1974.

RICE, M.E. Observations on development and metamorphosis of *Siphonosoma cumanense* with comparative remarks on *Sipunculus nudus* (Sipuncula, Sipunculidae). **Bulletin Marine Science**, 42: 1–15, 1988.

RICE, M.E. & PILGER, J. F. “Sipuncula”. in Reproductive Biology of Invertebrates. **Wiley**. **Show full item record**, 297–310, 1988.

RICE, M.E. Comparative observations of gametes, fertilization, and maturation in sipunculans. RYLAND, J.S.; TYLER, P.A. (ed.) **Reproduction, Genetics and Distributions of Marine Organisms**. Fredensborg: Olsen and Olsen, Fredensborg, Denmark, 167–182, 1989.

RICE, M.E. Sipuncula. In: Harrison, F.W. & Rice, M.E. (eds.) Microscopic Anatomy of Invertebrates: *Onychophora*, *Chilopoda*, and Lesser *Protostomata*. **Wiley-Liss**, New York, 237–325, 1993.

RIOS, A.S. Aspectos reprodutivos do Caranguejo *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) (CRUSTACEA: DECAPODA: BRACHYURA: ERIPHIIDAE) em um ambiente recifal Brasileiro. **Dissertação de Mestrado**, Serra Talhada, PE, 1–82, 2021.

SCHULZE, A., CUTLER, E.B., GIRIBET, G. Reconstructing the phylogeny of the Sipuncula. **Hydrobiologia**. Germany, 2005, vol. 535/536, pp. 277–296.

SCHULZE, A., CUTLER, E.B., GIRIBET, G. Phylogeny of sipunculan worms: a combined analysis of four gene regions and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 42: 171–192, 2007.

SCHULZE, A., BOYLE, M.J. & KAWAUCHI, G.Y. 6. Amphinomida/Sipuncula. Annelida. Smithsonian Marine Station, 1: 177–216, 2019.

SCHULZE, A., KAWAUCHI, G. How many Sipunculan species are hiding in our oceans?. **Diversity**, 13, 2: 43, 2021.

SILVA-MORALES, I., LOPEZ-AQUINO, MJ., ISLAS-VILLANUEVA, V., BASTIDA-ZAVALA, JR & RUIZ-ESCOBAR, F. Morphological and molecular differences between the Amphiamerican populations of *Antillesoma* (Stephen & Edmonds, 1972) (Sipuncula: Antillesomatidae), with the description of a new species. **Revista de Biología Tropical**, 67: 101–109, 2019.

SILVA-MORALES, I & GÓMEZ-VÁSQUEZ J. D. First records and two new species of sipunculans (Sipuncula) from the Southern Mexican Pacific. **European Journal of Taxonomy**, 740: 77–117, 2021.

SILVA-MORALES, I. Sipúnculos (Sipuncula). Pp: 123-128, In: Bastida-Zavala, J.R & M.S. García-Madrigal (eds.). Invertebrados marinos y costeros del Pacífico sur de México. **Universidad del Mar y Geomare**, Puerto Ángel, Oaxaca, México, 295, 2022.

SHEN, X. R., JIANG, D. W., JIA, F. X & CHEN, M. H. Study on anti-senescence effect of *Sipunculus nudus* preparation. **Chinese Journal of Marine Drugs**, 1: 30–32, 2004.

SOKAL, R.R & ROHLF, F.J. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd Edition, W.H. **Freeman and Co.**, New York, 1995.

THEEL, H. Etudes sur les gephyriens inermes des mers de la Scandinavie, du Spitzberg et du Greenland. **Bihang till Kungliga Svenska Vetenskaps. Akademiens Handlingar** 3(6): 1-30, 1875.

TRUONG, M. Van Don dried Sa Sung, 2022. Disponível online em: <https://www.quangninh.gov.vn/Sites/en-us/Trang/ChiTietTinTuc.aspx?nid=5942> Consultado em Agosto de 2023.

WANG, Q.H., DU, X.D., HUANG, H.Y., QIN, H.G. Development of germ cells and reproductive cycle of *Sipunculus nudus* in Zhanjiang. **Journal Zhanjiang Ocean University** (Natural Science), 25: 5–9, 2005.

ZHANG, Q., XU, M. Z., TONG, T., TONG, W. P., DONG, L. F., CHEN, G. P., ZOU, J & JIANG, Y. Effects of dietary carbohydrate/lipid ratio on growth, body composition and digestive enzyme activities of juvenile peanut worm, *Sipunculus nudus* Linnaeus. **Chinese Journal of Animal Nutrition**, 26 (1): 153–160, 2014.

ANEXOS

Anexo 1. Distribuição de frequência de tamanho das rosetas espermáticas dos indivíduos machos coletados durante o período de abril de 2022 à abril de 2023. Classes de tamanho definidas segundo a regra de Sturges.

