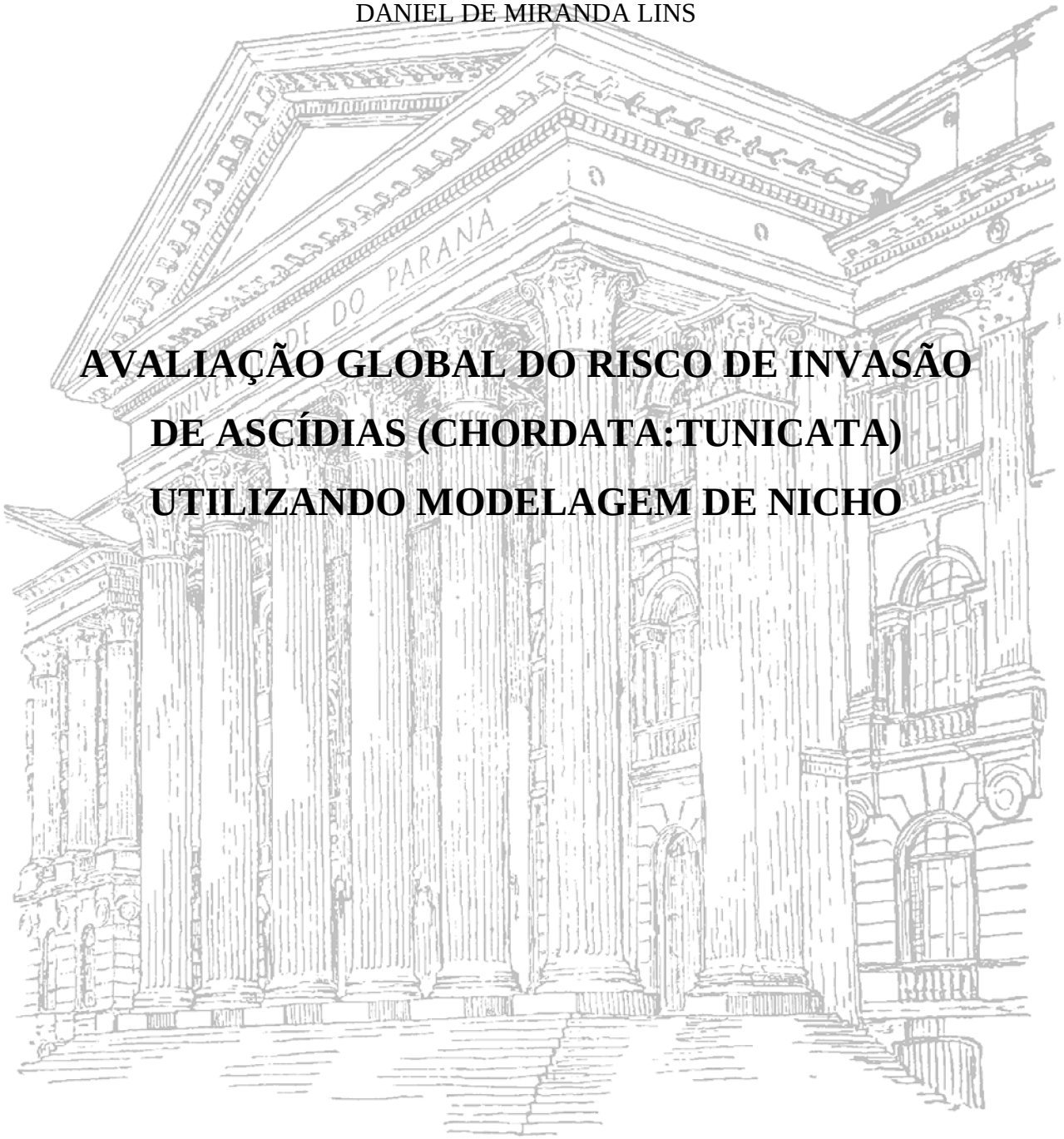
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIEL DE MIRANDA LINS



AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE INVASÃO DE ASCÍDIAS (CHORDATA:TUNICATA) UTILIZANDO MODELAGEM DE NICHO

CURITIBA

2016

DANIEL DE MIRANDA LINS

AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE INVASÃO DE ASCÍDIAS (CHORDATA:TUNICATA) UTILIZANDO MODELAGEM DE NICHO

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Conservação, no Curso de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador(a): Profª Drª Rosana Moreira da Rocha.

CURITIBA

2016

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Programa de Pós Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
Código CAPES: 40001016048P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **DANIEL DE MIRANDA LINS**, intitulada: ""**AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE INVASÃO DE ASCÍDIAS (CHORDATA:TUNICATA) UTILIZANDO MODELAGEM DE NICHO**"", após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Curitiba, 04 de Novembro de 2016.

ROSANA MOREIRA DA ROCHA
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

MARCIO ROBERTO PIE
Avaliador Interno (UFPR)

PABLO RIUL
Avaliador Externo (UFPB/RT)

Agradecimentos

Eu gostaria de agradecer primeiramente a minha orientadora Dra. Rosana Moreira da Rocha, seu apoio e governança permitiram que eu exercesse o melhor de minhas potencialidades na construção desta dissertação. Obrigado Rô, sua clareza e sabedoria tem sido inestimáveis para minha formação.

Aos meus familiares, especialmente meus pais, por me aguentarem mó tempão.

Aos grandes mestres desta vida linda e abençoada, à UFPR e staff, ao PPGECO especialmente à Marilyn secretária do programa. Ao professor Dr. Márcio Pie que aceitou o convite e fez parte da banca que avaliou este trabalho, juntamente com os outros membros da banca, Dr. Pablo Riul, avaliador externo da UFPB/RT e Dr. Leonardo Sandrini do centro de estudos do mar da UFPR.

Eu também gostaria de agradecer aos meus companheiros do Labimar e do setor de ciências biológicas, toda sua compreensão na convivência diária e pelas conversas altamente produtivas!

Também sou muito grato a toda a equipe do laboratório do Prof. Dr. Paulo De Marco a.k.a. The MetaLand, em especial aos amigos Renata Frederico e André Andrade por toda a paciência e tempo que dedicaram para me ajudar. Ao Programa de Ecologia e Evolução da Universidade Federal de Goiás, especialmente à Suely secretária do programa e aos professores Dr. Matheus Ribeiro e Dr. Fabrício Villalobos que cordialmente atenderam meus diversos pedidos de socorro.

Aos meus grandes amigos pelo companheirismo e apoio.

À CAPES pela concessão de uma bolsa de estudos durante os dois anos do curso de mestrado.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....7
MÉTODOS.....11
RESULTADOS.....17
DISCUSSÃO.....27
REFERÊNCIAS.....46

Resumo

Os ecossistemas podem ser transformados pelas espécies invasoras que causam tanto perdas ecológicas, quanto econômicas. Ascídias são invertebrados sésseis e seus representantes são modelos importantes para o estudo de dinâmicas de introduções. Estes organismos são abundantes em substratos artificiais e possuem larvas de curta duração, impossibilitando transpor grandes distâncias geográficas. Portanto, a dispersão transoceânica geralmente depende do transporte humano. Além disso, introduções recorrentes são comuns, aumentando o risco de invasão. Análises de risco que avaliem a probabilidade de organismos de portos doadores sobreviverem em portos receptores permitem antecipar medidas mitigatórias. Apresentamos uma avaliação, considerando dezenove espécies-alvo (algumas consideradas invasoras de preocupação global), utilizando como ferramenta a modelagem de distribuição de espécies baseada no nicho (MNE). A MNE consiste na combinação de variáveis ambientais e registros de presença (ocorrência) de espécies para parametrizar modelos de previsão de locais adequados à sobrevivência das espécies. Neste estudo testamos um conjunto de algoritmos (*Random Forest* – RF, *Support Vector Machine* – SVM e MaxEnt) por sua habilidade de predição, validamos utilizando medidas independentes (*area under the curve* – AUC) e dependentes do limiar (*true skill statistics* – TSS). As variáveis ambientais utilizadas na análise foram temperatura oceânica superficial, salinidade e clorofila *a*. Os três algoritmos foram bem sucedidos para as espécies (TSS>0,4) e os valores AUC para os conjuntos de modelos para cada espécie apresentaram pouca variação (AUC>0,7). Os modelos finais obtidos a partir do *ensemble* destes três algoritmos mostraram que existem condições ambientais para a expansão da distribuição de todas as espécies avaliadas em novas áreas de introdução. Considerando a adequabilidade ambiental e a conectividade entre áreas doadoras e receptoras através de rotas comerciais marítimas, foi possível determinar que as áreas mais vulneráveis à invasão pelas espécies estudadas foram o Atlântico sudoeste e o Pacífico nordeste. Regiões bastante invadidas como o Atlântico noroeste e o Mediterrâneo ainda comportam possibilidade de expansão regional das populações já conhecidas. Testando uma combinação de algoritmos informamos áreas que devem ser priorizadas para o monitoramento de futuras introduções e áreas em que medidas imediatas no controle populacional de espécies já estabelecidas devem ser tomadas devido ao risco de expansão de sua distribuição.

Abstract

Ecosystems can be transformed by invasive species that cause both ecological and economic losses. Sea squirts are sessile invertebrates and their representants are important models for the study of issues on introduction dynamics. These organisms are abundant in artificial substrates and have short life span larvae, making it impossible to transpose large geographic distances. Therefore, the transoceanic dispersion generally depends on the human transport. In addition, oftentimes introductions are common issues, increasing the risk of invasion. Risk assessments on the likelihood of donors ports species survive in recipients ports allow anticipate mitigation measures. We present an evaluation considering nineteen target species (some considered invasive of global concern), using distribution modeling based on the niche of species as tool (ENM). The ENM is the combination of environmental variables and presence records (occurrence) of species to parameterize forecasting models of suitable sites for species survival. This study tested a set of algorithms (Random Forest - RF, Support Vector Machine - SVM and MaxEnt) for its predictive ability, validated using independent (area under the curve - AUC) and dependent threshold measurements (true skill statistics - TSS). Environmental variables used in the analysis were sea surface temperature, salinity and chlorophyll *a*. The three algorithms produced good predictions for the species (TSS> 0.4) and AUC values for each species showed little variation (AUC> 0.7). The final model obtained from the ensemble of these three algorithms showed environmental conditions for the expansion of distribution of all species assessed and new suitable áreas for introductions. Considering the environmental suitability and connectivity between donor and recipient areas through maritime trade routes, it was determined that the areas most vulnerable to invasion by species studied were the Southwest Atlantic and Northeast Pacific. Regions often invaded as the Northwest Atlantic and the Mediterranean also contain possibility of regional expansion of known populations. Testing a combination of algorithms we reported areas that should be prioritized for monitoring future issues and areas where immediate action on population control of already established species should be taken because of the risk of expansion of its distribution given its environmental suitability.

Introdução

Nos ecossistemas marinhos, uma das principais causas da perda de biodiversidade são as invasões biológicas (Sala *et al*. 2000; Molnar *et al*. 2008; McGeoch *et al*. 2010). Espécies invasoras transformam os ecossistemas e, além de perdas ecológicas, podem causar perdas econômicas (Ruiz *et al*. 1997; Mack *et al*. 2000; Lockwood *et al*. 2007; Aguin-Pombo 2012). Embora mesmo espécies nativas possam se tornar invasoras (Valery *et al*. 2009), a maioria só atinge este patamar quando introduzidas fora de sua distribuição nativa (Parker 2013). A incidência de espécies causando impacto socioeconômico é muito maior entre espécies não nativas (Hassan e Ricciardi 2014), indicando que a magnitude do impacto pode ser dependente da origem biogeográfica. Uma das teorias explica que isto ocorre porque espécies introduzidas encontram a comunidade de chegada "ingênua" (Cox e Lima 2006) e, consequentemente, exercem menor pressão predatória e de competição (Colautti *et al*. 2004; Hill e Kotanen 2009). Assim, espécies invasoras pertencendo a táxons sem análogos na comunidade introduzida infligiriam maior impacto (Ricciardi e Atkinson 2004; Strauss *et al*. 2006).

Atividades antrópicas favorecem a invasão de espécies não nativas nos ecossistemas costeiros, estuarinos e marinhos. O comércio marítimo globalizado gera um fluxo intenso de espécies transportadas entre regiões biogeográficas (Kolar e Lodge 2002; Hulme 2009) e contribui para que algumas regiões sejam invadidas por diversas novas espécies todos os anos (Cohen e Carlton 1998; Reise *et al*. 1998; Coles *et al*. 1999; Hewitt *et al*. 2004). A água de lastro, o sedimento depositado no fundo dos tanques de lastro, e a incrustação de estruturas são os principais vetores associados à navegação (Molnar *et al*. 2008). Espécies transportadas nestes vetores necessitam superar uma série de barreiras ecológicas e ambientais para se estabelecer fora de sua distribuição nativa (Blackburn *et al*. 2011) e entre as espécies estabelecidas, uma fração ainda menor é capaz de estabelecer populações invasoras (Lockwood *et al*. 2007).

O aumento na pressão de propágulos aumenta a probabilidade de uma espécie se estabelecer, diminuindo os efeitos da estocasticidade demográfica e ambiental (Simberloff 2009). Múltiplas introduções de propágulos ainda intensificam invasões pela introdução de variação genética adaptativa para novas áreas e habitats (Ghabooli 2013). Esse fenômeno também pode explicar o intervalo de tempo entre o estabelecimento de uma espécie e sua invasão.

Em conjunto com o maior trânsito de vetores, espécies introduzidas em áreas com condições ambientais semelhantes às de sua origem possuem maior chance de estabelecer populações viáveis (Duncan *et al*. 1999). Além da semelhança ambiental, o aumento de estruturas artificiais (Mineur 2012) e a degradação ambiental em portos e marinas (Piola 2008) favorecem o estabelecimento e a dispersão de espécies não nativas. Estruturas artificiais frequentemente são as primeiras superfícies colonizadas por espécies não nativas recém-chegadas. Espécies incrustantes, como as ascídias, apresentam maior riqueza de espécies nestes ambientes do que em relação aos ambientes naturais adjacentes (Marins *et al*. 2010; López-Legentil *et al*. 2015).

Ascídias são invertebrados sésseis e seus representantes podem constituir ótimos bioindicadores para introduções e dinâmicas portuárias (revisão em Zhan *et al*. 2015). Estes organismos são abundantes em substratos artificiais e possuem o maior número de espécies entre os táxons sésseis registrados de espécies introduzidas (Paulay *et al*. 2002; Marques *et al*. 2013; Bishop *et al*. 2015). As ascídias possuem larvas de curta duração (Lambert 2005) impossibilitando transpor grandes distâncias geográficas. A dispersão transoceânica, por exemplo, geralmente depende do transporte humano. Além disso, introduções recorrentes são comuns, aumentando a pressão de propágulos e, então, a probabilidade de sucesso de introdução (Dupont *et al*. 2010 Goldstein *et al*. 2011 Pineda *et al*. 2011 Rius *et al*. 2012). Seu potencial de colonizar ambientes degradados e ricos em nutrientes (Lambert 2007; Bullard e Carman 2009), utilizar múltiplos vetores e ampla tolerância aos fatores ambientais podem facilitar sua sobrevivência durante os estágios de transporte e introdução. O contínuo desenvolvimento de regiões costeiras, ampliando o número e extensão de portos, marinas e cultivos são importantes facilitadores para a colonização de ascídias (Lambert e Lambert 1998; Connell 2000, Airoldi *et al*. 2015). O estabelecimento e incrustação por ascídias em substratos artificiais aumenta os custos de manejo e prejudica o desenvolvimento normal de espécies comerciais em cultivos (McKindsey *et al.* 2007), aumentando os custos de produção (Raynolds e Fortune 2003). No Brasil, a espécie *Styela plicata* tem causado prejuízos aos cultivos de bivalves no estado de Santa Catarina por que se fixam nas conchas dos mariscos e se reproduzem em grandes quantidades, causando afundamento dos cultivos devido ao excesso de peso e causando necessidade de limpeza das conchas para comercialização (Rocha *et al.* 2009). Quando incrustadas reduzem a eficiência energética das embarcações, podem entupir dutos e comprometer o funcionamento de equipamentos.

Fundamentalmente, a maior limitação à distribuição das espécies é ambiental (Soberón e Nakamura 2009). Assim, a tolerância às variações ambientais é uma característica frequentemente encontrada nas espécies invasoras. As variáveis ambientais mais importantes determinando a distribuição natural das ascídias são temperatura e salinidade (Brunetti *et al*. 1980; Nomaguchi *et al*. 1997; Sims 1984; Toop e Wheatly 1993; Vázquez e Young, 2000; Epelbaum *et al*. 2009; Madariaga *et al*. 2014), sendo a salinidade mais limitante, com poucas espécies sobrevivendo abaixo de 25 (Lambert 2005).

Uma forma de prever a distribuição geográfica das espécies é avaliando seu nicho (Peterson 2003; 2011; Thuiller *et al*. 2005; Ba *et al*. 2010; Jiménez-Valverde *et al*. 2011; Carlos-Junior *et al*. 2014). O nicho pode ser definido como um conjunto de condições ambientais dentro do qual determinada espécie sobrevive e persiste (Grinnell 1917; Hutchinson 1957) e compreende as interações bióticas e abióticas que variam sua amplitude com a dispersão (Soberón 2007). A modelagem de nicho ecológico (MNE), usualmente baseada em características ambientais ou climáticas é o método mais aplicado nas pesquisas de distribuições geográficas (Peterson *et al*. 2011). Este método utiliza registros georreferenciados de presença ou presença/ausência de indivíduos e variáveis ambientais, como as bioclimáticas, em uma abordagem correlativa, para a construção de um mapa de adequabilidade ambiental, indicando áreas onde as espécies podem sobreviver (Guisan e Zimmermann 2000; Guisan e Thuiller 2005), caso estejam dentro de seu potencial de dispersão (Pulliam 2000). Esses métodos assumem estabilidade de nicho ao longo do tempo, equilíbrio entre espécie e ambiente (i.e. a espécie é capaz de ocorrer em todas as áreas preditas como ambientalmente adequadas) e que não existe influência de interações bióticas sobre a distribuição das espécies (Araújo e Pearson 2005; Nogués-Bravo 2009). Apesar de importantes avanços na aplicação de MNE (Pearman *et al*. 2010; Silva *et al*. 2014; Valladares *et al*. 2014) e das muitas vantagens do uso da MNE serem reconhecidas (Pearson e Dawson 2003; Peterson 2006; Jeschke e Strayer 2008), ainda existem ressalvas a respeito de sua utilização (Jiménez-Valverde *et al*. 2008; Araújo e Peterson 2012). Críticas ao uso da MNE baseiam-se principalmente na falta de verificação de seus pressupostos, na desconsideração das incertezas dos modelos (ex. projeção de distribuições em climas não análogos), nas estratégias de avaliação (Araújo e Guisan 2006; Hijmans 2012; Wenger e Olden 2012) e no fato da MNE não considerar aspectos chave da biologia das espécies, como interações

interespecíficas, capacidade de adaptação e dispersão (Schwartz 2012; Addison *et al*. 2013).

Considerar a dispersão de espécies melhora significativamente o desempenho dos modelos (Václavík e Meentemeyer, 2009). Alguns estudos focados em espécies exóticas utilizam co-variáveis que possam estar relacionadas com o transporte e introdução como *proxies* para a dispersão (ex. Muñoz e Real 2006; Dullinger *et al*. 2009), enquanto outra opção é utilizar a estimativa de pressão de propágulos para balancear os modelos previstos pela MNE e argumentar sobre o risco de invasão. No ambiente marinho a introdução de espécies não nativas está associada principalmente às rotas de navegação, desta forma, análises de risco se beneficiam da combinação de modelos de nicho ambiental e *proxies* de vetores associados ao transporte de espécies (Herborg *et al*. 2007; 2009; Crafton 2015; Leidenberger *et al*. 2015), principalmente para aqueles grupos de organismos com capacidade limitada de dispersão natural.

O objetivo desse trabalho foi entender as condições ambientais que permitem a sobrevivência de ascídias com histórico de introdução e prever o risco de introdução e invasão em novas regiões, contribuindo assim com uma avaliação do risco de espécies-alvo se tornarem invasoras. Esta análise foi feita a partir de um sistema de modelagem de distribuição de espécies baseado em nicho ambiental e ponderado pela probabilidade de transporte, utilizando a semelhança ambiental e conectividade das regiões oceanográficas através de rotas marítimas.

Métodos

Ocorrências

As espécies incluídas no estudo foram escolhidas de acordo com os seguintes critérios: registro conhecido de introdução em, pelo menos, um local, diversidade de organização corporal e filogenética. A partir desta seleção foram incluídas então as seguintes espécies: sete da ordem Phlebobranchia (*Ascidia sydneiensis*, *Ascidiella aspersa*, *Ciona intestinalis*, *C. robusta*, *C. savignyi*, *Corella eumyota* e *Ecteinascidia turbinata*), quatro de Aplousobranchia (*Clavelina lepadiformis*, *C. oblonga*, *Didemnum perlucidum* e *D. vexillum*) e oito de Stolidobranchia (*Botrylloides nigrum*, *B. violaceus*, *Botryllus schlosseri*, *Microcosmus exasperatus*, *M. squamiger*, *Molgula manhattensis*, *Styela clava* e *S. plicata*), sendo 7 coloniais e 12 solitárias.

Os registros de ocorrência foram obtidos de dados publicados em estudos taxonômicos, ecológicos e oceanográficos. Os registros mais antigos são do final do século XVIII e, portanto, as coordenadas geográficas nesses e em muitos outros estudos não é indicada e foi adquirida no sítio Google Mapas online de acordo com as indicações sobre as localidades de coleta. Em alguns casos a imprecisão na indicação das estações de coleta levou a uma busca extensiva por aspectos históricos e regionais como, por exemplo, o nome de uma estação de mergulho, porto ou marina que tiveram seus nomes alterados ao longo dos anos. Em outras situações, a indicação da localidade de coleta se limitou ao nome de baías ou ilhas com extensões maiores do que a extensão das quadrículas utilizadas neste estudo, obrigando a definição arbitrária da coordenada dentro de um quadrante em uma região onde seria provável o autor ter coletado a espécie. Para isso analisamos criteriosamente as paisagens através das imagens aéreas do Google Mapas considerando a presença de costões rochosos, praias arenosas, estuários e os métodos tradicionais de estudos com ascídias introduzidas (por exemplo a existência de um porto ou marina) a fim de preencher as lacunas com a seleção de regiões que poderiam ter favorecido o registro de ocorrência da espécie. Mesmo com as recentes atualizações taxonômicas envolvendo complexos de espécies e sinonímias, o grupo apresenta lacunas no conhecimento de sua história evolutiva e distribuição geográfica. Utilizamos registros de ocorrência sem distinção entre nativo/não nativo, pois além do fato de que a região nativa de muitas espécies não ser bem conhecida, o uso conjunto de ambas as distribuições é um melhor preditor para parametrizar modelos de nicho. As avaliações assim obtidas são consideravelmente melhores, sugerindo maior

consenso entre as técnicas de modelagem do que quando utilizando apenas distribuições nativas (Broennimann e Guisan 2008).

Variáveis ambientais

O conjunto de dados Bio-Oracle (Tyberghein *et al*. 2012) possui 23 variáveis macroecológicas em resolução espacial com quadrículas de 5 arcmin (aproximadamente 9 km^2). Considerando que muitas destas variáveis são bastante correlacionadas, foram selecionadas apenas aquelas que representam dimensões ambientais fundamentais para a sobrevivência de ascídias e podem constituir elementos determinantes dos padrões globais de sua distribuição. As variáveis utilizadas foram: temperatura, salinidade e clorofila *a*. As variáveis de temperatura e clorofila estão disponíveis em valores máximos, mínimos, a diferença ou amplitude de variação e a média. Controlar a multicolinearidade entre variáveis é essencial para aperfeiçoar os modelos (Jiménez-Valverde *et al*. 2011; Silva *et al*. 2014) e, por essa razão, foram descartadas as variáveis mínima e média de temperatura e clorofila, e também a amplitude de variação de clorofila por apresentarem alta colinearidade ($R > 0,9$). Justificamos utilizar as variáveis amplitude de variação e máxima de temperatura, em detrimento da média, por serem melhores indicadoras dos limites fisiológicos e da plasticidade das espécies; salinidade por ser a condição mais limitante para ascídias, apesar de disponível apenas em valores médios; e a variável concentração de clorofila que apresenta valores que refletem todo o conjunto de biomassa autotrófica nas zonas costeiras e representa o principal recurso alimentar para organismos filtradores como as ascídias.

Conforme recomendações fornecidas junto com o conjunto de dados Bio-Oracle, a fim de evitar a maioria dos potenciais erros que se situam em regiões de alta latitude limitamos nossas análises às latitudes de 70˚N a 70˚S, considerando a extensão média da Zona Econômica Exclusiva (ZEE) dos países, convencionada na organização das nações unidas (ONU) pela distância de 200 milhas náuticas da costa ou 370 km e, quando necessário, incluímos também um raio de 12 km ao redor dos registros de ocorrência em oceano aberto afastado da costa.

Limitar a extensão do estudo às áreas acessíveis para as espécies (como a plataforma continental para ascídias) é conceitual em estudos de modelagem de nicho, mas também operacional, incluindo a parametrização dos algoritmos, validação dos modelos e comparação entre algoritmos (Barve *et al*. 2011). Tem efeito primordial na prevalência (a proporção de locais em que a espécie é registrada), o que afeta as

métricas de avaliação e precisão dos modelos presença/*background* como MaxEnt (Phillips, 2008; Veloz, 2009). Desconsiderar a extensão da área acessível para as espécies ao delimitar a área de estudo pode inflar artificialmente as avaliações em todos os algoritmos (Elith e Graham, 2009) particularmente, em resultados de testes de validação utilizando *receiver operation characteristic* (ROC AUC) e medidas com sensibilidade e especificidade (Lobo *et al*. 2008).

Modelagem de Nicho Ecológico (MNE)

A abordagem utilizada neste estudo é baseada na hipótese de que uma associação robusta de variáveis ambientais preditoras da sobrevivência de uma espécie pode ser estabelecida a partir da identificação das variáveis ambientais associadas ao conjunto de pontos com registro de presença da espécie e em 10000 pontos aleatorizados no *background* em áreas acessíveis, mas sem registros de ocorrência (Phillips e Dudík, 2008). Depois de reunidas informações sobre localidades de ocorrência (presença) e parâmetros ambientais associados a estas localidades, foram excluídos os registros "duplicados" permitindo apenas um registro de cada espécie por quadrícula e parametrizados cinco algoritmos para criar modelos de nicho utilizando o *software* estatístico R: (i) Envelope Score, uma versão quantitativa de Bioclim (BIO) (Piñeiro *et al*. 2007); (ii) Distância de Mahalanobis (MAHAL) (Fraber e Kadmon, 2003); (iii) MaxEnt (Phillips *et al*. 2006); (iv) Support Vector Machine (SVM) (Guo *et al*. 2005); e (v) Random Forest (RF) (Prasad *et al*. 2006). Também utilizamos o ambiente MaxEnt para investigar a contribuição percentual de cada variável para o modelo final. Nesta investigação, MaxEnt utiliza o desempenho de cada variável no modelo em termos de sua importância para explicar a distribuição conhecida das espécies (Phillips *et al*. 2004).

Os modelos possuem diferentes concepções e utilizam diferentes parâmetros e, desta forma, representam diferentes características do mundo real (nicho e distribuição geográfica). Uma forma descontraída de classificar os modelos por suas características foi apresentada por Rangel e Loyola (2012) através do uso de metáforas como: modelo "aquário" para os modelos de distância e envelope MAHAL e BIO que utilizam apenas registros de ocorrência (presença) e consideram que a distribuição geográfica das espécies é limitada por sua tolerância aos fatores ambientais; estes modelos são transparentes e simples, pois "o peixe não pode viver fora do aquário". Modelos de aprendizado de máquina ou modelos "cofre" como MaxEnt, SVM e RF utilizam tanto

os registros de presença quanto pontos em *background*, ou ausências, no caso do RF; estes modelos são mais complexos e opacos, dando sentido à metáfora, pois exigem um esforço descomunal para entender a organização dos itens considerados para gerar as previsões.

Como classificadores de presenças e ausências de espécies em gradientes ambientais de adequabilidade, a utilização aplicada dos MNE em programas de monitoramento ambiental requer conhecimento sobre os seus desempenhos preditivos e todos os modelos possuem vantagens e desvantagens com relação aos atributos – generalidade, realismo e precisão, sendo importante considerar as incertezas nas diferenças de seus resultados (Diniz-Filho *et al.* 2009). Determinamos o balanço final entre estes atributos avaliando os modelos com dados "independentes" em cinco réplicas para cada espécie por algoritmo, restringindo aleatoriamente 70% dos registros de ocorrência para treino e 30% para teste, com os quais validamos os modelos gerados utilizando medidas independentes (*area under the curve* – AUC) e dependentes do limiar (*true skill statistics* – TSS) (Liu et al. 2011), resultando no total 475 outputs de resposta.

Os algoritmos com o maior desempenho preditivo foram parametrizados utilizando todos os registros (100% das ocorrências) sem partição e sem réplicas e suas previsões foram posteriormente combinadas por meio de um procedimento denominado *ensemble* (Diniz-Filho *et al*. 2009). Procedimentos do tipo *ensemble* ponderam a contribuição dos algoritmos por seu desempenho preditivo (neste caso, resultados do TSS) com o objetivo de gerar um mapa combinado que realça as semelhanças entre os algoritmos. A utilização deste tipo de procedimento se baseia no fato de que áreas comuns preditas por todos os algoritmos dificilmente seriam artefato de suas particularidades (Araújo e New 2007).

As probabilidades em percentuais contínuos resultantes dos modelos permitem avaliar todos os aspectos de sua acurácia: a capacidade de um modelo diferenciar presenças de ausências e; a probabilidade de uma previsão de um modelo refletir uma proporção conhecida dos locais de ocorrência da espécie. A maioria dos índices que avaliam esses atributos só podem ser aplicados a resultados binários, sendo necessário transformar resultados contínuos em binários (presença e ausência), utilizando um limiar específico. Existem diversas técnicas para a seleção do limiar, sendo que o derivado da curva ROC é o ponto que minimiza ambos os erros de omissão (ausências

atribuídas a quadrículas com presença) e comissão (presenças atribuídas a quadriculas com ausência) (Fielding e Bell 1997; Liu *et al*. 2005; Jimenez-Valverde e Lobo 2007).

Todos os índices que avaliam o sucesso das MNEs são baseados em sucessos e erros das predições quantificados em uma matriz dos erros, de onde derivam medidas de sensibilidade e especificidade. Sensibilidade é a proporção de presenças observadas e previstas como tal e, desta forma, indiretamente quantifica erros de omissão (erro tipo-II = falso negativo), enquanto a especificidade é a proporção de ausências previstas como tal, quantificando erros de comissão (erro tipo-I = falso positivo). Essas medidas são independentes entre si e também independentes da prevalência (a proporção de locais em que a espécie é registrada) (Allouche *et al*. 2006). O índice AUC é obtido plotando verdadeiros positivos (sensibilidade) contra valores falso-positivos (1-especificidade), cuja curva é conhecida comumente como a curva ROC (Fielding e Bell 1997). Em outras palavras, utilizando as observações de presenças e ausência (pontos no *background*, ou quadrículas de ausência da espécie, neste caso) para medir a probabilidade de um modelo acertar uma presença aleatória contra uma ausência ou ponto no *background* aleatório, o AUC é interpretado como a média da sensibilidade de todos os possíveis valores de especificidade, produzindo uma métrica de ajuste para o modelo ao indicar o ponto de inflexão da curva ROC que maximiza sensibilidade e especificidade (limiar que maximiza os acertos). Um valor de AUC de 0.5 ou inferior indica que o modelo não é melhor que o acaso, enquanto o valor 1.0 indica o ajuste perfeito.

O *true skill statistics* (TSS) é uma medida dependente do limiar, sugerida para estudos formulando predições de presença-ausência/*background*, mas que não é afetada pelo número de pontos utilizados para validação, ou seja, é menos sensível à prevalência (Liu *et al*. 2009) que o método AUC (Lobo *et al*. 2008). Ambas as métricas produzem resultados correlacionados (Allouche et. al. 2006) e são calculadas utilizando 10000 pontos no *background* como pseudo-ausências (Liu *et al*. 2009). No caso do índice TSS, a taxa média do sucesso de predição varia entre -1 e 1, onde 1 indica ajuste perfeito e valores < 0 indicam desempenho não melhores que o acaso.

Pressão de propágulos

Ao analisar o risco de espalhamento de espécies exóticas, não é suficiente avaliar apenas a adequabilidade ambiental. Há necessidade de uma avaliação conjunta da conectividade entre regiões doadoras e receptoras, possibilitando transporte das

espécies, bem como de uma avaliação da pressão de propágulos que alcançam a região receptora. O transporte de organismos juvenis e/ou adultos pela frota de navios mercantes é o principal vetor associado às introduções marinhas (Coutts e Dodgshun 2007; Hewitt *et al*. 2009). Seebens e colaboradores (2013) desenvolveram um índice de vulnerabilidade que foi calculado para 15 regiões costeiras (modificado de Spalding *et al*. 2007), utilizando informações como: o volume de carga comercializado ou classes de embarcações mercantes; a semelhança e sazonalidade ambiental e comercial entre as regiões fonte e destino; as distâncias das viagens; e a degradação ambiental nos ambientes de chegada. Este índice foi utilizado no presente estudo para definir quais seriam as regiões potencialmente doadoras e de maior conectividade com cada região potencialmente receptora (Figura 3, Seebens *et al*. 2013). A informação sobre a presença e/ou ampla distribuição das espécies de ascídias nas regiões doadoras juntamente com o índice de conectividade de Seebens *et al*. (2013) foram utilizados como um *proxy* para a pressão de propágulos na região receptora. Havendo também adequabilidade ambiental para estas espécies na região receptora, então indicamos o risco de introdução da espécie para a região.

Resultados

Foram analisadas 19 espécies das quais apenas uma não possui registro de ocorrência no hemisfério sul (HS) e todas ocorrem no hemisfério norte (HN), que concentra a maior parte dos registros de espécies. A maioria das espécies analisadas está amplamente distribuída latitudinalmente e os registros de ocorrência estão associados a quadrículas que apresentaram elevada variação térmica, seguida de menores variações de biomassa autotrófica (clorofila *a*) e salinidade, respectivamente (Tab. 1).

Apresentaram distribuição restrita à zona temperada as espécies: *Ciona intestinalis*, *C. savignyi*, *Clavelina lepadiformis, Corella eumyota, Didemnum vexilum, Molgula manhattensis e Styela clava*, das quais apenas *C. intestinalis* não possui registro no HS. As espécies que apresentaram a faixa mais estreita de tolerância térmica foram *Didemnum perlucidum*, que ocorreu na zona tropical com variação de temperatura de 16,2 ºC; *Botrylloides nigrum, Ecteinascidia turbinata* e *Clavelina oblonga* com variação de 20 ºC nas zonas tropicais e subtropicais e distribuídas nos dois hemisférios (com ressalva à espécie *E. turbinata* que predomina no HN e possui apenas um registro de ocorrência no HS em zona equatorial). As espécies *Ascidia sydneiensis, M. manhattensis, Botrylloides violaceus* e *S. clava*, apresentaram as maiores amplitudes térmicas (>31,5 ºC), ocorrendo nas zonas climáticas subtropical e temperada. As espécies apresentando amplitudes térmicas intermediárias de variação (21 – 31 ºC) foram *Botryllus schlosseri*, *A. aspersa*, *C. savignyi*, *Styela plicata*, *D. vexilum*, *C. intestinalis*, *C. lepadiformis*, *Ciona robusta, Microcosmus exasperatus, Microcosmus squamiger* e *Corella eumyota* (Fig. 1).

Salinidade varia pouco nos oceanos, contudo, existe variação significativa nas regiões costeiras, principalmente as estuarinas, que sofrem variações muito maiores incluindo registros de espécies em situações extremas que fogem à maior distribuição dos dados (veja os pontos indicando *outliers* na figura 2). A salinidade se manteve entre 32 – 35 ppm na maioria dos registros para todas as espécies, contudo *C. intestinalis*, *M. manhattensis* e *A. aspersa* foram registradas também em concentrações de salinidade muito inferiores (< 10 pps).

A concentração do pigmento fotossintético clorofila *a* em águas rasas reflete qualquer tipo de biomassa autotrófica e suas concentrações médias para todas as espécies foi de < 10 mg/m^3. De fato, todas as espécies foram registradas em regiões com

Tabela 1: Resumo das variáveis ambientais utilizadas nos modelos de nicho ecológico de espécies de ascídias com registro de introdução e contribuição em porcentagem das variáveis utilizadas para o desempenho preditivo do modelo MaxEnt. As informações ambientais foram extraídas das quadrículas com registro de ocorrência das espécies.

			Environmental variables						Percent contribution (%)			
Species	Autor	n	[1]SST (˚C)		SAL (PSS)		CHL(mg/m³)		CHLO	SST	SAL	SSTr
			min	max	mean	sd	mean	sd	max	max	mean	range
Ascidiella aspersa	(Müller, 1776)	164	-0	31	33.2	5.37	4.55	5.02	43	21	12	24.3
Ascidia sydneiensis	(Stimpson, 1855)	194	1	35	34.6	1.23	2.41	3.40	50	37	8	5.2
Botryllus schlosseri	(Pallas, 1774)	149	-0	31	33.8	3.78	3.98	4.10	47	20	9.7	23.4
Botrylloides nigrum	(Herdman, 1886)	97	14	34	36.1	1.23	2.06	2.99	34	40	19.6	7.4
Botrylloides violaceus	(Oka, 1927)	116	-1	31	33	1.53	4.9	5.36	42	21	12.6	24.7
Ciona intestinalis	(Linnaeus, 1767)	87	-2	26	29.1	6.92	7.98	8.50	68	16	3.5	12
Ciona robusta	(Hoshino e Tokioka, 1967)	81	3.8	30	35.2	2.18	4.43	5.90	50	29	18.6	2.1
Ciona savignyi	(Herdman, 1882)	47	0.3	31	32.8	1.74	6.24	7.89	61	20	10.1	9.5
Clavelina lepadiformis	(Müller, 1776)	52	1.1	29	34.7	3.11	3.78	4.37	41	21	20.3	18.2
Clavelina oblonga	(Herdman, 1880)	57	11	31	35.8	0.78	3.84	5.47	42	35	19.4	3.7
Corella eumyota	(Traustedt, 1882)	128	2.6	23	34.8	0.72	3.65	2.87	38	37	21.8	4.1
Didemnum perlucidum	(Monniot F, 1983)	52	16	32	35.4	0.66	2.17	3.17	38	45	8.3	8.6
Didemnum vexillum	(Kott, 2002)	101	-0	29	32.4	2.21	7.07	5.94	59	29	5.4	6.8
Ecteinascidia turbinata	(Herdman, 1880)	37	12	32	36	1.49	3.38	4.05	37	37	22.8	3.6
Microcosmus exasperatus	(Heller, 1878)	184	11	35	36.2	1.75	2.05	2.79	40	33	23	4.1
Microcosmus squamiger	(Hartmeyer e Michaelsen,1928)	105	10	34	36.1	1.36	2.15	2.07	36	22	24.9	17.3
Molgula manhattensis	(De Kay, 1843)	87	-1	32	30.6	5.61	9.8	8.09	74	12	4.1	10.2
Styela clava	(Herdman, 1881)	107	-2	30	32.4	2.73	5.6	5.44	53	22	6.3	19.3
Styela plicata	(Lesueur, 1823)	154	2.5	32	35	2.04	4.53	5.13	55	28	8.4	9

[1] SST = Temperatura oceânica superficial mínima (min) e máxima (max); SAL = médias de salinidade; (CHL) clorofila *a*; sd = desvio padrão.

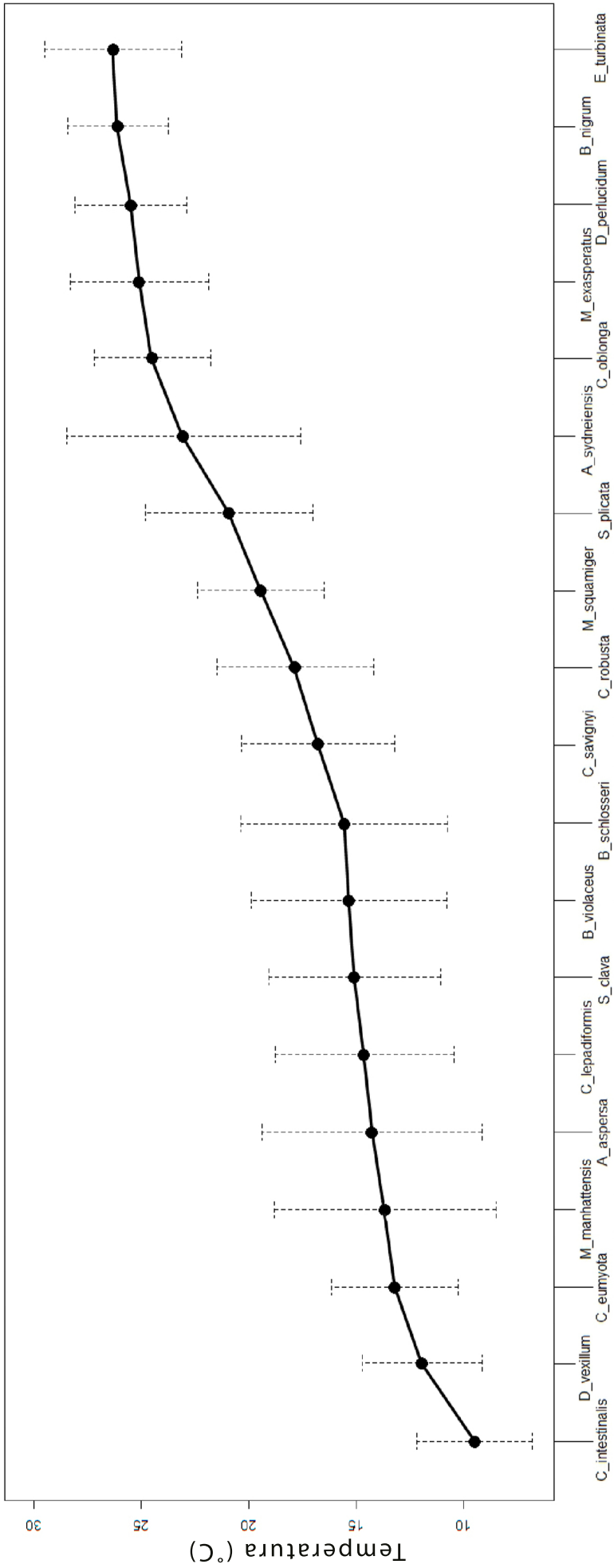


Figura 1: Temperatura média e desvio padrão dos registros de ocorrência de ascídias. Lista das espécies de acordo com a Tabela 1.

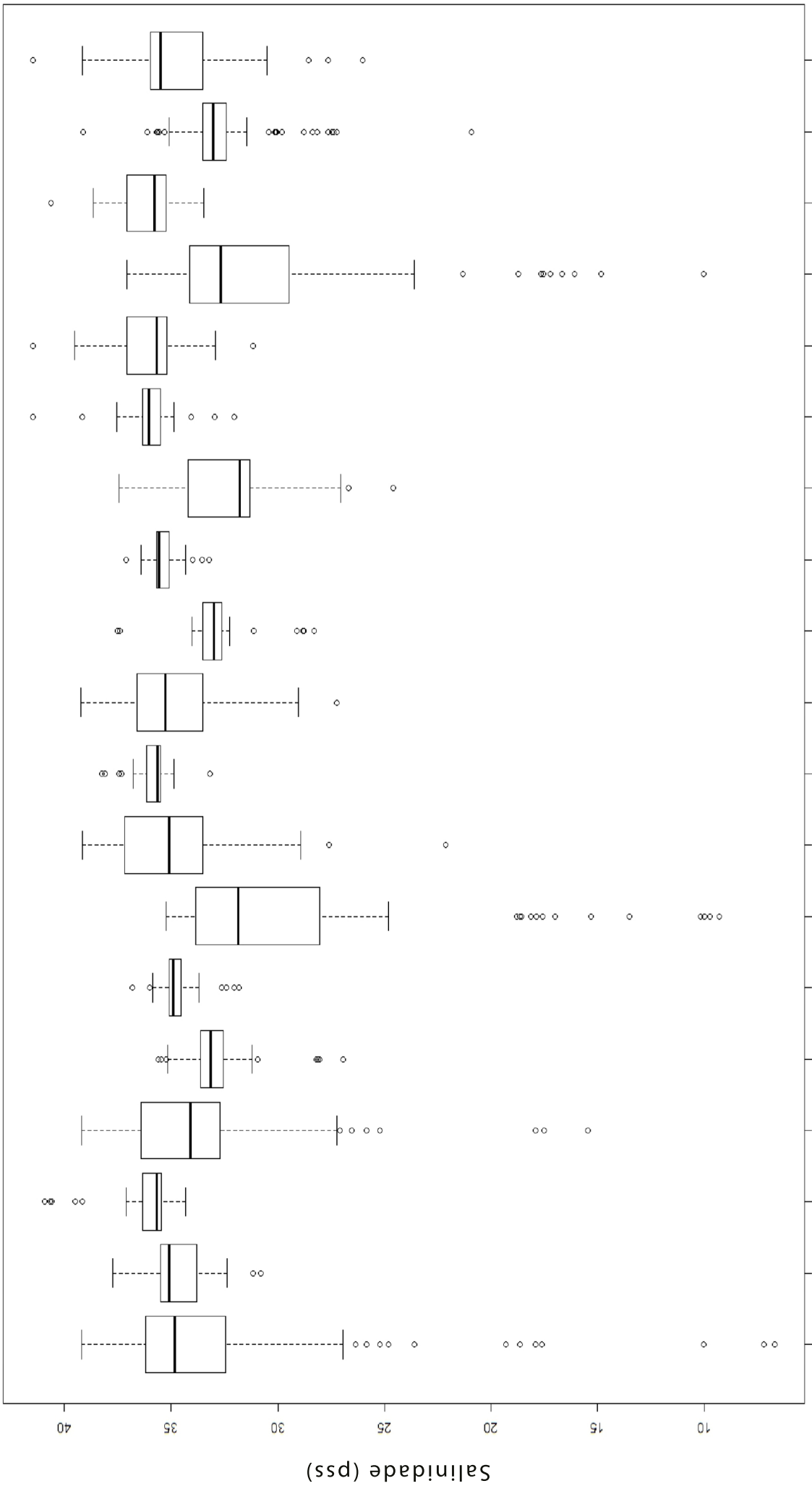


Figura 2: Boxplot da variável salinidade média (PSS) dos registros de ocorrência de ascídias, indicando a mediana, os quartis e *outliers* (o quartil inferior contém 25% das menores medidas e o quartil superior contém 75% de todas as medidas). Os pontos indicam *outliers*. Lista das espécies de acordo com a Tabela 1.

concentração do recurso tão baixa quanto 1 mg/m^3, exceto *M. manhattensis* que só ocorreu em concentrações mais elevadas.

O número de registros únicos por espécie variou de 37 a 194. Embora amplamente distribuídos latitudinalmente, algumas regiões apresentam maior diversidade e abundância do que outras (Fig. 3). *Botryllus schlosseri* é a espécie mais distribuída e ocorre em 13 regiões, sendo amplamente distribuída em 8 delas. Outras espécies amplamente distribuídas foram *S. plicata*, *M. exasperatus*, *A. sydneiensis* e *A. aspersa*, todas presentes em 10 ou mais regiões. A maioria das espécies ocorre em um número intermediário de regiões (5 – 8): *C. lepadiformis*, *D. perlucidum*, *C. oblonga*, *B. violaceus*, *C. eumyota*, *M. squamiger*, *S. clava*, *M. manhattensis*, *C. robusta*, *D. vexillum* e *B. nigrum*. Com distribuição restrita a três ou quatro regiões, foram *C. intestinalis*, *C. savignyi* e *E. turbinata*.

Das 19 espécies analisadas 14 apresentam registro no Mar Mediterrâneo (Med) que apresenta a maior diversidade de espécies entre as regiões. Também apresentando grande diversidade, as regiões Noroeste Pacífico (NWPac) e Australasia temperada (TAus) com registro para 13 espécies; seguidas pelo Mar Lusitano (Lusit) com 12, Noroeste Atlântico (NWAtl) com 11, Norte da Europa (NES), Nordeste Pacífico (NEPac) e Sudoeste Atlântico (SWAtl) com 10 espécies, Sudeste Atlântico (SEAtl) e Tropical Leste Atlântico (TEAtl) com 9 espécies, as regiões Tropical Oeste Atlântico (TWAtl), Oeste Indo Pacífico (WIPac) e Central Indo Pacífico (CIPac) com 8 espécies. As regiões que apresentam a menor diversidade são o Sudeste Pacífico (SEPac) com 3 e Tropical Leste Pacífico (TEPac) com 2 espécies.

Os modelos correlativos só de presença BIO e MAHAL geraram previsões muito diferentes entre si. O modelo BIO gerou previsões com áreas de adequabilidade concisas, restritas aos registros de presença, de maneira semelhante às previsões do modelo MaxEnt. As previsões geradas com o modelo MAHAL atribuíram adequabilidade para todas as espécies para quase todas as quadrículas incluídas no estudo, sem distinção entre os ambientes e concluímos que não se adequou ao nosso conjunto de dados, gerando previsões sem relevância. Os modelos BIO e MAHAL não puderam ser avaliados utilizando o índice TSS que utiliza também registros de ausências, e por isso não tiveram suas previsões incluídas nos modelos finais.

Os modelos SVM, RF e MaxEnt foram bem sucedidos em sua capacidade de predição de áreas adequadas (TSS > 0,4) e apresentaram valores AUC altos (AUC > 0,7) e com pouca variação entre os modelos testados. Ambos os índices indicaram que

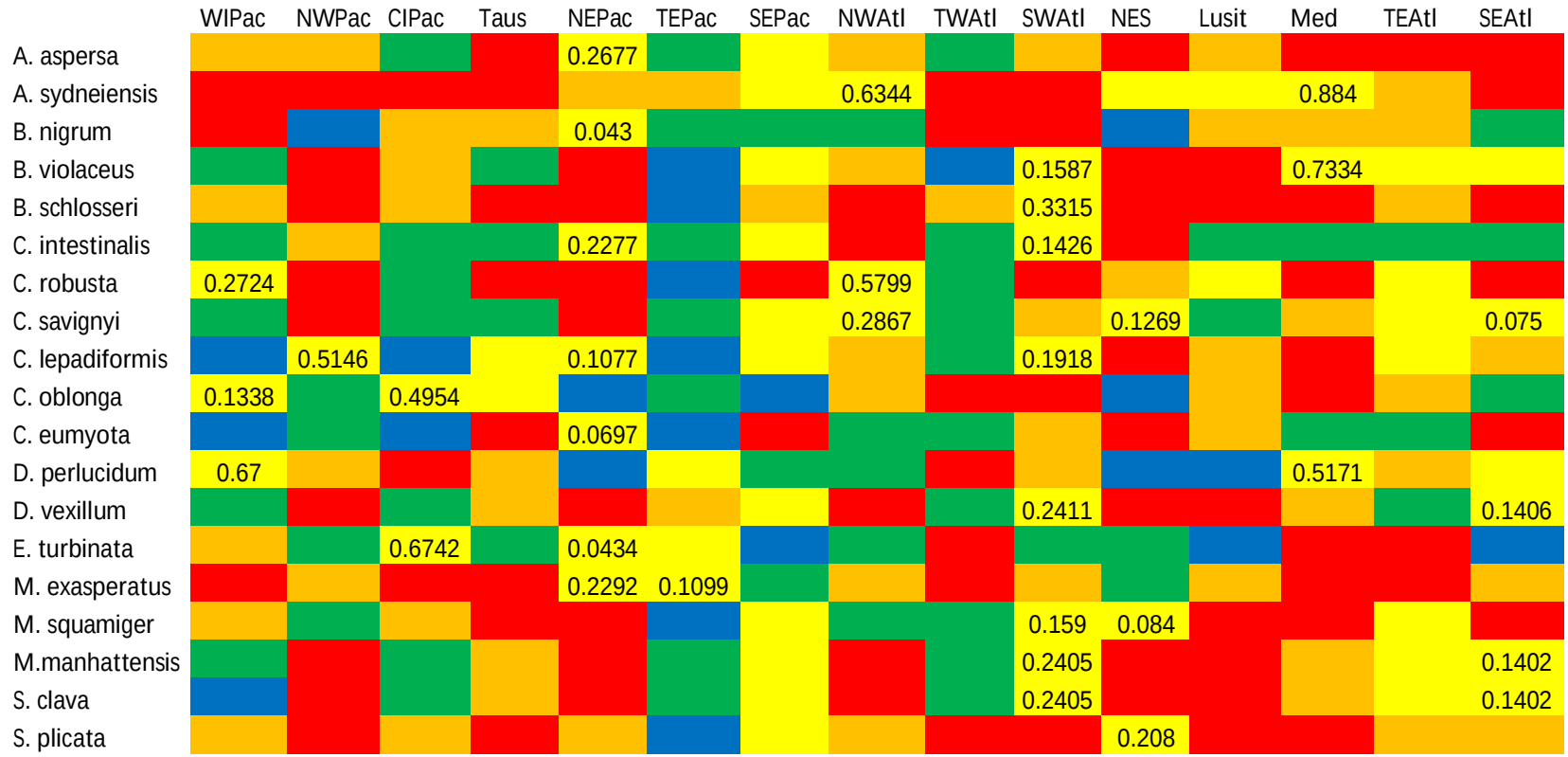


Figura 3 - Matriz de risco de introdução de ascídias em regiões costeiras (ver Figura 4). Os valores nos campos de grande adequabilidade correspondem ao índice de conectividade calculado a partir de Seebens et al (2013), somando-se valores de conectividade das principais regiões doadoras mais conectadas a ela, sendo que a conectividade das regiões laranja foi dividida por dois, para compensar baixa presença da espécie.

Espécie presente em mais de três quadrículas
Espécie presente em até três quadrículas
Espécie ausente, mas grande adequabilidade ambiental
Espécie ausente, mas média adequabilidade ambiental
Espécie ausente, e baixa adequabilidade ambiental

os modelos RF e SVM tiveram desempenhos semelhantes e produziram melhores predições que MaxEnt (Tab. 2).

Os modelos finais obtidos a partir do *ensemble* destes três algoritmos mostraram que existem condições ambientais para a expansão da distribuição de todas as espécies avaliadas em novas áreas de introdução (Figs. 6 – 12). Todas as 15 regiões costeiras (Fig. 4) incluídas no estudo apresentaram adequabilidade ambiental para introdução de novas espécies, com adequabilidade mais alta nas regiões litorâneas e diminuindo em direção ao domínio oceânico.

Além de nenhuma espécie apresentar alta adequabilidade no TWAtl, a região TEPac apresentou a menor diversidade de espécies (*A. sydneiensis* e *D. vexillum)* e só ofereceu alta adequabilidade para três (*D. perlucidum, M. exasperatus* e *M. turbinata*). Portanto, a América Central foi a região com a menor adequabilidade ambiental para introdução das espécies estudadas, tanto na costa atlântica como pacífica.

Por outro lado, o Oceano Atlântico foi a região com a maior adequabilidade ambiental as espécies estudadas, em especial as regiões SWAtl, SEAtl e TEAtl concentram adequabilidade para o maior número de espécies. Na América do Sul a região SWAtl registra dez espécies e apresentou alta adequabilidade para oito novas sendo improvável apenas *E. turbinata* ocorrer nesta região. Do lado leste do Atlântico, no continente africano, as regiões SEAtl e TEAtl registram nove espécies cada, das quais cinco ocorrem em ambas. As regiões ainda apresentaram alta adequabilidade para quatro espécies em comum (*B. violaceus, C. savignyi, M. manhattensis* e *S.clava*), sendo que a região SEAtl poderia ainda manter populações de *D. vexillum*. O Atlântico norte mostrou regiões adequadas para nove espécies, sendo que duas poderiam ocorrer exclusivamente no NES (*M. squamiger* e *S. plicata)*.

Os mares Lusit e Med apresentam a maior diversidade de espécies entre as regiões estudadas. Diversas espécies ocorrem em ambas embora *C. eumyota* e *B. violaceus* tenham sido registradas exclusivamente no Lusit enquanto *C. savignyi, C. robusta* e *E. turbinata* exclusivamente no Med. Ambas regiões se mostraram adequadas para *C. robusta* e *A. sydneiensis,* bem como no NWAtl. Algumas localidades do Med também se mostraram com alta adequabilidade para *B. violaceus* e *D. perlucidum*.

No Oceano Pacífico oriental as regiões com maior diversidade são NWPac e TAus, embora três ocorram exclusivamente no NWPac (*C. intestinalis, B.violaceus e C. savignyi*) e apenas uma exclusiva na Aus (C. eumyota). A maioria das espécies ocorrem também no CIPac e WIPac que apresentam menor diversidade respectivamente.

A região WIPac apresentou alta adequabilidade para três espécies (*C. oblonga, C. robusta* e *D. perlucidum*), a TAus, duas (*C. lepadiformis* e *C. oblonga*) e as regiões NWPac (*C. lepadiformis*) e CIPac (*E. turbinata*) apenas para uma espécie cada. Deste conjunto de espécies, com alta adequabilidade ambiental apenas *C. lepadiformis* e *C. oblonga* nunca foram registradas no Pacífico.

No lado Pacífico das Américas a região NEPac é a mais diversa. Das espécies com registro de ocorrência à leste do Pacífico, com exceção da espécie *C. eumyota* (exclusiva do SEPac), as outras também ocorrem no NEPac e TEPac (*B. schlosseri e C. robusta* no SEPac*;* (*D. vexillum* e *A. sydneiensis no TEPac*) ou no NEPac e SEPac (*B. schlosseri* e *C. robusta)*. As regiões que apresentaram alta adequabilidade ambiental para novas introduções são NEPac e SEPac. O SEPac apresentou adequabilidade para o maior número de espécies das quais três (*A. aspersa, C. intestinalis* e *C. lepadiformis*) também apresentaram alta adequabilidade no NEPac e nenhuma das três foi registrada no Pacífico leste.

Tabela 2: Desempenho preditivo das ocorrências teste (30% de n) aleatorizadas em cinco réplicas para os modelos: *Support vector machine* (SVM), *Random Forest* (RF) e MaxEnt (MXS).

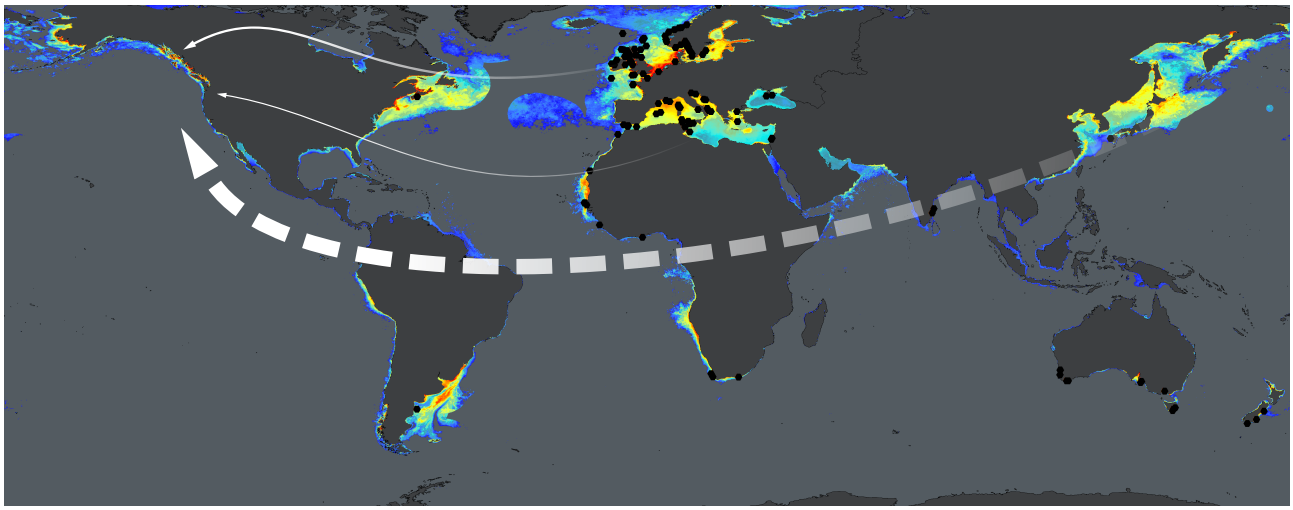
	Model evaluation of 5 replicates												
		SVM				RDF				MXS			
Species	[1]n	AUC	SD	TSS	SD	AUC	SD	TSS	SD	AUC	SD	TSS	SD
Ascidiella aspersa	164	0.86	0.01	0.63	0.03	0.89	0.01	0.65	0.02	0.85	0.01	0.569	0.01
Ascidia sydneiensis	194	0.88	0.02	0.68	0.04	0.85	0.02	0.57	0.04	0.84	0.01	0.565	0.02
Botryllus schlosseri	149	0.87	0.02	0.64	0.03	0.9	0.01	0.68	0.02	0.86	0.01	0.593	0.02
Botrylloides nigrum	97	0.84	0.03	0.6	0.05	0.75	0.04	0.42	0.1	0.66	0.02	0.281	0.03
Botrylloides violaceus	116	0.84	0.01	0.62	0.03	0.87	0.02	0.63	0.02	0.82	0.01	0.525	0.02
Ciona intestinalis	87	0.81	0.01	0.54	0.04	0.81	0.01	0.53	0.02	0.76	0.02	0.379	0.01
Ciona robusta	81	0.88	0.02	0.65	0.03	0.9	0.01	0.69	0.03	0.85	0.01	0.542	0.02
Ciona savignyi	47	0.82	0.03	0.58	0.04	0.84	0.03	0.58	0.04	0.81	0.04	0.509	0.05
Clavelina lepadiformis	52	0.86	0.01	0.62	0.01	0.87	0.01	0.61	0.02	0.83	0.01	0.521	0.03
Clavelina oblonga	57	0.84	0.04	0.61	0.07	0.84	0.04	0.59	0.07	0.76	0.01	0.416	0.01
Corella eumyota	128	0.84	0.01	0.57	0.03	0.81	0.02	0.51	0.05	0.72	0.01	0.316	0.02
Didemnum perlucidum	52	0.75	0.07	0.47	0.1	0.78	0.06	0.44	0.12	0.69	0.06	0.283	0.07
Didemnum vexillum	101	0.87	0.02	0.64	0.03	0.87	0.02	0.64	0.03	0.8	0.02	0.435	0.04
Ecteinascidia turbinata	37	0.8	0.03	0.55	0.05	0.79	0.04	0.49	0.07	0.72	0.04	0.347	0.07
Microcosmus exasperatus	184	0.87	0.01	0.64	0.01	0.79	0.04	0.46	0.06	0.74	0.02	0.37	0.04
Microcosmus squamiger	105	0.87	0.02	0.63	0.05	0.87	0.01	0.61	0.03	0.81	0.01	0.495	0.03
Molgula manhattensis	87	0.87	0.01	0.62	0.02	0.86	0.02	0.6	0.04	0.84	0	0.55	0.01
Styela clava	107	0.85	0.04	0.62	0.04	0.88	0.01	0.64	0.03	0.86	0.01	0.579	0.03
Styela plicata	154	0.9	0.01	0.68	0.02	0.9	0.01	0.64	0.04	0.87	0.01	0.608	0.02

[1] número de registros únicos (n), AUC = *area under the curve*, TSS = t*rue skill statistics,* sd = *d*esvios padrão.



figura 4 - Reinos biogeográficos marinhos (modificado de Spalding et al., 2007). Pacífico Nordeste (NEPac), Pacífico Tropical Leste (TEPac), Pacífico Sudeste (SEPac), Atlântico Noroeste (NWAtl), Atlântico Tropical Oeste (TWAtl), e Atlântico Sudoeste (SWAtl), Norte Europeu (NES), Mar Lusitano (Lusit), Atlântico Tropical Leste (TEAtl), Atlântico Sudeste (SEAtl), Indo Pacífico Oeste (WIPac), Indo Pacífico Central (CIPac), Pacífico Noroeste (NWPac), Australásia Temperada (TAus).

A - *Ascidiella aspersa*



B - *Ascidia sydneiensis*

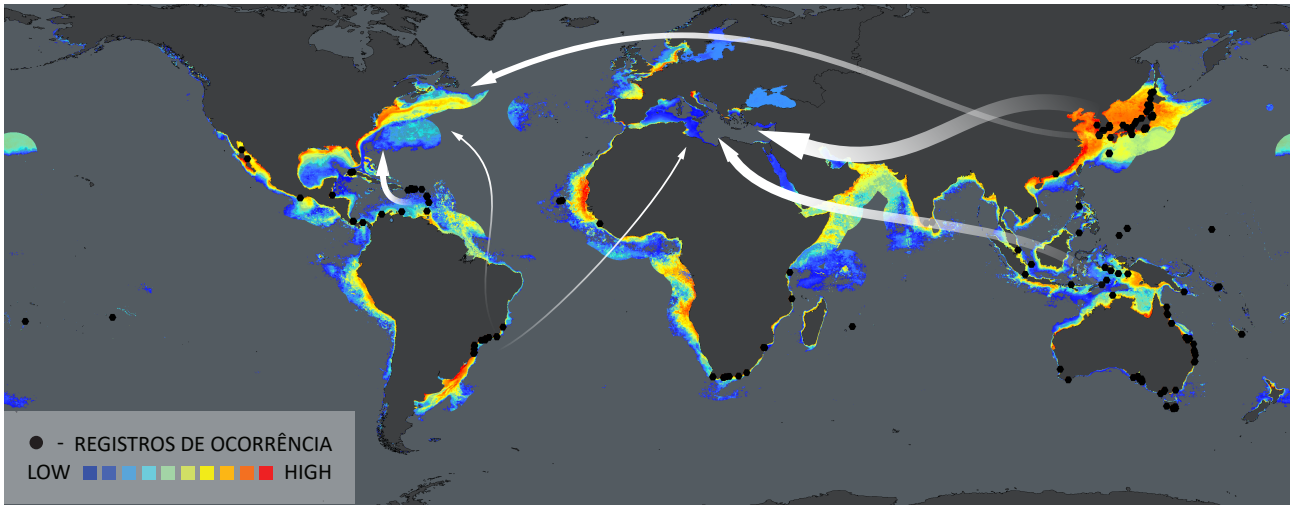


figura 5 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

Discussão

Apesar da importância de várias espécies de ascídias como bioinvasoras, dado o grande prejuízo ambiental e econômico causado por algumas espécies, ainda são raros os estudos de análise de risco combinando modelos preditores de adequabilidade ambiental e estimativas de conectividade para prever futuras introduções e expansão na área de vida de ascídias introduzidas (ex. Locke 2009, Januario *et al*. 2015) e não existem estudos em escala global. Por outro lado, estudos semelhantes com outros táxons mostram a efetividade deste tipo de abordagem (Thuiller *et al*. 2005; Keller *et al*. 2011; Crafton 2015; Seebens *et al*. 2016).

A distribuição das espécies nas regiões costeiras indicou a tendência histórica das introduções em associação à história das navegações e volume de transações comerciais. As regiões mais vulneráveis à pressão de propágulos (NWPac, Med e NWAtl – Seebens *et al*. 2013) também concentram a maior parte dos registros de espécies introduzidas, onde ocorrem em maior diversidade e abundância do que nas regiões menos vulneráveis TEPac e SEPac. No Med, por exemplo, ocorrem 14 das 19 espécies avaliadas e esta região é também uma das regiões de maior vulnerabilidade à pressão dos propágulos (Seebens *et al*. 2013). Por outro lado, as regiões TEPac e SEPac se mostraram pouco vulneráveis às introduções, provavelmente devido à baixa conectividade. Embora a região SEPac apresente adequabilidade ambiental para diversas espécies, não recebe pressão de propágulos na intensidade necessária para o estabelecimento destes organismos (Seebens *et al*. 2013) e registra apenas três atualmente.

Ascidiella aspersa está amplamente distribuída na Europa (região nativa) e na região TAus, onde é conhecida desde a década de 1940 (Brewin 1946). Apresentou alta potencialidade para expandir sua área de vida no NWPac, NWAtl, e SWAtl, onde foi pouco registrada até o presente. As regiões NEPac e SEPac também apresentaram locais com alta adequabilidade ambiental, sendo NEPac a região com maior risco de introdução devido à grande conectividade com as regiões de registro da espécie. As regiões NWPac, NES e Med são as principais regiões doadoras, mas a espécie está amplamente distribuída apenas na Europa que oferece a maior pressão de propágulos. Caso a espécie se torne bem estabelecida no NWAtl, esta região também será importante fonte doadora para introdução no NEPac, dada a grande conectividade entre estas regiões (Fig. 5A).

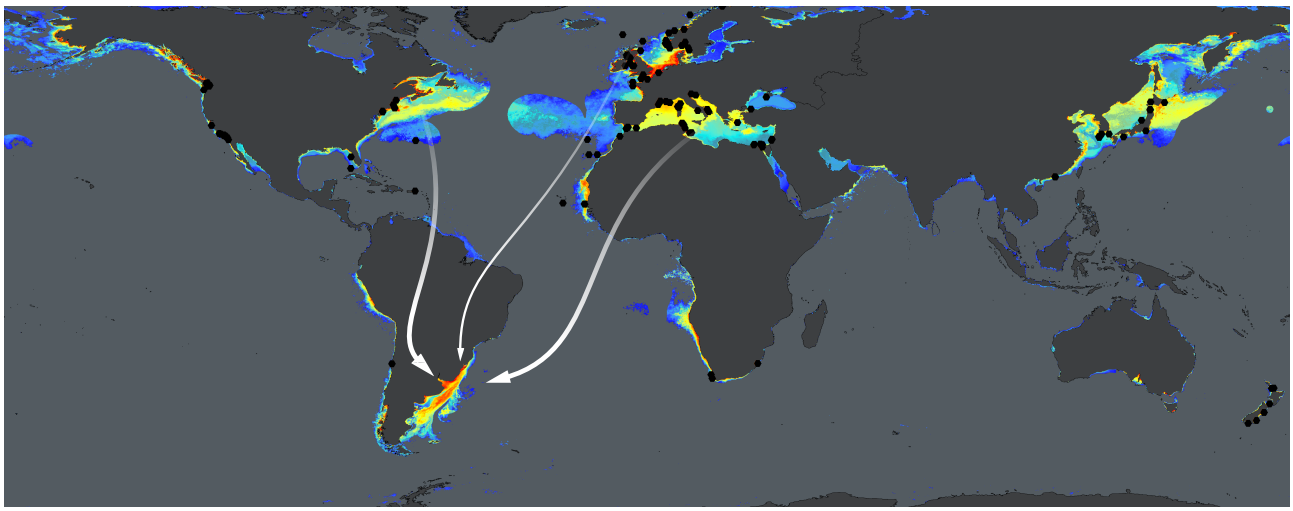
Ascidia sydneiensis está amplamente distribuída na zona tropical, mas as regiões NWAtl, NES, Med e Lusit apresentaram adequabilidade para a espécie. O maior risco de introdução no continente europeu é no Med devido à alta pressão de propágulos proveniente das regiões NWPac e CIPac, enquanto as regiões NES e Lusit apresentaram conectividade muito menor com as regiões doadoras. NWAtl também apresenta risco de introdução dada sua conectividade com as regiões TWAtl e SWAtl (Fig. 5B).

Botryllus schlosseri ocorre predominantemente no hemisfério norte, tendo como área nativa supostamente o continente europeu, mas recentemente estudos genéticos indicaram pelo menos uma clado nativo no NWAtl anterior ao possível transporte humano, indicando introduções isoladas em ambas as direções (Yund *et al*. 2015). As populações introduzidas nas regiões NEPac, SEPac e SEAtl podem ainda expandir sua área de vida. Existe risco de introdução no SWAtl, devido à alta adequabilidade ambiental e conectividade com as principais regiões doadoras Med, NWAtl e NES, onde as populações são amplamente distribuídas (Fig. 6A). Estudos filogeográficos também indicaram populações europeias e asiáticas como originárias dos indivíduos introduzidos no NEPac (Stoner *et al*. 2002).

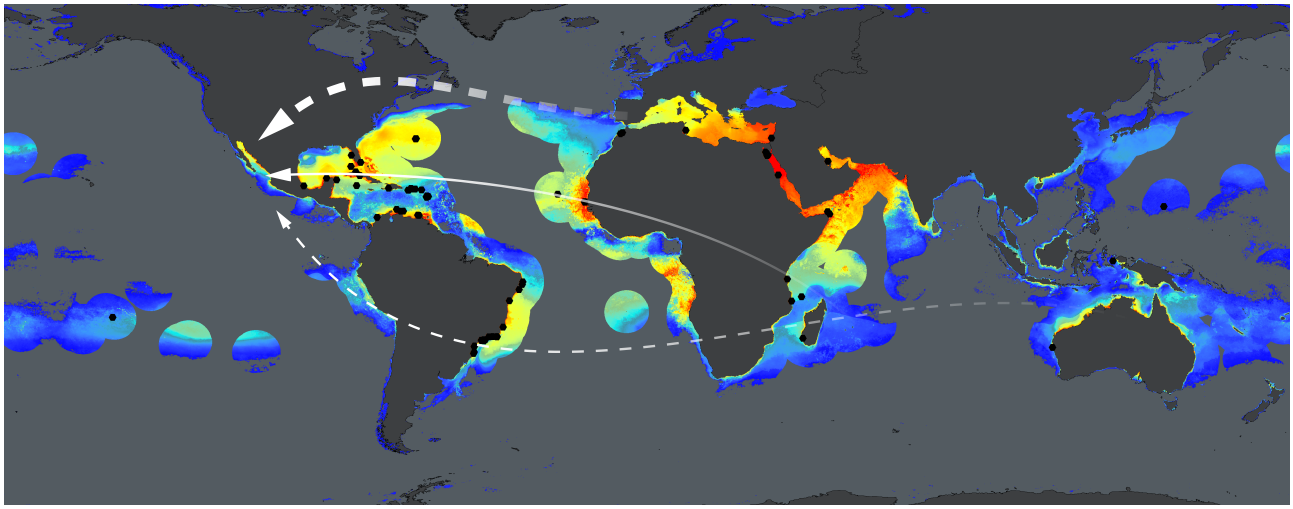
Botrylloides nigrum está amplamente distribuída na região TWAtl onde é provavelmente nativa (Sheets *et al*. 2016) e poderá expandir sua área de vida na região TEAtl, Med e na costa norte do continente australiano no CIPac. O golfo da Califórnia na região NEPac é adequado para introdução, porém com baixo risco dada sua baixa conectividade com as regiões doadoras (Fig. 6B).

Botrylloides violaceus está amplamente distribuída em todo o norte do Pacífico e na região do Canal da Mancha. No NES apresentou adequabilidade para expandir sua área de vida até a Noruega. As regiões NWAtl, Lusit e CIPac também já foram invadidas, embora apenas NWAtl tenha apresentado adequabilidade para que a espécie expanda sua área de vida, como vem ocorrendo desde sua introdução na década de 1970 (Berman *et al*. 1992). As áreas com maior risco de introdução são o SWAtl e Med respectivamente, pois estas áreas apresentaram tanto adequabilidade ambiental quanto conectividade principalmente com NWPac, região nativa (Bock *et al*. 2011) onde a espécie está amplamente distribuída (Fig. 6C).

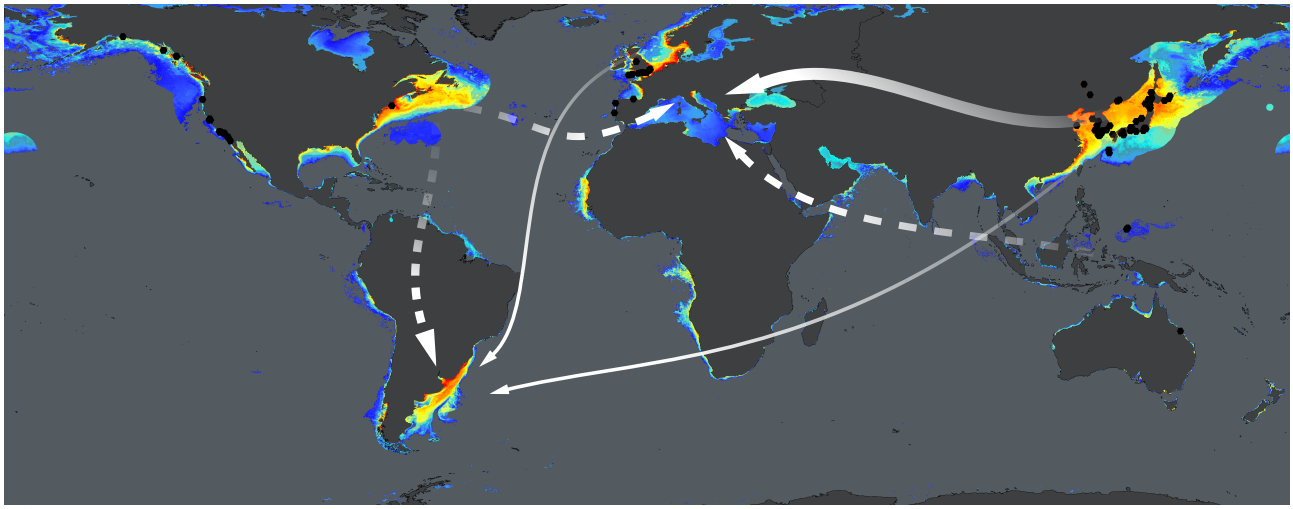
A - *Botryllus schlosseri*



B - *Botrylloides nigrum*



C - *Botrylloides violaceus*



● - REGISTROS DE OCORRÊNCIA

LOW HIGH

figura 6 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

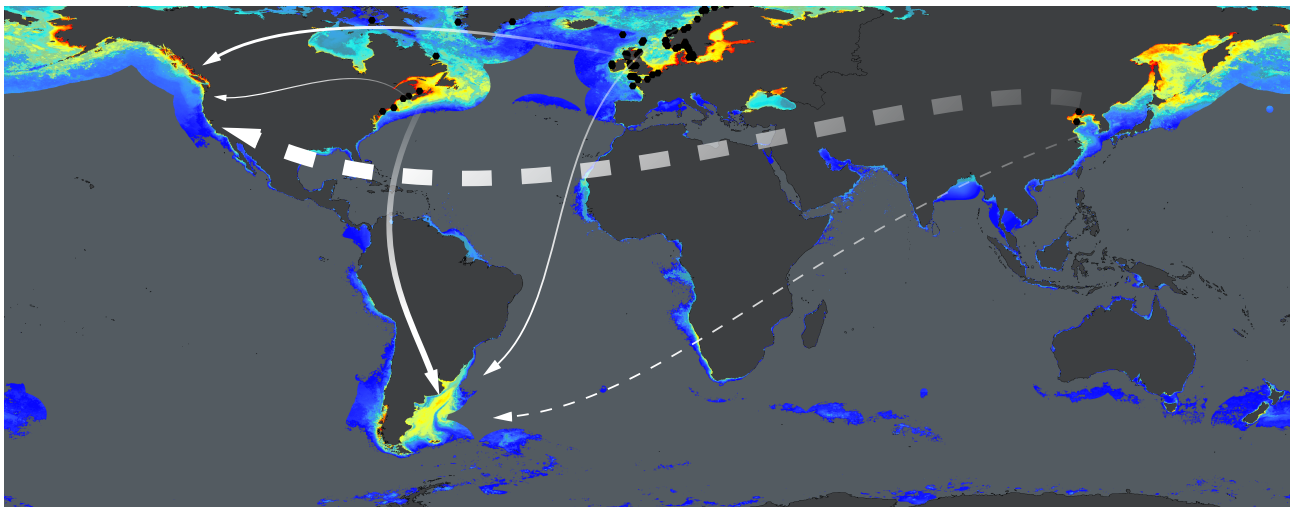
Ciona intestinalis está amplamente distribuída na zona temperada/subártica dos dois lados do Atlântico norte, região tida como nativa para esta espécie (Bouchemousse *et al* 2016). Existe um grande fluxo gênico entre estas regiões provavelmente mediado por navegação ou aquicultura, causando contínuas introduções de novos indivíduos em ambos os lados do Atlântico (Zhan *et al*. 2010). A espécie também já foi introduzida no NWPac, onde existe alta adequabilidade ambiental para expandir sua área de vida. A área de maior risco de introdução futura é a região NEPac, especificamente no Canadá e no Alasca, pois estas regiões apresentouaram maior conectividade com as regiões NWPac, NES e NWAtl onde a espécie apresenta registros (Fig. 7A).

Ciona robusta está amplamente distribuída nas regiões temperadas do oceano Pacífico de onde é presumivelmente nativa (Brunetti *et al*. 2015). Apresentou adequabilidade nas regiões Lusit e NE para expandir sua área de vida e também na região TEAtl e NWAtl embora dada sua conectividade, tenha apresentado o maior risco de introdução no NWAtl com espécies provenientes das regiões Med, SWAtl e NEPac respectivamente (Fig. 7B).

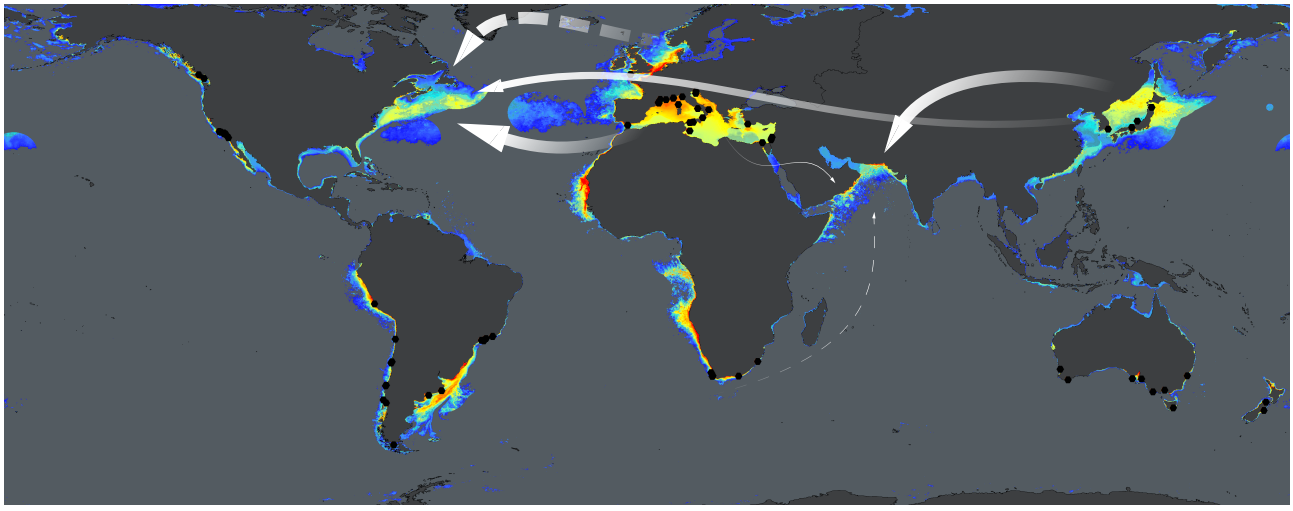
Ciona savignyi apresenta a maior parte de seus registros concentrados no NEPac e NWPac enquanto no Med e SWAtl seus registros são isolados. A espécie apresentou adequabilidade para expandir sua área de vida no SWAtl e também no NWAtl, NE, TEAtl e SEPac. Mas só as regiões NWAtl e NE apresentaram risco de introdução dado a sua conectividade com as regiões doadoras no Pacífico (Fig. 7C).

Clavelina lepadiformis concentra a maior parte da sua distribuição nas regiões Med, Lusit e NES, porém a estrutura genética de populações de *C. lepadiformis* sugere que as populações do NES e Lusit pertencem ao mesmo clado nativo e que através de rotas marítimas *C. lepadiformis* foi introduzida no Med (Turon *et al*. 2003). Mais recentemente foi detectada a introdução na região NWAtl (Reinhardt *et al*. 2010), onde existe adequabilidade ambiental para a espécie expandir sua área de vida. As regiões NWPac, NEPac, SWAtl, SEPac, TEAtl e TAus apresentaram alta adequabilidade para a espécie, sendo que apenas SEPac não apresenta risco de introdução, dado o baixo índice de conectividade desta região. As regiões mais vulneráveis são respectivamente NWPac, SWAtl e NEPac por também apresentarem maior conectividade com as principais regiões doadoras NES e Med (Fig. 8A).

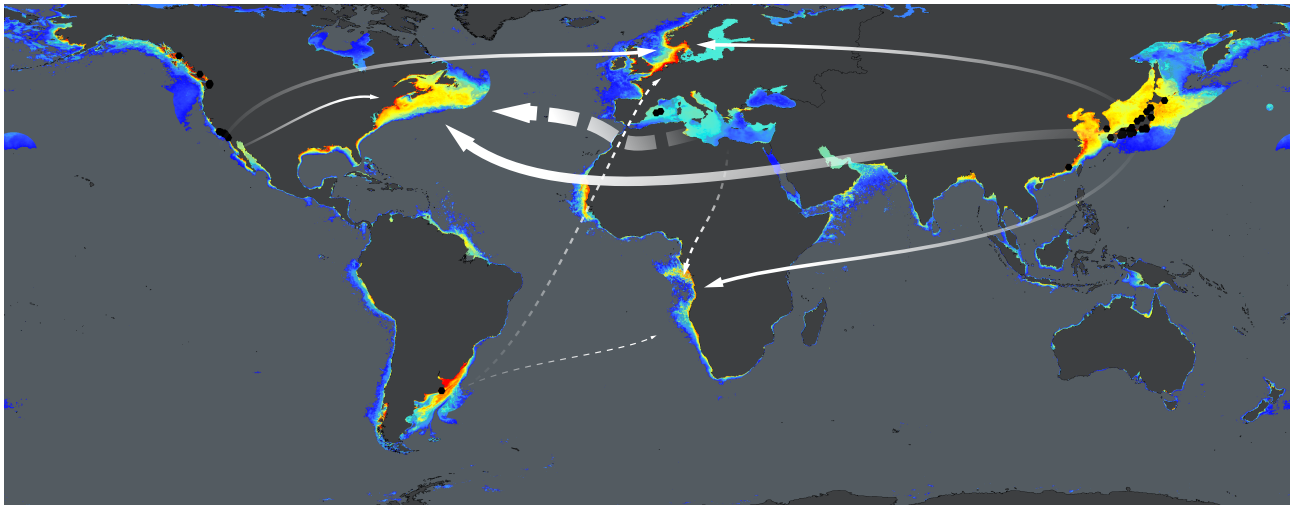
A - *Ciona intestinalis*



B - *Ciona robusta*



C - *Ciona savignyi*

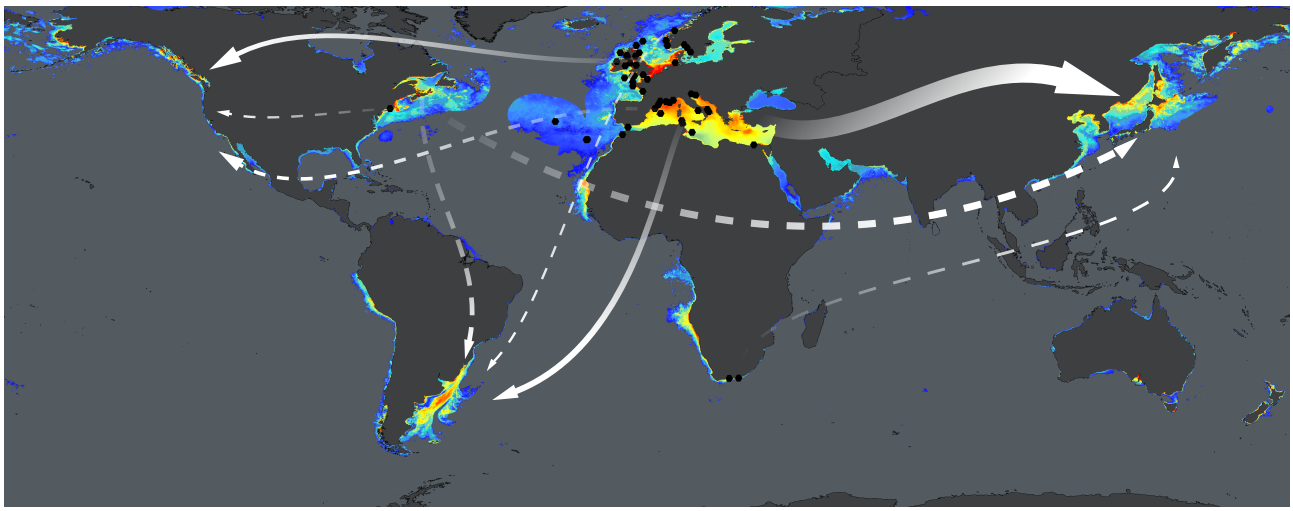


● - REGISTROS DE OCORRÊNCIA

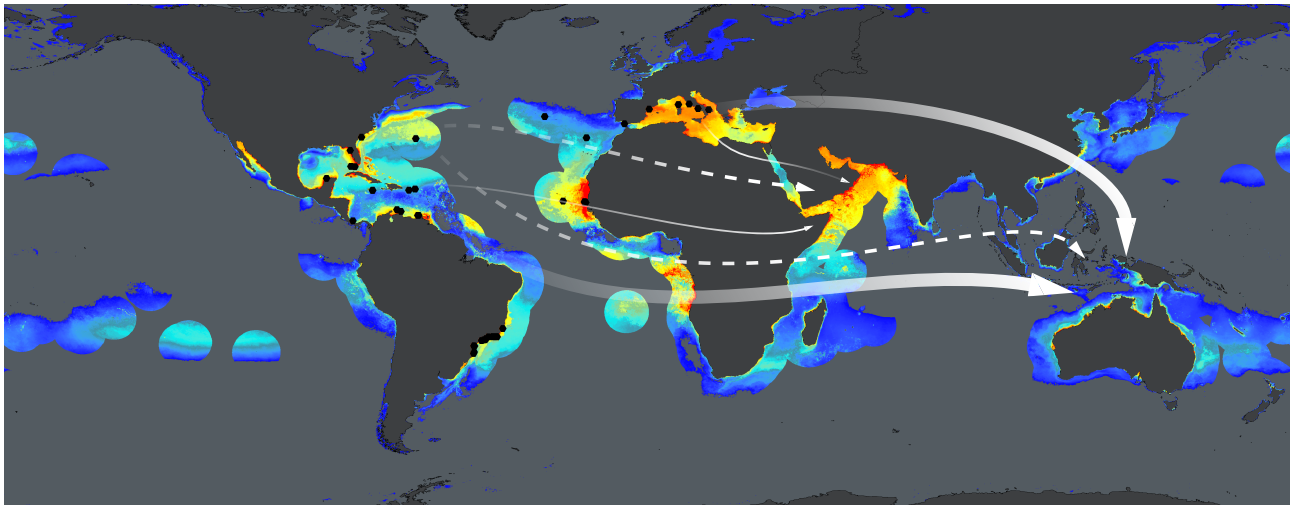
LOW HIGH

figura 7 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

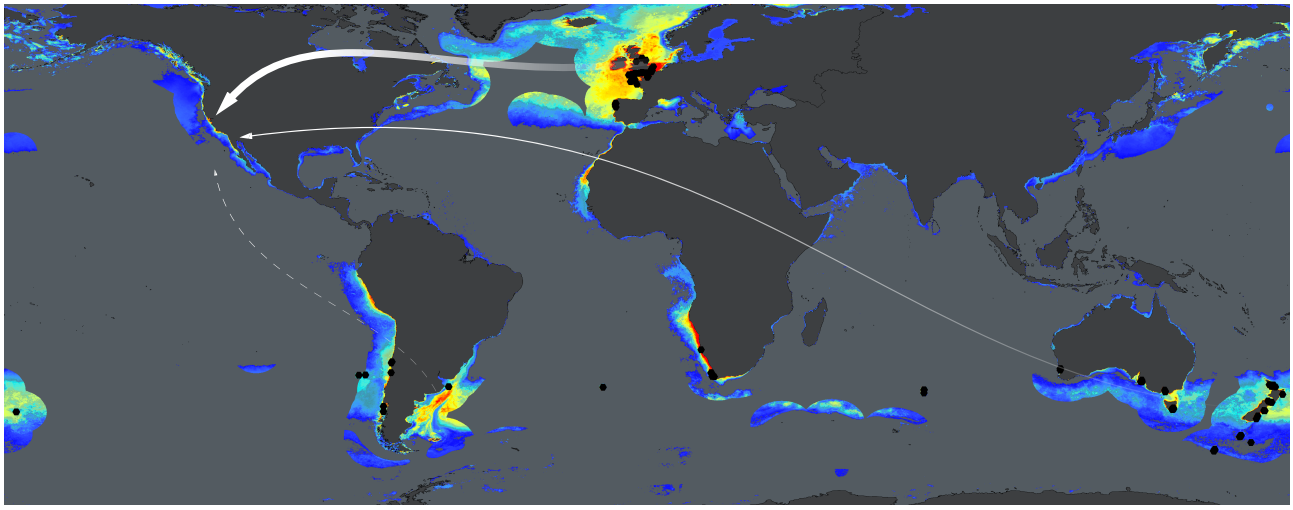
A - *Clavelina lepadiformis*



B - *Clavelina oblonga*



C - *Corella eumyota*



● - REGISTROS DE OCORRÊNCIA
LOW HIGH

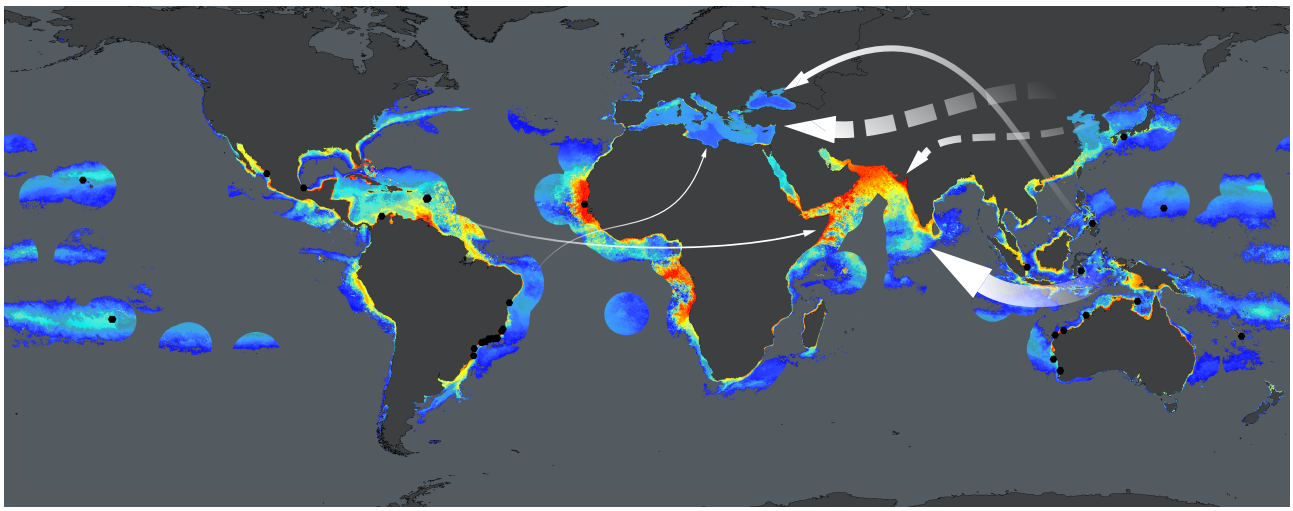
figura 8 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

Clavelina oblonga está amplamente distribuída nas regiões TWAtl, SWAtl e Med e estudos moleculares sugerem que a primeira seja a área geográfica nativa desta espécie e as demais, área invadidas (Rocha *et al*. 2012). Também existem registros isolados no NWAtl, Lusit e TEAtl. As regiões NWAtl e TEAtl apresentaram alta adequabilidade para que a espécie amplie sua área de vida. As áreas com o maior risco de novas introduções são CIPac, WIPac e NEPac, nesta ordem. As regiões CIPac e WIPac são mais vulneráveis que o NEPac devido ao alto índice de conectividade com as regiões TWAtl, Med e SWAtl onde a espécie está amplamente distribuída. A região NWAtl apresenta alta conectividade e pode tornar-se uma importante doadora caso a espécie amplie seus registros ali. (Fig. 8B).

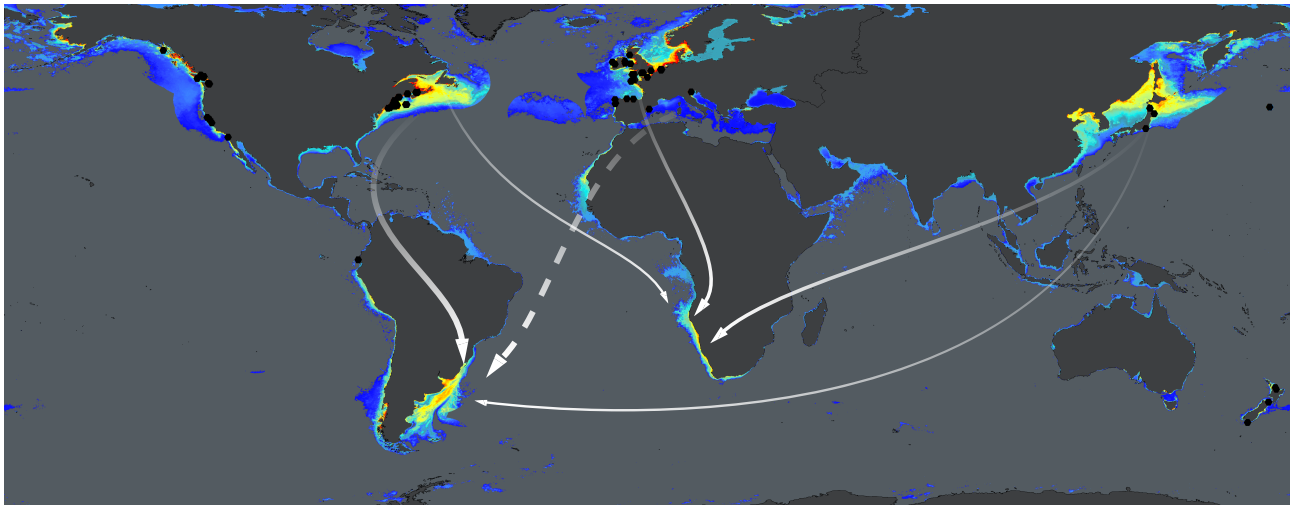
Corella eumyota ocorre em uma faixa latitudinal estreita na zona temperada/subantártica que caracteriza sua região nativa (Alurrande *et al*. 2013) e no Hemisfério Norte concentra seus registros nas regiões NES e Lusit, onde foi observada a primeira introdução em 2002 no litoral da Britânia, França com espalhamento contínuo posterior (Nagar *et al*. 2010). A espécie apresentou alta adequabilidade e pode expandir sua área de vida no NES até a Islândia, como também na região SWAtl. A região com o maior risco de introdução é o NEPac que apresentou locais com alta adequabilidade para a espécie e alta conectividade com as regiões NES, Atlântico Sul e TAus onde a espécie está amplamente distribuída. (Fig. 8C). O hábito gregário da espécie, pioneirismo na colonização de novos substratos e o fato de já ter sido encontrada tanto em ambiente natural como artificial na área invadida sugere impactos no cultivo de bivalves e competição por espaço com organismos incrustantes (Nagar *et al*. 2010)

Didemnum perlucidum está amplamente distribuída nas regiões SWAtl e CIPac, porém ambas parecem pertencer a áreas invadidas (Dias *et al*. 2016). Possui registros isolados nas regiões tropicais dos Oceanos Atlântico e NEPac, onde também apresentou alta adequabilidade para expandir sua área de vida, principalmente na costa Africana e norte do Índico. A região WIPac apresenta o maior risco de introdução, com uma área extensa de alta adequabilidade para a espécie e alta conectividade com as regiões onde a espécie já está amplamente distribuída. A região CIPac é a principal doadora, pois apresentou conectividade muito maior que as demais. Embora a região NWPac apresenta alta conectividade, a espécie só apresenta registros isolados nesta região (Fig. 9A).

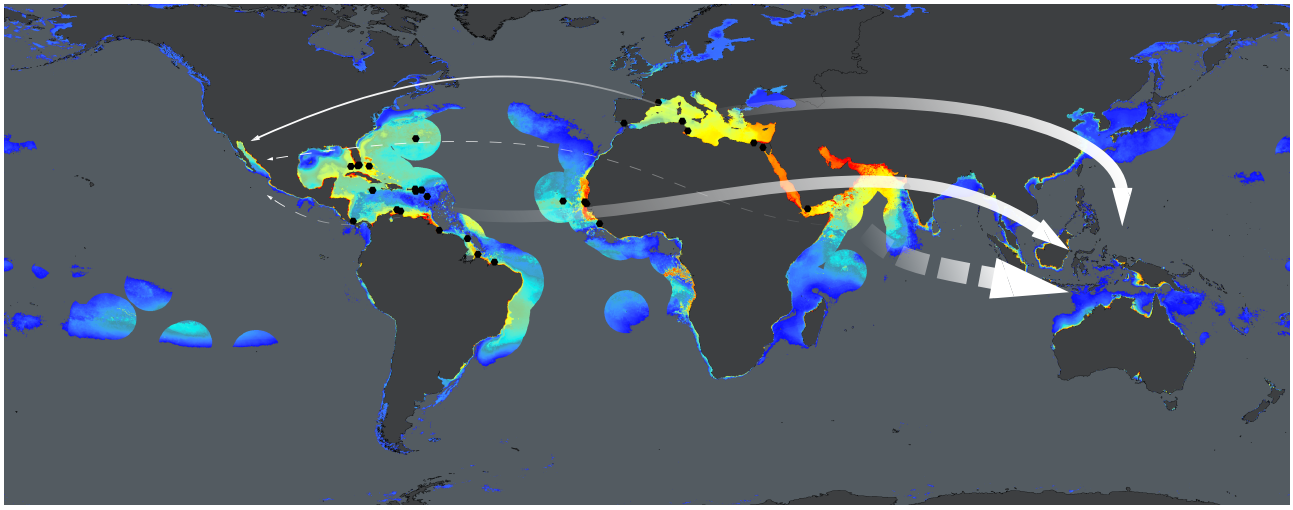
A - *Didemnum perlucidum*



B - *Didemnum vexilum*



C - *Ecteinascidia turbinata*



● - REGISTROS DE OCORRÊNCIA

LOW HIGH

figura 9 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

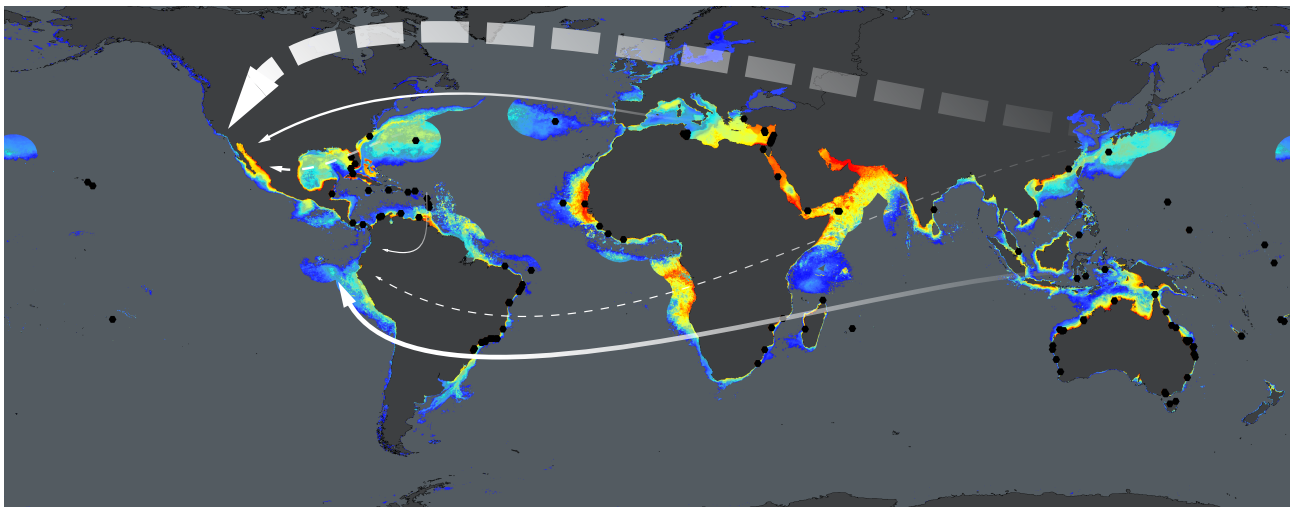
Didemnum vexillum ocorre em uma faixa restrita na zona temperada do HN onde seus registros se espalham tanto no Atlântico quanto no Pacífico. No Med, TAus e TEPac a espécie apresenta registros isolados e baixa adequabilidade ambiental. As regiões SWAtl, SEPac e SEAtl apresentaram alta adequabilidade ambiental embora o risco de introdução seja maior para as regiões SWAtl e SEAtl respectivamente. Estas regiões apresentaram alta conectividade com as regiões NWAtl e NE que são as principais doadoras devido a ampla distribuição das espécies nestas regiões. A região NWPac também pode ser uma importante doadora embora a espécie não possua muitos registros nesta região (Fig. 9B).

Ecteinascidia turbinata apresenta distribuição predominantemente na zona tropical do Atlântico e está amplamente distribuída nas regiões TWAtl e Med. Apresenta registros isolados no WIPac e TEAtl, nestas regiões, apresentou alta adequabilidade e pode expandir sua área de vida. A espécie apresentou alta adequabilidade no Golfo da Califórnia na região NEPac e na região CIPac. A região CIPac apresentou o maior risco de introdução dada sua conectividade com o WIPac através do Canal de Suez conectando às populações da espécie no Med e no Atlântico. A região NEPac também apresentou risco de introdução destas regiões. (Fig. 9C).

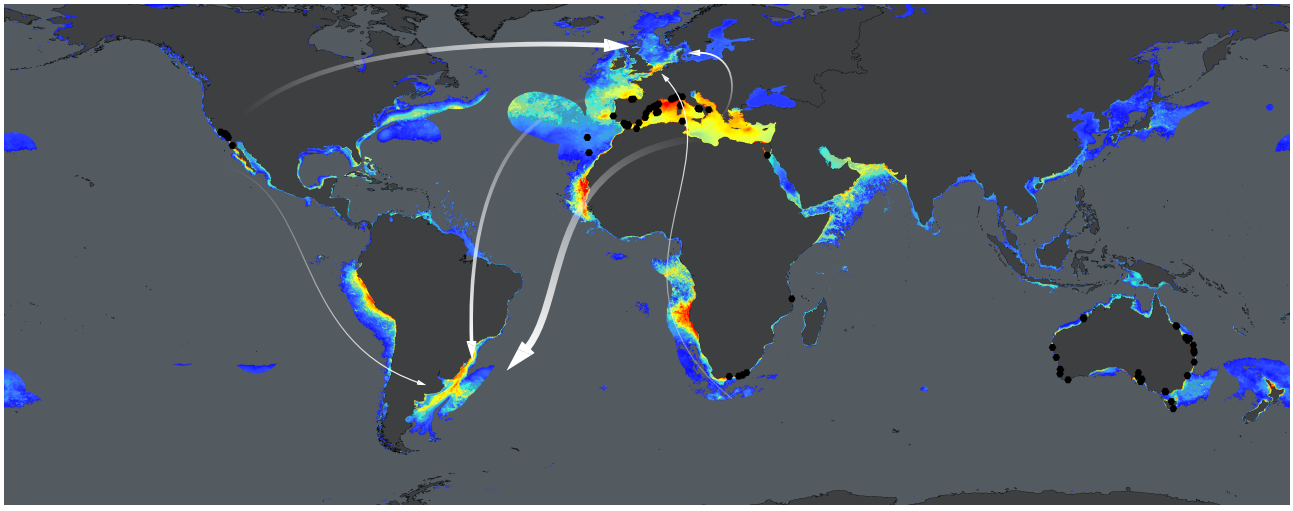
Microcosmus exasperatus está amplamente distribuída globalmente e concentra a maior parte dos seus registros nas regiões TWAtl, WIPac e CIPac. A região que apresenta o maior risco de introdução é o NEPac, que apresentou alta adequabilidade ambiental e alta conectividade tanto com regiões onde a espécie está amplamente distribuída (Med e CIPac) quanto com o NWPac onde a espécie apresenta poucos registros. (Fig. 10A).

Estudos filogenéticos com 11 populações de *M. squamiger* (Rius *et al*. 2008; 2012) identificaram diferenças importantes entre as populações nativas e introduzidas confirmando que a área nativa da espécie está na região TAus. Estes estudos sugerem que as introduções nas áreas não nativas não ocorreram de forma independente e que as colonizações seguiram uma sequência temporal. Com base nestes estudos *M. squamiger* foi introduzido primeiro no Med e SEAtl, seguido por introduções no NEPac e posteriormente no NES. Esta sequência segue a mesma tendência da conectividade entre as regiões (Seebens *et al*. 2013). Atualmente a espécie está amplamente distribuída no Med e apresenta registros em menor número nas regiões NEPac, Lusit, SEAtl, WIPac e CIPac, embora apenas as regiões NEPac e Lusit tenham apresentado alta adequabilidade ambiental, possibilitando a expansão da sua área de vida. As regiões SEPac, SWAtl,

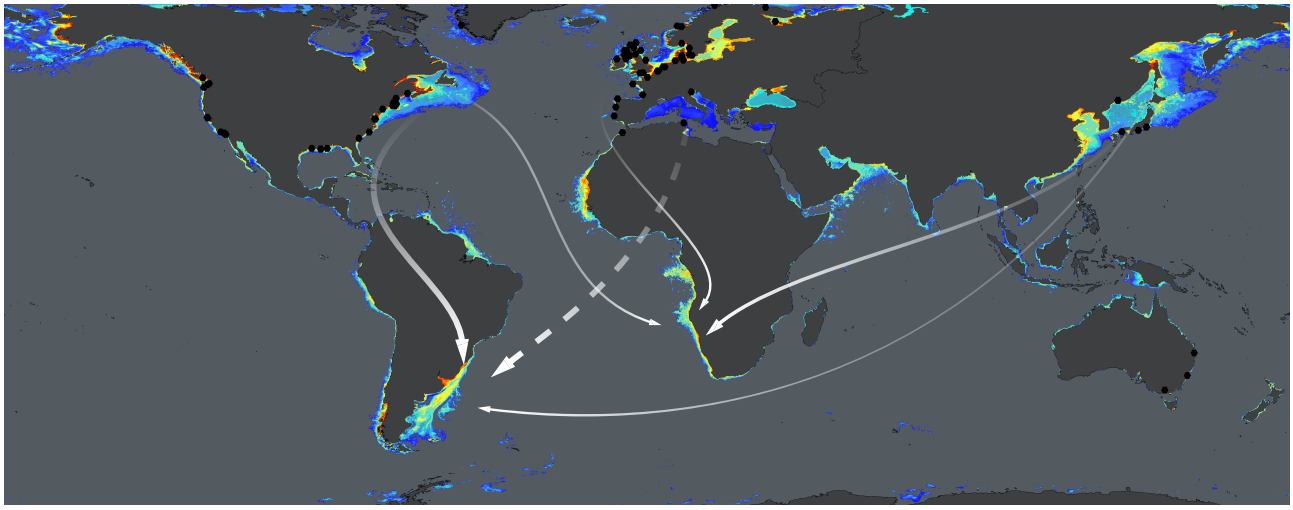
A - *Microcosmus exasperatus*



B - *Microcosmus squamiger*



C - *Molgula manhattensis*



● - REGISTROS DE OCORRÊNCIA

LOW HIGH

figura 10 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

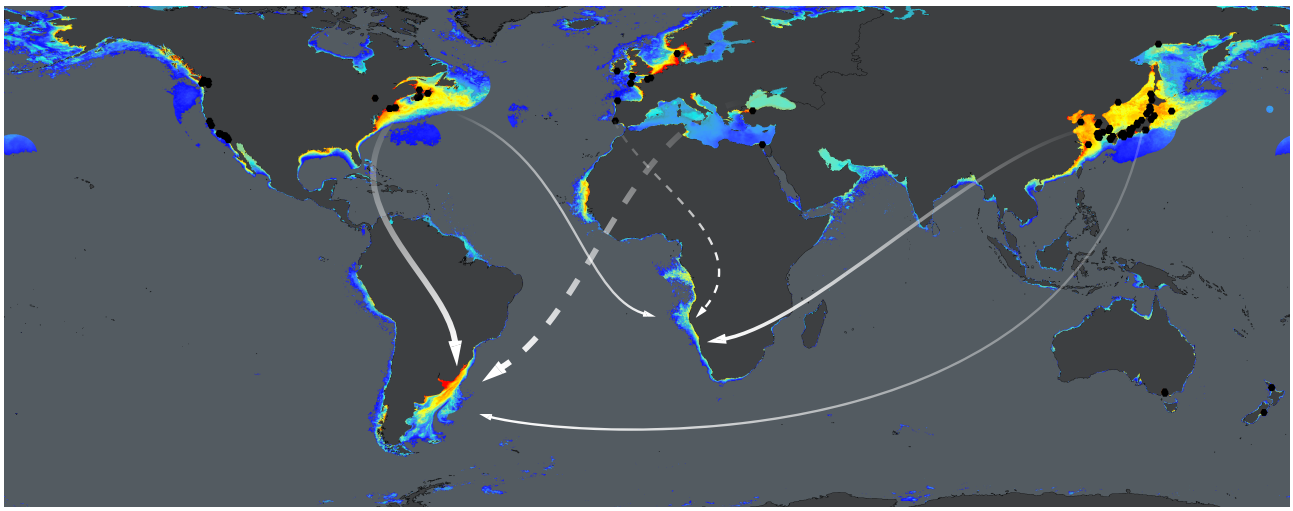
NES e TEAtl também apresentaram alta adequabilidade para a espécie, embora as regiões mais vulneráveis por sua conectividade sejam SWAtl e NES. A região SWAtl recebe as maiores pressões de propágulos desta espécie do Med, enquanto a região NES recebe maiores pressões do NEPac (Fig. 10B).

Molgula manhattensis está amplamente distribuída no norte dos Oceanos Atlântico e Pacífico, suas ocorrências estão restritas a zona temperada. A espécie apresentou registros isolados na TAus e Med que apresentaram baixa adequabilidade ambiental para a espécie. A espécie apresentou alta adequabilidade no SEPac, SWAtl e TEAtl e SEAtl e o maior risco de introdução nas regiões SEAtl e SWAtl. As principais regiões doadoras para estas regiões são NWAtl, NWPac e NE respectivamente (Fig. 10C).

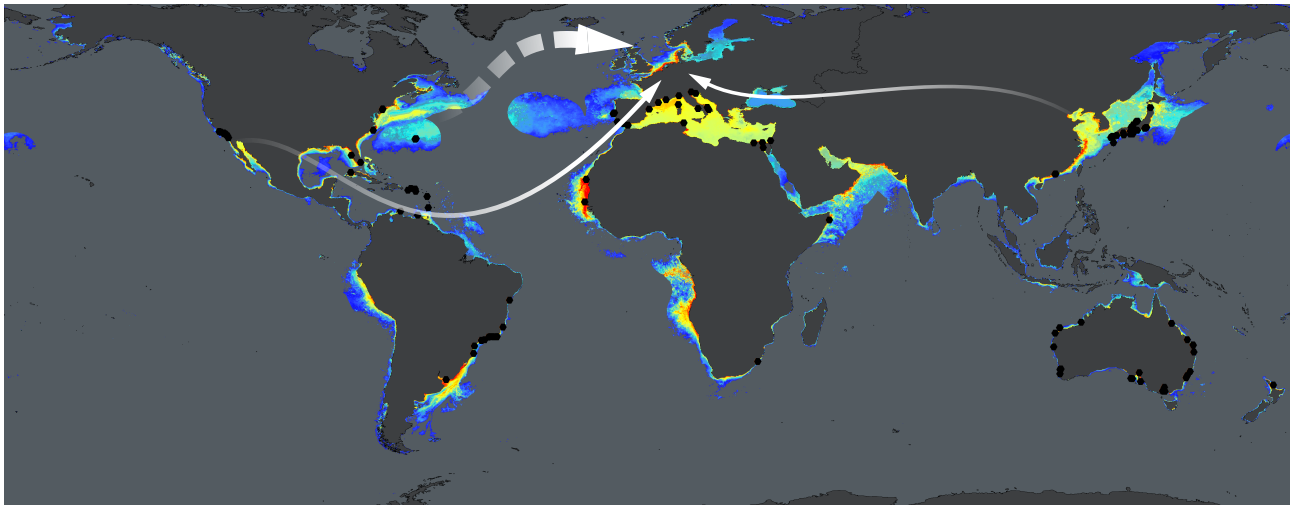
Styela clava ocorre em uma faixa latitudinal restrita na zona temperada no hemisfério norte, que inclui a área nativa NWPac (Goldstien *et al* 2011). A espécie também está amplamente distribuída nas regiões invadidas NEPac (invasão provável na década de 1920), NWAtl (invasão provável na década de 1950) e apresenta registros isolados no NES, onde pode haver expansão de sua área de vida. As regiões Med e TAus, onde também já foi registrada, apresentaram baixa adequabilidade ambiental. As regiões sem registro, mas adequadas ambientalmente são SWAtl, TEAtl e SEPac, sendo aquelas no Atlântico mais vulneráveis devido a sua conectividade com as regiões NWPac, NWAtl e NES (Fig. 11A).

Styela plicata ocorre amplamente distribuída latitudinalmente na zona tropical e subtropical, principalmente nas regiões TWAtl, SWAtl, Med, NWPac e TAus. Existem dúvidas sobre a área nativa, pois todos os oceanos parecem ter sido colonizados por muito tempo e múltiplas introduções dificultam a definição (Pineda *et al*. 2011). Pode ainda expandir sua distribuição atual no TEAtl e SWAtl e a região que apresentou o mais alto risco de nova introdução é o NES, devido à grande conecção com as regiões doadoras NWAtl, NEPac e NWPac (Fig. 11B).

A - *Styela clava*



B - *Styela plicata*



● - REGISTROS DE OCORRÊNCIA

LOW HIGH

figura 11 - Mapas de adequabilidade ambiental gerados por procedimento de ensemble de três tipos de modelagem de nicho ecológico (MaxEnt, Support Vector Machine - SVM e Random Forest - RF) associados ao risco de introdução estimados pelos índices de conectividade desenvolvidos por Seebens et al. (2013). Setas contínuas conectam áreas doadoras com mais de 4 registros da espécie, setas tracejadas as demais situações; a espessura das setas corresponde aos valores dos índices de conectividade.

A modelagem de nicho ecológico é uma ferramenta muito útil em bioinvasão, especialmente auxiliando a priorização de áreas de risco para monitoramento antes que as introduções ocorram. Embora a MNE seja em muitos casos criticada pela falta de transparência (Hortal *et al*. 2012), ao utilizar variáveis imprescindíveis à sobrevivência das espécies, e identificando a contribuição de cada variável (análise de partição hierárquica) à predição final, fornecemos maior transparência aos modelos. Todas as variáveis utilizadas neste estudo contribuíram significativamente para a precisão dos modelos, embora a concentração do recurso clorofila *a* (CHLmax) e a temperatura máxima (SSTmax) tenham contribuído expressivamente mais que a salinidade média (SAL) e a amplitude de temperatura (SSTr) (Tabela 1). A contribuição destas variáveis à previsão da distribuição potencial da espécie *C. intestinalis* já havia sido demonstrada utilizando um outro modelo de presença – *background*, o *Genetic Algoritm for Rule-set Production* (GARP) (Therriault e Herborg 2008). Esses resultados corroboram com estudos que identificaram a SST e as zonas de ressurgência como um dos principais determinantes da distribuição das espécies marinhas globalmente (Powell *et al*. 2012). Salientamos a contribuição nos modelos e a importância de incluir CHL como um índice da disponibilidade de recurso alimentar, determinando a distribuição destas espécies localmente. A influência da disponibilidade de recursos na distribuição de espécies relativamente ao efeito do ambiente foi pouco estudada, embora existam mais exemplos marinhos do que terrestres (Robinson *et al*. 2011).

Como já foi demonstrado anteriormente (Lowen *et al*. 2016), o desempenho dos modelos poderia ser significativamente melhor com a inclusão de variáveis em maior resolução, representando com mais precisão a heterogeneidade dos habitats próximos à costa. A variação da salinidade, por exemplo, ocorre localmente sob a influência do regime de marés e do escoamento superficial, principalmente, em portos e marinas. Esta variação também ocorre em um gradiente de salinidade a partir da foz de um rio até o mar aberto. Além da baixa resolução desta variável, a indisponibilidade das medições máxima, mínima e amplitude de variação no banco de dados Bio-Oracle, faz com que toda a extensão de uma quadrícula em região estuarina seja codificada com baixa salinidade, mesmo que uma parte da quadrícula contenha oceano aberto.

Salinidade e temperatura estão entre as variáveis mais importantes influenciando o recrutamento e reprodução de ascídias (Millar 1971; Auker e Oviatt 2008; Shenkar e Loya, 2008). A salinidade média utilizada no presente estudo foi suficiente para parametrização dos modelos e forneceu resultados preditivos das áreas adequadas para a

sobrevivência das espécies. Entretanto, apesar de correlacionada às medidas máxima e mínima, a indisponibilidade destas métricas impossibilitou aferições mais precisas das tolerâncias das espécies. A tolerância à salinidade é um aspecto muito importante para a sobrevivência de ascídias, pois poucas espécies apresentam mecanismos que às permitem sobreviver por curtos períodos de tempo a variações extremas. A maioria das espécies sobrevive entre 25 e 40 pps, com apenas poucas espécies tolerantes às salinidades abaixo de 20 – 25 pps (Lambert 2005; Sims 1984) ou acima de 44 pps (Lambert 2005; Gab-Alla 2008). Entretanto, espécies invasoras podem tolerar maiores amplitudes. Estudos anteriores indicam que uma das espécies mais tolerante a baixas salinidades parece ser *C. intestinalis*, sendo capaz de suportar exposições < 11 pps, por curtos períodos (Dybern 1967; Therriault e Herborg 2008), com uma faixa de tolerância entre 12 – 40 pps (Therriault e Herborg 2008). No presente estudo, *C. intestinalis* apresentou a menor média entre as espécies estudadas (29 pps – Tab. 1). Diversas espécies habitam lagos na Indonésia com salinidade de 28,5 pps (Monniot 2009). Em laboratório as espécies *B. schlosseri* e *B. violaceus* sobrevivem entre 14 – 38 e 20 – 38 pps respectivamente (Epelbaum *et al*. 2009). Entretanto, para a maioria das espécies, em salinidades inferiores a 22 pps o desenvolvimento das larvas (Vázquez e Young 2000) e zooides adultos (Dijkstra e Simkanin 2016) são severamente afetados.

De forma geral ascídias apresentam maior amplitude de temperatura do que de salinidade (Lambert 2005), mas temperaturas excessivamente baixas podem ser limitantes para espécies tropicais e temperaturas excessivamente altas, para as temperadas. Isso indica que alguns registros de ocorrência podem ocorrer em locais não adequados para reprodução das espécies, restringindo a formação de populações estáveis.

Uma vez que baseamos nossas predições em todos os registros conhecidos de presença, claramente representamos a amplitude de tolerância conhecida das espécies, incluindo regiões geográficas onde a espécie é nativa e também regiões de introdução. Embora usando este procedimento nossa análise de risco provavelmente resulte em uma superestimação dos habitats adequados para as espécies, nós escolhemos esta abordagem não conservadora por se tratarem de espécies que apresentam risco de impacto. Adicionalmente, a extensão das distribuições nativas das espécies estudadas ou não são conhecidas ou apresenta lacunas e, então, não é possível prever a amplitude das

introduções e invasões utilizando uma abordagem que distingue os registros de ocorrência. Neste caso, o princípio da precaução sugere indicar as áreas, mesmo que não perfeitamente adequadas.

Os mapas claramente evidenciaram áreas adequadas para todas as espécies, além da distribuição atualmente conhecida. Combinando nossas predições de adequabilidade ambiental com estimativas de pressão de propágulos (Seebens *et al* 2013) nós fomos capazes de prever importantes estágios do processo de invasão: (i) possibilidade de transporte, sugerida pela disponibilidade de vetores possibilitando a superação de barreiras naturais; (ii) áreas de possível introdução e (iii) estabelecimento, identificadas pela adequabilidade ambiental e recebimento de propágulos de regiões onde as espécies ocorrem atualmente; (iv) potencial de invasão, sugerida pela identificação das áreas de adequabilidade onde existem registros isolados de presença, mas que permitiriam a expansão da área de vida destas espécies que já foram introduzidas e, portanto, recebem propágulos em intensidade suficiente.

Identificamos as regiões costeiras ("biogeographic realms" *sensu* Spalding *et al*. 2007) com maior conectividade entre si e potencialmente responsáveis pela futura dispersão de todas as espécies às respectivas regiões com adequabilidade ambiental. Nas escalas regional e local a análise de risco está subestimada porque não leva em conta outros vetores potenciais não incluídos neste estudo que poderiam contribuir com a dispersão regional e local: por exemplo, movimentos relacionados a aquicultura são considerados responsáveis para a introdução de *S. clava*, *B. violaceus* e *B. schlosseri* no Canadá (Locke *et al*. 2007) e no Golfo de Maine, *B. violaceus* e *D. vexillum* podem ser introduções provenientes da importação de ostras (*Crassostrea gigas*) do Pacífico (Dijkstra *et al*. 2007). Adicionalmente, no Golfo de Saint Lawrence, embarcações recreativas constituem o mais importante vetor para a dispersão local de ascídias (Darbyson *et al*. 2009a). Outras atividades humanas também podem facilitar a introdução e dispersão de ascídias. Empreendimentos humanos nas regiões costeiras aumentam o escoamento terrestre e podem auxiliar a suspensão de partículas e aumentar a disponibilidade de recurso para organismos filtradores, incluindo as ascídias, além de aumentar a disponibilidade de substrato (Monniot *et al*. 1985; Lambert 2007; Simkanin *et al*. 2012; Airoldi *et al*. 2015).

Por outro lado, diversos fatores ecológicos podem limitar a distribuição natural de ascídias incluindo, a disponibilidade de substratos (Shenkar *et al*. 2008), presença de

predadores (Rius *et al*. 2014a) e competição (Lambert 2005). A inclusão das variáveis listadas acima poderia aumentar a capacidade preditiva dos modelos utilizados.

MaxEnt é reconhecido como um dos melhores pacotes de modelagem testados em modelos binários de presença/ausência (ROC-AUC) (Elith *et al*. 2006), no entanto as análises utilizadas aqui não corroboram com estes resultados. Como os dados utilizados para gerar e testar as previsões deste estudo foram constantes nos diferentes modelos utilizados, foi possível comparar os resultados ROC-AUC e TSS dos diferentes modelos para cada uma das espécies. O desempenho inferior de MaxEnt em relação aos modelos RF e SVM pode ser decorrente de sua sensibilidade à área de *background* (Phillips, 2008). Modelos alternativos poderiam ser construídos testando e aplicando correções às amostragens das presenças utilizadas para treino, teste e pseudoausências "aleatórias" e utilizando mais ou diferentes variáveis ambientais (potencialmente em diferentes resoluções).

Dois tipos de erros são comuns em MNE: o viés geográfico na seleção de ocorrências (e *background*) levando a autocorrelação espacial (Segurado *et al*. 2006) e a multicolinearidade entre as variáveis preditoras (Graham 2003). De forma geral, pontos em *background* são selecionados aleatoriamente de toda a área do estudo, desta forma o tamanho total a área de estudo determina a extensão em que os pontos em *background* serão selecionados. Se a área de estudo determinada for muito grande, algoritmos sensíveis a este aspecto podem falhar ao categorizar características do nicho da espécie em escalas menores (Lobo *et al*. 2010). As análises foram realizadas para as regiões costeiras com a extensão da ZEE da maioria dos países. Ao retirar as quadrículas correspondentes ao oceano aberto em nossas análises nós limitamos a área para amostragem de pontos no *background* (Elith *et al* 2011). Além disso, as ascídias incluídas neste estudo pertencem a espécies encontradas apenas em regiões rasas sobre a plataforma continental. De fato, a extensão ambiental poderia ainda ser muito menor para o nosso conjunto de espécies, já que todos os indícios sugerem que as introduções ocorrem nas regiões litorâneas com profundidade inferior a 20 m. Incluir a ZEE é importante para decisões e medidas de manejo no âmbito das nações, mas o realismo dos modelos para ascídias poderiam ser aprimorados, entre outras opções, restringindo ainda mais os pontos em *background* às quadrículas nas regiões litorâneas, onde as espécies são encontradas (Phillips *et al*. 2009).

Com base na biologia e hábito de ascídias pré-selecionamos variáveis potencialmente relevantes (Araújo e Luoto, 2007; Elith *et al*. 2010; Verbruggen *et al*.

2013) e eliminamos variáveis fortemente correlacionadas com base nas correlações de Pearson (Elith *et al*. 2010). Este método foi demonstrado mais eficiente para a melhoria das predições de MNE do que a partição dos registros e a seleção da área de *background* (Verbruggen *et al*. 2013) mencionada anteriormente.

O viés geográfico dos registros de ocorrência geralmente tem origem no fato de que algumas regiões são mais amostradas do que outras, como por exemplo o litoral do continente europeu. Mesmo que o número de pontos por regiões seja suficiente para utilização nos modelos, no caso das populações introduzidas, os registros devem ser preferencialmente de populações que tiveram algum tempo para se estabelecer de forma que o espaço ambiental ocupado nas distribuições introduzidas, de fato seja representativo do nicho da espécie. Os *outliers* na Fig. 3, por exemplo, podem indicar registros de indivíduos isolados em locais onde a espécie não está efetivamente estabelecida e se reproduzindo. Embora uma das suposições centrais de MNE seja violada ao incluir registros de locais de introdução (que raramente estão em equilíbrio com o ambiente), modelos utilizando ocorrências das áreas introduzidas estão mais sujeitos a subestimar a distribuição potencial das espécies do que superestimar (Vaclavik and Meentemeyer 2012). Previsões feitas com o uso de MNE utilizando ocorrências apenas das distribuições nativas assumem que as espécies conservam seu nicho (Peterson *et al*. 1999, Wiens and Graham 2005), embora tenha sido demonstrado que após a invasão na realidade as espécies podem deslocar seu nicho (Broennimann *et al*. 2007). Desta forma, a utilização de ocorrências aleatorizadas em ambas as distribuições (nativa/não-nativa) beneficiam as previsões dos modelos por considerar tanto as ocorrências que provavelmente estão em equilíbrio com o ambiente quanto as ocorrências que podem informar sobre deslocamentos no nicho da espécie (Broennimann e Guisan 2008, Jimenez-Valverde *et al*. 2011)

Dada a suposição de que as amostragens aleatorizadas para treino e teste são independentes, não está claro o porquê do menor desempenho preditivo em todos os modelos para as espécies *B. nigrum* e *D. perlucidum*. Estas espécies também coincidem ao apresentar a menor amplitude térmica e a maior contribuição da variável SSTmax na construção dos modelos dentre todas as espécies. O desempenho dos modelos pode ser inferior para estas espécies se a inclusão das variáveis ambientais utilizadas não representa as condições a que o táxon está potencialmente adaptado ou se a distribuição destes organismos e/ou a aleatorização das ocorrências para treino e teste não representaram dimensões do nicho destas espécies (Araújo e Pearson 2005).

Os modelos *ensemble* são teoricamente mais consistentes e se demonstraram mais coerentes, produzindo mapas de adequabilidade mais aproximados à distribuição esperada destas espécies do que os diferentes modelos isolados. Os modelos SVM e RF geraram predições muito amplas e MaxEnt distribuições muito restritivas. Estes modelos estão restritos à sua habilidade de prever o nicho fundamental das espécies já que eles são treinados nas condições do nicho realizado. Dadas as limitações da técnica, a utilização das ocorrências em ambas as distribuições nativa e não-nativa tende a aprimorar seus resultados (Jiménez-Valverde *et al*. 2011). A acurácia das variáveis ambientais e sua disponibilidade também podem potencialmente limitar os modelos. Variáveis em escalas globais resumidas de médias anuais de vários anos podem ser utilizadas para prever padrões globais, mas não refletir condições em escalas menores e eventos espúrios que poderiam restringir a distribuição das espécies.

Existe um cenário complexo de conectividade entre regiões marinhas relacionado às rotas internacionais de navegação e os propágulos que chegam em novas regiões podem ter sua origem tanto em áreas nativas como em áreas já invadidas. Além do comércio marítimo, outros vetores como aquicultura e comércio de espécies ornamentais podem criar outras rotas de introdução. Portanto, mesmo que inicialmente a taxa de conectividade conhecida reduza o risco de introdução em várias regiões, os mapas aqui apresentados informam áreas que devem ser priorizadas para o monitoramento de futuras introduções e áreas em que medidas imediatas no controle populacional de espécies já estabelecidas devem ser tomadas devido ao risco de expansão de sua distribuição. Nosso estudo demonstra que MNE pode ser uma importante ferramenta em análises de risco tentando prever novas áreas de introdução, na medida em que considere a adequabilidade ambiental em uma abordagem espécie-específica. Porém é possível que antes mesmo que este estudo seja disponibilizado à comunidade científica, novos registros sejam reportados, dado o risco de introdução destes organismos. Portanto a revisão dos modelos incluindo novos registros de ocorrência é necessária periodicamente, especialmente para espécies que apresentem rápida taxa de dispersão. Outra abordagem necessária é a revisão dos modelos com base nas projeções de variação das variáveis ambientais com as mudanças climáticas previstas pelo IPCC (IPCC 2001; 2007; 2014).

Embora pareça uma abordagem simples determinar a probabilidade de introdução e invasão baseada nas técnicas aqui utilizadas, esforços subsequentes podem permitir utilizar abordagens mais complexas para estimar o impacto decorrente de

espécies invasoras (Rouget *et al.*, 2016). Com base no entendimento das dinâmicas de invasões, se espera que estratégias e políticas de manejo sejam implementadas com o intuito de prever futuras invasões, mas também, resultados como os deste estudo podem guiar futuros estudos utilizando abordagens filogenética de populações com o objetivo de encontrar a origem das introduções e direções do fluxo genético a fim de prever quais populações teriam o maior potencial de invasão.

Referências

Addison P, *et al*. 2013. Practical solutions for making models indispensable in conservation decision-making. *Diversity and Distributions* 19, 490–502.

Aguin-Pombo D, 2012. Biological invasions and global trade. In: Mendonça, A., *et al*. Natural Resources, Sustainability and Humanity. Springer, Netherlands, pp. 83-99.

Airoldi L, *et al*. 2015. Corridors for aliens but not for natives : effects of marine urban sprawl at a regional scale. *Diversity and Distributions* 21, 755–768.

Allouche O, *et al*. 2006. Assessing the accuracy of species distribution models: prevalence, kappa and the true skill statistic (TSS) *Jour. Appl. Ecol.* 43, 1223–1232.

Alurrande G, *et al*. 2013. A re-evaluation of morphological characters of the invasive ascidian Corella eumyota reveals two different species at the tip of South America and in the South Shetland Islands, Antarctica. *Polar Biology* 36, 957–968.

Araújo MB e RG Pearson, 2005. Equilibrium of species distributions with climate. *Ecography* 28, 693–695.

Araújo MB e Guisan A, 2006. Five (or so) challenges for species distribution modelling. J*ournal of Biogeography* 33, 1677–1688.

Araújo MB e New 2007. Ensemble forecasting of species distributions. *Trends in Ecology & Evolution* 22(1), 42–47.

Araújo MB e Luoto M, 2007. The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change. *Global Ecol. Biogeogr.* 16, 743–753.

Araújo MB e Peterson AT, 2012. Uses and misuses of bioclimatic envelope modeling. *Ecology*, 93 (7), 1527 – 1539.

Auker LA e Oviatt CA 2008. Factors influencing the recruitment and abundance of Didemnum in Narragansett Bay, RhodeIsland. ICES *J Mar Sci* 65 765–769.

Ayre DJ, *et al*. 1997. Genetic evidence for contrasting patterns of dispersal in solitary and colonial ascidians. *Marine Biology* 130, 51–61.

Ba J, *et al*. 2010. Is *Gammarus tigrinus* (Crustacea, Amphipoda) becoming cosmopolitan through shipping? Predicting its potential invasive range using ecological niche modeling. *Hydrobiologia* 649, 183–194.

Barve N, *et al*. 2011. The critical role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. *Ecol. Model.* 222, 1810–1819.

Berman J, *et al*. 1992. Recent Invasions of the Gulf of Maine: Three Contrasting Ecological Histories. *Conservation Biology* 6, 435–441.

Blackburn TM, *et al*. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 26 (7), 333–339.

Bock DG *et al*., 2011. Looking at both sides of the invasion: patterns of colonization in the violet tunicate Botrylloides violaceus. *Molecular Ecology* 20(3), 503–516.

Bouchemousse S, *et al*. 2016. Contrasting global genetic patterns in two biologically similar, widespread and invasive Ciona species (Tunicata, Ascidiacea) *Scientific Reports* 6, 24875 .

Brewin, BI 1946. Ascidians in the vicinity of the Portobello marine biological Station, Otago harbour. Transactions of the Royal Society of New Zealand 76, 87– 131.

Broennimann O, *et al*. 2007. Evidence of climatic niche shift during biological invasion. *Ecology Letters* 10, 701–709.

Broennimann O e Guisan A, 2008. Predicting current and future biological invasions: both native and invaded ranges matter. *Biology Letters* 4, 585–589.

Brunetti R, *et al*. 1980. Combined effects of temperature and salinity on colonies of Botryllus schlosseri and Botrylloides leachi (Ascidiacea) from the venetian lagoon. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2, 303–314.

Busby JR, 1991. BIOCLIM – a bioclimate analysis and prediction system. Em: *Nature Conservation: Cost Effective Biological Surveys and Data Analysis*. (eds. Margules CR e Austin MP), 64–68. CSIRO, Victoria, Autralia.

Bullard SG e Carman 2009. Current trends in invasive ascidian research. In: Wilcox CP, Turpin CP (eds), Invasive Species: Detection, Impact and Control. *Nova Science Publishers*, New York, 57–79.

Callahan AG, *et al*. 2010. Survey of harbours in Newfoundland for indigenous and non-indigenous ascidians and an analysis of their cytochrome c oxidase I gene sequences. *Aquatic Invasions* 5 (1), 31–39.

Carlos-Junior LA, *et al*. 2014. Ecological Niche Model used to examine the distribution of an invasive, non-indigenous coral. *Marine environmental research*103, 115–124.

Carver CE, *et al*. 2003. Strategies to mitigate the impact of Ciona intestinalis (L.) biofouling on shellish production. *J. Shellish Res.* 22, 621–631.

Cohen NA e Carlton JT, 1998. Accelerating invasion rate in a highly invaded estuary. *Science*, 279, 555–558.

Colautti RI, *et al*. 2004. Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7, 721–733.

Coles SL, *et al*. 1999. Historical and recent introductions of non-indigenous marine species into Pearl Harbor, Oahu, Hawaiian Islands. *Marine Biology* 135, 147–158.

Connell, SD 2000. Floating pontoons create novel habitats for subtidal epibiota *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 247, 183–194.

Coutts AD e Dodgshun TJ, 2007. The nature and extent of organisms in vessel sea-chests: A protected mechanism for marine bioinvasions. *Mar. Pollut. Bull*. 54(7), 875 – 886.

Cox JG e Lima SL, 2006. Naïveté and an aquatic-terrestrial dichotomy in the effects of introduced predators. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 674–680.

Crafton ER, 2015. Modeling invasion risk for coastal marine species utilizing environmental and transport vector data. *Hydrobiologia* 746, 349–362.

Darbyson E, *et* al., 2009. Marine boating habits and the potential for spread of invasive species in the Gulf of St. Lawrence. *Aquatic Invasions* 4, 87–94.

Dias, PJ *et al*. 2016. Investigating the cryptogenic status of the sea squirt Didemnum perlucidum (Tunicata, Ascidiacea) in Australia based on a molecular study of its global distribution. *Aquatic Invasions* 11, 239–245.

Dijkstra J *et al*. 2007 Distribution and long-term temporal patterns of four invasive colonial ascidians in the Gulf of Maine. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 342, 61–68.

Dijkstra JA e Simkanin C, 2016. Intraspecific response of colonial ascidians to variable salinity stress in an era of global change. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 551, 215– 225.

Diniz-Filho *et al*. 2009. Partitioning and mapping uncertainties in ensembles of forecasts of species turnover under climate change. *Ecography* 32: 897–906.

Dullinger S, *et al*. 2009. Niche-based distribution modelling of an invasive alien plant: Effects of population status, propagule pressure, and invasion history. *Biological Invasions* 11, 2401–2414.

Duncan RP, *et al*. 1999. Determinants of geographical range sizes: a test using introduced New Zealand birds. *J. Anim. Ecol.* 68, 963−975.

Dupont L, *et al.*, 2010. Pathways of spread of the introduced ascidian *Styela clava* (Tunicata) in Northern Europe, as revealed by microsatellite markers. *Biological Invasions* 12, 2707–2721.

Dybern BI, 1963. Biotope choice in *Ciona intestinalis* (L.). Influence of light. *Zool. Bidr. Uppsala.* 35, 589–601.

Dybern BI, 1967. The distributions and salinity tolerance of *Ciona intestinalis* (L.) f. *typica* with special reference to the Waters around southern Scandinavia. *Ophelia* 4, 207–26.

Elith J, *et al*. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurence data. *Ecography* 29, 129–151.

Elith J e Graham Cm, 2009. Do they? How do they? WHY do they differ? ... on finding reasons for differing performances of species distribution models. *Ecography* 32, 66–77.

Elith J *et al*. 2010. The art of modelling range-shifting species. *Methods Ecol. Evol.* 1:330–342.

Elith J, *et al.*, 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions* 17, 43–57.

Epelbaum A, *et al.*, 2009. Temperature and salinity effects on growth, survival, reproduction, and potential distribution of two non-indigenous botryllid ascidians in British Columbia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 369, 43–52.

Farber O e Kadmon R, 2003. Assessment of alternative approaches for bioclimatic modeling with special emphasis on the Mahalanobis distance. *Ecol. Modell.* 160, 115–130.

Fielding AH e Bell JF, 1997. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environ. Conserv.* 24, 38–49.

Gab-Alla AAFA, 2008. Distribution of the sea squirt Ecteinascidia thurstoni Herdman, 1890 (Ascidiacea: Perophoridae) along Suez Canal and Egyptian Red Sea Coasts. *Oceanologia* 50, 239–253.

Ghabooli S *et al*. 2013. Genetic diversity in introduced golden mussel populations corresponds to vector activity. *PLoS One* 8, e59328.

Goodbody I, 2004. Diversity and distribution of ascidians (Tunicata) at Twin Cays, Belize. *Atoll. Res. Bull.* 524, 1–20.

Goldstein SJ, *et al.*, 2011. Global phylogeography of the widely introduced North West Pacific ascidian *Styela clava*. *PLoS One* 6 (2), e16755.

Graham MH, 2003. Confronting multicollinearity in ecological multiple regression. *Ecology* 84, 2809–2815.

Grinnell J, 1917. The niche-relationships of California Thrasher. *Auk* 34, 427–433.

Guisan A e Zimmermann N, 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecol. Modell.* 135, 147–186.

Guisan A e Thuiller W, 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8, 993–1009.

Guo Q *et al*. 2005. Support vector machines for predicting distribution of sudden oak death in California. *Ecological Modelling* 182, 75–90.

Hassan A e A Ricciardi, 2014. Are non-native species more likely to become pests? Influence of biogeographic origin on the impacts of freshwater organisms. *Front. Ecol. Environ* 12, 218–223.

Herborg L, *et al*. 2007. Predicting the range of chinese mitten crabs in Europe. *Conserv. Biol*. 21, 1316–1323.

Herborg L, *et al*., 2009. Forecasting the potential distribution of the invasive tunicate *Didemnum vexillum*. *Journal of Applied Ecology* 46, 64–72.

Hewitt CL, *et al*. 2004. Introduced and cryptogenic species in Port Phillip Bay, Victoria, Australia. *Marine Biology* 144, 183–202.

Hewitt CL *et al*. 2009. The Vessel as a Vector – Biofouling, Ballast Water and Sediments. Capítulo 6 In: G. Rilov JA e Crooks 2009, Biological Invasions in Marine Ecosystems. *Ecological Studies* 204, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg* 2009, 117-131.

Hijmans RJ, 2012. Cross-validation of species distribution models: Removing spatial sorting bias and calibration with a null model. *Ecology* 93, 679–688.

Hill SB e Kotanen PM, 2009. Evidence that phylogenetically novel non-indigenous plants experience less herbivory. *Oecologia* 161, 581–90.

Hortal J, *et al*. 2012. Basic questions in biogeography and the (Lack of) Simplicity os Species Distributions: Putting species distribution models in the right place. Natureza e Conservação 10(2), 108 – 118.

Hulme PE, 2009. Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology* 46, 10–18.

Hutchinson GE, 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol*. 22, 415–427.

IPCC, 2001. IPCC Third Assessment Report: Climate Change (TAR) – Synthesis Report.

IPCC, 2007. IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change (AR4) – Synthesis Report.

IPCC, 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)].

IMO 2004. International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments. International Maritime Organization. http://www.imo.org.

Januario SM, *et al*. 2015. Combining environmental suitability and population abundances to evaluate the invasive potential of the tunicate *Ciona intestinalis* along the temperate South American coast. *PeerJ* 3, e1357.

Jeschke JM e Strayer DL, 2008. Usefulness of bioclimatic models for studying climate change and invasive species. *Ann. NY Acad. Sci*. 1134, 1–24.

Jiménez-Valverde e Lobo 2007. Threshold criteria for conversion of probability of species presence to either–or presence–absence. *Acta Oecologica* 31, 361–369.

Jiménez-Valverde A, *et al*. 2008. Not as good as they seem: the importance of concepts in species distribution modelling. *Diversity Distributions* 14, 885–890.

Jiménez-Valverde *et al*. 2011. Use of niche models in invasive species risk assessments. *Biological Invasions* 13 (12), 2785 – 2797.

Kaschner K, *et al*. 2010. Editors AquaMaps Environmental Dataset: Half-Degree Cells Authority File (HCAF). *Publicação online.*

Keller *et al*. 2011. Linking environmental conditions and ship movements to estimate invasive species transport across the global shipping network. *Diversity and Distributions* 17, 93–102.

Kolar CS e DM Lodge, 2002. Ecological predictions and risk assessment for alien fishes in North America. *Science* 298, 1233–1236.

Kremer LP e Rocha RM 2016. The biotic resistance role of fish predation in fouling communities. *Biological Invasions* 18, 3223–3237.

Lambert G, 2005. Ecology and natural history of the protochordates. *Can. J. Zool.* 83, 34–50.

Lambert G, 2007. Invasive sea squirts: A growing global problem. *Journ. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 342, 3–4.

Lambert CC e Lambert G 1998. Non-indigenous ascidians in southern California harbors and marinas. *Marine Biology* 130, 675–688.

Lambert CC e Lambert G 2003. Persistence and differential distribution of non-indigenous ascidians in harbors of the Southern California Bight. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 259, 146–161.

Leidenberger S, *et al*. 2015. Evaluating the potential of ecological niche modelling as a component in marine non-indigenous species risk assessments. *Marine Pollution Bulletin* 97, 470–487.

Liu X, *et al*. 2005. Selecting thresholds of occurrence in the prediction of species distributions. *Ecography* 28, 385–393.

Liu X *et al*. 2009. Measuring the accuracy of species distribution models: a review 18th World IMACS / MODSIM Congress, Cairns, Australia 13-17 July 2009 http://mssanz.org.au/modsim09.

Liu X, *et* al. 2011. Increasing potential risk of a global aquatic invader in Europe in contrast to other continents under future climate change. *PloS One* 6, e18429.

Lobo JM, *et al*., 2007. How does the knowledge about the spatial distribution of Iberian dung beetle species accumulate over time? *Diversity and Distributions* 13, 772–780.

Lobo JM, et al., 2008. AUC: a misleading measure of the performance of predictive distribution models. *Glob. Ecol. Biogeogr*. 17, 145–151.

Lobo JM, et al., 2010. The uncertain nature of absences and their importance in species distribution modelling. *Ecography* 33, 103–114.

Locke A, *et al.*, 2007. Invasion of the southern Gulf of St. Lawrence by the clubbed tunicate (Styela clava Herdman): potential mechanisms for invasions of Prince Edward Island estuaries. *J Exp Mar Biol Ecol* 342, 69–77.

Locke A, *et al.*, 2009. Rapid response to non-indigenous species. 2. Case studies of non-indigenous tunicates in Prince Edward Island. *Aquatic Invasions* 4, 249-258.

Lockwood JL, *et al*. 2007. *Invasion Ecology*. Blackwell, Oxford.

López-Legentil S, *et al*. 2015. Harbor networks as introduction gateways:contrasting distribution patterns of native and introduced ascidians. *Biological Invasions* 17 (6), 1623–1638.

Lowen JB *et al*. 2016. Effects of spatial resolution on predicting the distribution of aquatic invasive species in nearshore marine environments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*556, 17–30.

Mack RN, *et al*. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10, 689–710.

Madariaga, D J *et al.,* 2014. Environmental tolerance of the two invasive species Ciona intestinalis and Codium fragile: their invasion potential along a temperate coast. *Biological Invasions* 16 (12), 2507–2527.

Mahalanobis PC, 1936. On the generalized distance in statistics. *Proc. Natl. Inst. Sci. India* 12, 49–55.

Marins FO, *et al*. 2009. Reinclusion of *Ciona intestinalis* (Ascidiacea: Cionidae) in Brazil—a methodological view. *Biodiversity Records* 1 – 5.

Marins FO, *et al*. 2010. Non indigenous ascidians in port and natural environments in a tropical Brazilian bay. *Zoologia*, 27 (2), 213–221.

McGeoch MA, *et al*. 2010. Global indicators of biological invasion: species numbers, biodiversity impact and policy responses. *Diversity and Distributions* 16, 95–108.

McKindsey CW, 2007. Bivalve aquaculture and exotic species: a review of ecological considerations and management issues *Journal of Shellfish Research* 26 (2), 281–294.

Millar RH, 1971. The Biology of Ascidians. *Adv.Mar. Biol.* 9, 1–100.

Molnar JL, *et al*. 2008. Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Front. Ecol. Environ.* 6, 485–492.

Monniot C *et al*. 1985. Ascidies du port de Papeete (Polynesie française): relations avec le milieu naturel et apports intercontinentaux par la navigation. *Bull. Muséum National D'Histoire Naturelle*, Paris - A, 7(3), 481-495.

Monniot C e F Monniot, 1997. Record of ascidians from Bahrain, Arabian Gulf with three new species. *Journal of Natural History*, London, 31, 1623-1643.

Monniot F, 2009. Some ascidians from Indonesian marine lakes (Raja Ampat Islands, West Papua) *Zootaxa*, 13–40.

Mineur F, *et al*. 2012. Changing coasts: marine aliens and artificial structures. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Ver.* 50, 189–234.

Muñoz AR e Real R, 2006. Assessing the potential range expansion of the exotic monk parakeet in Spain. *Diversity and Distributions* 12, 656–665.

Nagar AE, et al., 2010. Widespread occurrence of the Southern Hemisphere ascidian Corella eumyota Traustedt, 1882 on the Atlantic coast of Iberia. *Aquatic Invasions* 5(2), 169–173.

Nogués-Bravo D, 2009. Predicting the past distribution of species climatic niches. *Global Ecology and Biogeography* 18, 521–531.

Nomaguchi TA, *et al.*, 1997. Embryonic thermosensitivity of the ascidian, Ciona savignyi. *Zool. Sci*. (Tokyo), 14, 511–516.

Parker JD, *et al*. 2013. Do invasive species perform better in their new ranges? *Ecology* 94, 985–994.

Paulay G, *et al*. 2002. Anthropogenic biotic interchange in a coral reef ecosystem: a case study from Guam. *Pac. Sci.* 56 (4), 403–422.

Pearman PB, *et al*. 2010. Within-taxon niche structure: Niche conservatism, divergence and predicted effects of climate change. *Ecography* 33, 990–1003.

Pearson RG e Dawson TP, 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimatic envelope models useful? *Glob. Ecol. Biogeogr*. 12, 361-371.

Peterson AT, *et al*. 1999. Conservatism of Ecological Niches in Evolutionary Time. *Science* 285, 1265–1267.

Peterson AT, 2003. Predicting the geography of species' invasions via ecological niche modeling. *Quarterly review of biology* 78, 419–433.

Peterson AT, 2006. Uses and requirements of ecological niche models and related distributional models. *Biod. Inform*. 3, 59–72.

Peterson AT, *et al*. 2011. Ecological niches and geographic distributions. *Monographs in Population Biology* 49. Princeton University Press, Princeton, NJ. Phillips SJ, 2004. A maximum entropy approach to species distribution modeling. In: *Proceedings of the 21st International Conference on Machine Learning*, ACM, New York, 655–662.

Phillips SJ, *et al*. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol Modell* 190, 231–259.

Phillips SJ, 2008. Transferability, sample selection bias and background data in presence-only modelling: A response to Peterson et al. (2007). *Ecography* 31, 272– 278.

Phillips SJ e M Dudík 2008, Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation *Ecography* 31, 161–175.

Phillips SJ *et al*. 2009. Sample selection bias and presence-only distribution models: implications for background and pseudo-absence data. *Ecol. Appl*. 19, 181–97.

Pineda MC, *et al.*, 2011. The whereabouts of an ancient wanderer: global phylogeography of the solitary ascidian Styela plicata. *PLoS One* 6 (9), e25495.

Piñeiro *et al*. 2007. Ecology matters: Atlantic-Mediterranean disjunction in the sand-dune shrub Armeria pungens (Plumbaginaceae). *Mol. Ecol.* 16, 2155–2171.

Piola RF e Johnston EL, 2008. Pollution reduces native diversity and increases invader dominance in marine hard-substrate communities. *Diversity and Distributions* 14, 329–342.

Powell MG *et al.*, 2012. The latitudinal position of peak marine diversity in living and fossil biotas. *Journal of Biogeography* 39, 1687–1694.

Primo C e Vázquez E, 2004. Zoogeography of the southern African ascidian fauna. *Journal of Biogeography* 31, 1987-2009.

Pulliam R, 2000. On the relationship between niche and distribution. *Ecology Letters* 3, 349–361.

Prasad *et al*. 2006. Newer classification and regression tree techniques: Bagging and random forests for ecological prediction. *Ecosystems* 9, 181–199.

Raynolds C e Fortune R 2003. What is the view from the boat? Atlantic Canadian Tunicate Workshop Proceedings, Atlantic Veterinary College, PEI Canada March, 23.

Reise K, *et al*. 1998. Introduced marine species of the North Sea coasts. *Helgoland Mar. Res.* 52, 219–234.

Ricciardi A e Atkinson SK, 2004. Distinctiveness magnifies the impact of biological invaders in aquatic ecosystems. *Ecology Letters* 7, 781–84.

Rius M, *et al.*, 2010a. Larval settlement behaviour in six gregarious ascidians in relation to adult distribution. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 418, 151–163.

Rius M, *et al.*, 2010b. Propagule size effects across multiple life-history stages in a marine invertebrate. *Funct. Ecol.* 24, 685–693.

Rius M, *et al.*, 2012. Tracking invasion histories in the sea: facing complex scenarios using multilocus data. *PLoS One* 7, e35815.

Rius M, *et al*. 2014. Mechanisms of biotic resistance across complex life cycles. *J. Ani. Ecol.* 83, 296–305.

Ruiz GM, *et al*. 1997. Global invasions of marine and estuarine habitats by nonindigenous species: mechanisms, extent, and consequences. *American Zoologist* 37, 621–632.

Robinson LM *et al*. 2011. Pushing the limits in marine species distribution modelling: lessons from the land present challenges and opportunities. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 20, 789–802.

Rocha RM, *et al.*, 2009. Bivalve cultures provide habitat for exotic tunicates in southern Brazil. *Aquatic Invasions* 4 (1), 195–205.

Sala OE, *et al*. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287, 1770–1774.

Rouget M, *et al*. 2016. Invasion debt – quantifying future biological invasions. *Diversity and Distributions* 22, 445–456.

Schwartz MW, 2012. Using niche models with climate projections to inform conservation management decisions. *Biol. Conserv*. 155, 149-156.

Seebens H, *et al*. 2013 The risk of marine bioinvasion caused by global shipping. *Ecology Letters* 16(6), 782–790.

Seebens H, *et al*. 2016. Predicting the spread of marine species introduced by global shipping *PNAS* 113(20), 5646–5651.

Segurado P *et al*. 2006. Consequences of spatial autocorrelation for niche-based models. *J. Appl. Ecol*. 43, 433–44.

Simberloff D, 2009. The role of propagule pressure in biological invasions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40, 81–102.

Silva DP, *et al*. 2014. Seeking the flowers for the bees: Integrating biotic interactions into niche models to assess the distribution of the exotic bee species Lithurgus huberi in South America. *Ecol. Modell*. 273, 200–209.

Sims LL, 1984. Osmoregulatory capabilities of three macrosympatric stolidobranch ascidians, Styela clava Herdman, S. plicata (Lesueur), and S. montereyensis (Dall). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 82, 117–129.

Simkanin C, *et* al., 2012. Anthropogenic structures and the iniltration of natural benthos by invasive ascidians. *Marine Ecology* 33, 499–511.

Shenkar N *et al*. 2008. Ascidian recruitment patterns on an artiicial reef in Eilat (Red Sea). *Biofouling* 24, 119–128.

Shenkar N e Loya Y 2008. Ecology and systematics of the ascidian fauna in the Gulf of Eilat (Aqaba). In ‘‘Aqaba-Eilat, The Improbable Gulf”. *Environment, Biodiversity and Preservation,*197–208.

Sheets, EA *et al*. 2016 Investigating the widespread introduction of a tropical marine fouling species. *Ecology and Evolution* 6, 2453– 2471.

Soberón J, 2007. Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters* 10, 1115–1123.

Soberón J e Nakamura M, 2009. Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. *PNAS* 106, 19644–19650.

Spalding MD, *et al*. 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience* 57, 573–583.

Strauss SY, *et al*. 2006. Exotic taxa less related to native species are more invasive. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 5841–5845.

Svane IB e Young CM, 1989. The ecology and behaviour of ascidian larvae. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 27, 45–90.

Therriault TW e Herborg LF, 2008. Predicting the potential distribution of the vase tunicate *Ciona intestinalis* in Canadian waters: informing a risk assessment. ICES *J. Mar. Sci.* 65, 788–794.

Thuiller W, *et al.*, 2005. Niche-based modelling as a tool for predicting the risk of alien plant invasions at a global scale. *Global Change Biology* 11, 2234–2250.

Toop T e Wheatly MG, 1993. Some behavioural and physiological responses of the ascidian Styela plicata (Lesueur) during acclimation to low salinity. *Mar. Behav. Physiol*. 24, 33–44.

Turon et al., 2003. Characterising invasion processes with genetic data: an Atlantic clade of Clavelina lepadiformis (Ascidiacea) introduced into Mediterranean harbours. *Hydrobiologia* 503, 29–35.

Tyberghein L, *et al*. 2012. Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling. *Global Ecol. Biogeogr*. 21, 272–281.

Vaclavik T e RK Meentemeyer, 2009. Invasive species distribution modeling (iSDM): Are absence data and dispersal constraints needed to predict actual distributions? *Ecological Modelling* 220, 3248–3258.

Valladares F, *et al*. 2014. The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecology Letters* 17, 1351–1364.

Vaclavik T e Meentemeyer RK, 2012. Equilibrium or not? Modelling potential distribution of invasive species in different stages of invasion. *Diversity and Distributions* 18(1) 73–83.

Valentine PC *et* al., 2007. Ecological observations on the colonial ascidian Didemnum sp. in a new England tide pool habitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 32, 109– 121.

Valéry L, *et al*. 2009. Invasive species can also be native. *Trends in Ecology & Evolution* 24 (11), 585.

Vázquez E e Young CM, 2000. Effects of low salinity on metamorphosis in estuarine colonial ascidians. *Invertebr. Biol*. 119, 433–444.

Veloz SD, 2009. Spatially autocorrelated sampling falsely inflates measures of accuracy for presence-only niche models. *J. Biogeogr*. 36 2290–2299.

Verbruggen H, *et al*., 2013. Improving transferability of introduced species' distribution models: new tools to forecast the spread of a highly invasive seaweed. *PLoS One* 8, e68337.

Wenger SJ e Olden JD, 2012. Assessing transferability of ecological models: an underappreciated aspect of statistical validation. *Methods Ecol. Evol*. 3, 260–267.

Wiens JJ e Graham CH, 2005. Niche Conservatism: Integrating Evolution, Ecology, and Conservation Biology. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36, 519–539.

Yund, PO *et al*. 2015. Evidence of a Native Northwest Atlantic COI Haplotype Clade in the Cryptogenic Colonial Ascidian *Botryllus schlosseri*. *The Biological Bulletin* 228, 201–216.

Zhan A *et al*. 2010. Invasion genetics of the *Ciona intestinalis* species complex: From regional endemism to global homogeneity. *Molecular Ecology* 19, 4678–4694.

Zhan A *et al*. 2015. Ascidians as models for studying invasion success. *Marine Biology* 162(12), 2449–2470.