

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GIOVANNA DOS SANTOS VALÉRIO

REGENERAÇÃO DA REGIÃO ANTERIOR DO ANELÍDEO *Theodisca aurantiaca* •
(ANNELIDA, ORBINIIDAE) EM CENÁRIOS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS.

PONTAL DO PARANÁ

2025

GIOVANNA DOS SANTOS VALÉRIO

REGENERAÇÃO DA REGIÃO ANTERIOR DO ANELÍDEO *Theodisca aurantiaca*
(ANNELIDA, ORBINIIDAE) EM CENÁRIOS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS.

Monografia/TCC apresentada ao Curso de Oceanografia, Campus Pontal do Paraná, Centro de Estudos do Mar, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Maikon Di Domenico

Coorientadora: Msc. Estela Pires

PONTAL DO PARANÁ
2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DO CENTRO DE ESTUDOS DO MAR

V164r Valério, Giovanna dos Santos
Regeneração da região anterior do anelídeo *Theodisca aurantiaca* (Annelida, Orbiniidae) em cenários de mudanças climáticas / Giovanna dos Santos Valério. – Pontal do Paraná, 2025.
1 arquivo [54 f.] : PDF.

Orientador: Prof. Dr. Maikon Di Domenico
Coorientadora: Msc. Estela Pires

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Paraná, Campus Pontal do Paraná, Centro de Estudos do Mar, Curso de Oceanografia.

1. Anelídeo. 2. Mudanças climáticas. 3. Oceanografia. I. Di Domênico, Maikon. II. Pires, Estela. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDD – 595.14

Bibliotecária: Fernanda Pigozzi CRB-9/1151



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE OCEANOGRÁFIA

Avenida Deputado Aníbal Khury, 2033, - Bairro Balneário Pontal do Sul, Pontal do Paraná/PR,

CEP 83255-976

Telefone: (41) 3511-8626 - <https://ufpr.br/>

ATA DE REUNIÃO

TERMO DE APROVAÇÃO

GIOVANNA DOS SANTOS VALERIO

**“REGENERAÇÃO DA REGIÃO ANTERIOR DO ANELÍDEO *Theodisca aurantiaca* (ANNELIDA, ORBINIIDAE)
EM CENÁRIOS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS”**

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharela em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos membros:

Documento assinado digitalmente
gov.br MAIKON DI DOMENICO
Data: 27/11/2025 18:46:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Maikon Di Domenico

Prof. Orientador - CPP-CEM/UFPR

Documento assinado digitalmente
gov.br CATHERINE GERIKAS RIBEIRO
Data: 28/11/2025 09:21:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Catherine Gerikas Ribeiro

CPP-CEM/UFPR

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCELO VERONESI FUKUDA
Data: 27/11/2025 20:13:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcelo Veronesi Fukuda

Universidade de São Paulo

Pontal do Paraná, 26 de novembro de 2025

Dedico este trabalho à ciência brasileira e a todas as mulheres cientistas que decidiram dedicar suas vidas a produzir conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais pelo apoio financeiro e incentivo durante esta jornada. À minha mãe que me ensinou a ler e a escrever e ao meu pai que me ensinou a sempre acreditar e ir em busca dos meus sonhos. Agradeço à minha avó Terezinha, por todo o apoio, ensinamentos e por desde criança ter me ensinado a fazer todas as coisas com amor.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Maikon Di Domenico, por ter aceitado me orientar quando eu ainda era aluna do segundo ano da graduação e por sempre acreditar em mim - às vezes mais do que eu mesma. Obrigada por todo o apoio durante esses anos, por ter me ensinado a fazer ciência e pelos conselhos e ensinamentos que, com certeza, carregarei ao longo de toda a minha jornada acadêmica e de vida.

Agradeço à minha coorientadora Estela Pires, pela ajuda com os experimentos, positividade durante o processo e por sempre estar disposta a ajudar, desde meu primeiro experimento como PVA.

Agradeço ao Ricardo Álvarez, o responsável por me inserir na poliquetologia e me ensinar a cortar minhocas. Obrigada Ricardo por todo o apoio e ensinamentos durante esses anos, desde o primeiro experimento até o último da graduação. Mesmo distante na maioria das vezes, sempre fez o possível e impossível para me auxiliar em minhas incontáveis turbulências científicas. Quero ser como você quando eu crescer.

Agradeço ao professor Dr. Federico Brown e todos os colegas do laboratório da Evo-Devo do IB-USP por terem aberto as portas para mim e tornado possível a realização deste trabalho. O apoio e recepção de vocês sempre será lembrado e sempre serei grata pelas três semanas intensas de aprendizado. Aproveitando, agradeço ao técnico Enio do Laboratório de Histologia do IB-USP que me auxiliou em todas as etapas, desde a montagem dos moldes (que, convenhamos, foram muitos até eu finalmente aprender) até a montagem das lâminas, sempre me ensinando de forma extremamente paciente.

Agradeço à minha amiga Estefani, que desde o ensino médio me incentivou a correr atrás dos meus sonhos e aguentou inúmeros áudios de reclamações durante esses cinco anos. Obrigada por me fazer enxergar as coisas de forma mais leve e saiba que, mesmo longe, sempre carregarei um pouquinho de você comigo.

Agradeço às minhas amigas Anna Júlia e Isabelly por todo o apoio emocional e científico durante as coletas, experimento e escrita deste trabalho. As inúmeras fofocas e risadas nos intervalos com certeza tornaram esse momento mais leve. Pontal não seria a mesma sem vocês.

Agradeço a todos os colegas que participaram das minhas coletas e que, de alguma forma, me apoiaram nesta trajetória.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a mim mesma pela persistência durante esses cinco anos, positividade mesmo em meio ao caos e, principalmente, por sempre sonhar alto. Obrigada.

“Você evoluiu de verme para homem, mas muito dentro de você ainda é verme.”

- Friedrich Nietzsche.

“O mínimo que posso fazer é falar por aqueles que não podem falar por si mesmos.”

- Jane Goodall.

RESUMO

As mudanças climáticas causam alterações de temperatura e outros fatores ambientais nos ecossistemas costeiros, como os costões rochosos. Os anelídeos marinhos são alguns dos muitos invertebrados que habitam estes ambientes. Devido à sua alta capacidade regenerativa podem ser organismos importantes para os estudos da biologia evolutiva e regeneração. Contudo, estudos que relacionam os efeitos das mudanças climáticas nesse processo ainda são escassos. O presente trabalho avaliou a regeneração anterior do orbinídeo *Theodisca aurantiaca* coletado na Bacia da Sereia, Ilha do Mel, Paraná. O primeiro experimento testou a hipótese de que a regeneração ocorre mais rapidamente em temperaturas mais elevadas, com a avaliação da regeneração anterior e posterior de *T. aurantiaca* em diferentes cenários de mudanças climáticas. O segundo descreveu a regeneração do sistema nervoso da espécie e analisou suas estruturas como potenciais indicadoras da utilidade de *T. aurantiaca* como organismo-modelo para estudos da biologia evolutiva do desenvolvimento (Evo-devo). Foram aplicadas técnicas de clareamento e imunohistoquímica para descrever a regeneração do sistema nervoso sob a temperatura de melhor desempenho observada no experimento 1. Os resultados mostraram que *T. aurantiaca* apresentou maior taxa e rapidez regenerativa nas temperaturas mais elevadas, com o surgimento de novos segmentos e cerdas. O tratamento correspondente ao cenário mais extremo de aquecimento global (28°C) ocasionou maior eficiência na regeneração. As análises imunohistoquímicas revelaram a formação progressiva do sistema nervoso, incluindo os conectivos circumesofágicos, neurônios pericárticos e gânglio cerebral, indicando a reestruturação neural durante o processo regenerativo. Tais resultados mostram que *T. aurantiaca* apresenta uma plasticidade regenerativa e pode ser utilizado como modelo em estudos da evo-devo frente a cenários de mudanças climáticas.

Palavras-chave: Emergências climáticas. *Whole Mount. Clearing*. Regeneração neuronal. Organismo modelo.

ABSTRACT

Climate change alters alterations in temperature and other environmental factors in coastal ecosystems such as rocky shores. Marine annelids are some of the many invertebrates that inhabit these environments. Due to their high regenerative capacity, they can be important organisms for studies of evolutionary biology and regeneration. However, studies relating the effects of climate change to this process are still scarce. This work evaluated the anterior regeneration of the orbiniid *Theodisca aurantiaca* found in the Sereia Basin, Ilha do Mel, Paraná. The first experiment tested the hypothesis that regeneration occurs more rapidly at higher temperatures, by assessing anterior and posterior regeneration of *T. aurantiaca* under different climate change scenarios. The second experiment described nervous system regeneration and analyzed its structures as potential indicators of the suitability of *T. aurantiaca* as a model organism for evolutionary developmental biology (Evo-devo) research. Clearing and immunohistochemical techniques were applied to characterize nervous system regeneration at the optimal temperature identified in the first experiment. Results indicated that *T. aurantiaca* exhibited increased regenerative rates and speed at elevated temperatures, with the formation of new segments and setae. The most extreme global warming scenario (28°C) produced the highest regeneration efficiency. Immunohistochemical analyses revealed progressive development of the nervous system, including circumesophageal connectives, perikaryon neurons, and cerebral ganglion, which limited neural restriction during regeneration. These findings demonstrate that *T. aurantiaca* exhibits regenerative plasticity and is a suitable model for evolutionary studies under climate change scenarios.

Keywords: Climate emergency. Whole Mount. Clearing. Neuronal regeneration. Model organism.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Delimitação do local da coleta dos exemplares de <i>T. aurantiaca</i>	19
FIGURA 2 - A) Região do corte dos animais e distribuição dos fragmentos na placa de poços; T - tórax, AB - abdômen, FA - fragmento A, FB - fragmento B, po - prostômio, pe - peristômio, pi - pigídio. B) Distribuição das placas e aquários por tratamento.....	21
FIGURA 3 - Regeneração no Tratamento 1 ao longo do tempo. A) Tempo 2, fragmento B, em vista latero-ventral; B) Tempo 2, fragmento A, em vista ventral; C) Tempo 7, fragmento B, em vista latero-dorsal; D) Tempo 7, fragmento A, em vista dorsal; E) Tempo 21, fragmento B, em vista ventral; F) Tempo 21, fragmento A, em vista ventral. Escala: 200 µm. Fonte: A autora (2025).....	25
FIGURA 4 - Regeneração no Tratamento 2 ao longo do tempo. A) Tempo 2, fragmento B, em vista dorsal; B) Tempo 2, fragmento A, em vista dorsal; C) Tempo 7, fragmento B, em vista latero-ventral; D) Tempo 7, fragmento A, em vista ventral; E) Tempo 21, fragmento B, em vista ventral; F) Tempo 21, fragmento A, em vista ventral.....	26
FIGURA 5 - Relação dos tratamentos com os segmentos e cerdas. A) Relação entre os segmentos (eixo y) e os tratamentos (eixo x) ao longo do tempo; B) Relação entre a recuperação de cerdas (eixo y) e os tratamentos (eixo x) ao longo do tempo.....	27
FIGURA 6 - Regeneração do Experimento 2. A: Fragmento posterior após o corte no tempo 0, em vista latero-ventral; B: aparecimento do blastema no tempo 2, em vista latero-dorsal; C: início da formação dos segmentos e do prostômio no tempo 5, em vista latero-dorsal; D) prostômio e peristômio bem definidos e segmentos com aparecimento de cerdas no tempo 7, em vista latero-ventral; ar - regiao anterior (<i>ing, anterior region</i>); bl - blastema; nse - new segments; pe - peristômio; po - prostômio; pr - posterior region.....	29
FIGURA 7 - Regeneração do fragmento anterior durante 7 dias com marcações dos anticorpos tubulina (vermelho), serotonina (verde) e dapi (azul), em vista latero-dorsal. A-B: tempo 0; C-D: tempo 2; E-F: tempo 5 ; G-H: tempo 7; bl - blastema; cc - conectivos circumesofágicos (<i>circumeophageal connectives</i>); cns -	

sistema nervoso central (*central nervous system*); cr - região do corte (*cut region*); ns - segmentos novos (*new segments*); po - prostômio (*prostomium*).....31

FIGURA 8 - Marcações do anticorpo serotonina em fragmentos regenerados no tempo 7. A: fragmento 1A, em vista ventral; B: fragmento 2A, em vista latero-dorsal; C: fragmento 3A, em vista ventral; cc - conectivos circumesofágicos (*circumesophageal connectives*); cns - sistema nervoso central (*central nervous system*); pk - pericários (*perikarium*); po - prostômio (*prostomium*); se - segmentos (*setiger*).....32

FIGURA 9 - Comparação da região anterior completa e regenerada, em vista ventral. A, B, C: região anterior completa; D, E, F: região anterior regenerada em 7 dias; cc - conectivos circumesofágicos (*circumesophageal connectives*), cns - sistema nervoso central (*central nervous system*), pk - pericários (*perikarium*), sc - comissura estomatogástrica (*stomatogastric comissure*), sg - gânglio subesofágico (*subesophageal ganglion*), vnc - cordão nervoso ventral (*ventral nerve cord*).....33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Temperaturas dos aquários durante a primeira semana de experimento.....24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Coleta.....	20
3.2 Experimento 1.....	20
3.2.1 Aclimatação e preparação do experimento.....	20
3.2.2 Amputação.....	21
3.2.3 Manutenção e acompanhamento.....	22
3.3 Experimento 2.....	22
3.3.1 Fixação.....	23
3.4 Whole Mount.....	23
3.4.1 Reidratação e Permeabilização.....	23
3.4.2 Incubação em anticorpos primários.....	23
3.4.3 Incubação em anticorpos secundários.....	23
3.4.4 Clareamento com BABB.....	24
3.5 Histologia.....	24
4 RESULTADOS.....	26
4.1 Experimento 1.....	26
4.1.1 Temperatura.....	26
4.1.2 Regeneração.....	26
4.2 Experimento 2.....	30
4.2.1 Regeneração.....	30
4.3 Tubulina e serotonina.....	31
5 DISCUSSÃO.....	36
5.1 Regeneração de <i>T. aurantiaca</i> sob estresse térmico.....	36
5.2 Marcadores imunohistoquímicos.....	38
5.3 Regeneração do Sistema Nervoso Central e estruturas nervosas.....	38
5.4 Comparação entre sistema nervoso completo e o regenerado.....	39
5.5 Sistema nervoso e estresse térmico.....	40
5.6 <i>T. aurantiaca</i> como organismo modelo da Evo-devo.....	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
REFERÊNCIAS.....	43
APÊNDICE 1 – HISTOLOGIA.....	50
1 Materiais e Métodos.....	50
1.1 Inclusão em parafina.....	50
1.2 Cortes e preparação das lâminas.....	50
1.3 Incubação em anticorpos primários.....	50
1.4 Incubação em anticorpos secundários.....	51
2 Resultados.....	51

1 INTRODUÇÃO

Os impactos das mudanças climáticas têm se intensificado nas últimas décadas, sendo possível observar mudanças rápidas na atmosfera, oceanos e biosfera (IPCC, 2023). Tais mudanças, podem atingir os ecossistemas terrestres, de água doce, oceânicos e costeiros, estando suscetíveis aos impactos extremos como fortes precipitações, secas e ondas de calor (Higgins; Conradi; Muhoko, 2023; Woolway; Sharma; Smol, 2022; Muruganandam *et al.*, 2023). Os ecossistemas costeiros, devido à sua alta sensibilidade e complexidade, estão mais propensos às consequências destas alterações ambientais (Toimil *et al.*, 2020).

Os costões rochosos são ecossistemas costeiros, localizados na zona entre-marés, em que os seres que habitam esta região estão suscetíveis aos perigos e impactos tanto do ambiente terrestre quanto do ambiente marinho (Denny; Gaines, 2007; Rilov *et al.*, 2021). Apesar de estarem em uma região turbulenta - sofrem ação das ondas, marés, entre outros -, os costões rochosos abrigam uma grande diversidade de espécies, incluindo mexilhões, algas, ouriços, anêmonas e anelídeos (Denny; Gaines, 2007; Johnson, 2024). Dessa forma, a fauna habitante desses locais, pode estar suscetível às alterações ambientais, como o aumento da temperatura.

Os anelídeos marinhos apresentam excelente capacidade regenerativa, diferindo de acordo com o táxon. Algumas espécies são capazes de regenerar completamente tanto a parte posterior ou anterior - incluindo o sistema nervoso - quanto ambas as partes, sendo possível a regeneração a partir de minúsculos fragmentos de um indivíduo (Bely, 2014).

Estudos de regeneração podem contribuir para as bases da biologia evolutiva do desenvolvimento (Evo-devo) a fim de compreender a condição ancestral destes processos e explicar como eles evoluíram (Alfred; Baldwin, 2015). A Evo-devo utiliza organismos-modelo, os quais devem ser possíveis de se tratar experimentalmente, ou seja, são adaptáveis ao ambiente laboratorial. Além disso, muitos apresentam ciclos de vida mais rápidos, com tempos geracionais mais curtos, propiciando o estudo de traços hereditários e experimentos populacionais (Tworzydlo; Bilinski, 2019).

Esses modelos também podem contribuir na comparação de mudanças celulares e moleculares que ocorrem antes e após o processo de regeneração,

podendo auxiliar na identificação de vias genômicas conservadas entre animais que possuem diferentes capacidades regenerativas, o que pode contribuir para os estudos da medicina regenerativa (Martinez Acosta *et al.*, 2021). Com essas ferramentas, torna-se possível avaliar processos de desenvolvimento de diferentes organismos, podendo assim compará-los com outras espécies e, possivelmente, solucionar questões evolutivas (Tworzydlo; Bilinski, 2019). Esses conhecimentos podem ser úteis no entendimento de diversos fenômenos genéticos, de desenvolvimento, fisiológicos, ecológicos e evolutivos, principalmente os que englobam uma variedade de espécies (Love; Yoshida, 2019).

Estudos realizados com anfínomídeos e onufídeos - anelídeos errantes - retratam que estes animais, quando expostos a diferentes estressores ambientais, reagem de formas diferentes à regeneração (Bhuiyan *et al.*, 2021; Pires *et al.*, 2015). O onuphídeo *Diopatra neapolitana* (Delle Chiaje, 1941), que habita regiões tropicais, indica recuperação mais rápida em maiores temperaturas (Pires *et al.*, 2015). Contudo, estudos em anelídeos sedentários ainda são escassos, o que se deve principalmente a desafios em mantê-los em condições laboratoriais. O orbinídeo *Theodisca aurantiaca* (Müller, 1858) (*Naineris aurantiaca* até 2025, Álvarez *et al.*, 2025), animal intertidal, é abundante em zonas do mediolitoral superior de costões rochosos do sul e sudeste do Brasil (Álvarez, 2019).

Sua capacidade regenerativa foi avaliada recentemente, onde foi observada a regeneração anterior e posterior do animal (Álvarez *et al.*, 2024). Contudo, devido à suscetibilidade de seu habitat aos impactos das mudanças climáticas que devem provocar alterações significativas nos ecossistemas costeiros (IPCC, 2023), essa habilidade pode ser afetada.

Dessa forma, buscou-se testar a regeneração de *T. aurantiaca* associada aos cenários de mudanças climáticas, descrever e avaliar os processos de reestruturação do prostômio, peristômio e primeiros segmentos setígeros, com ênfase na regeneração do sistema nervoso. O primeiro experimento testou a hipótese de que as respostas regenerativas serão mais rápidas no cenário mais extremo de mudanças climáticas. O segundo experimento descreveu a regeneração do sistema nervoso de *T. aurantiaca*, considerando a temperatura de melhor regeneração, e avaliou a capacidade regenerativa das estruturas nervosas como importantes indicadoras da utilidade desses organismos como modelos para a

Evo-devo. Por fim, ao estabelecer a relação entre os dois experimentos, esse trabalho indicou como a regeneração ocorre nessa linhagem, quais suas vias conservadas, as diferenças com outros organismos e como esse traço poderá ser afetado futuramente com os cenários de elevação da temperatura associada ao aquecimento global.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Entre os metazoários a capacidade de regeneração é uma característica presente em muitos filos. A intensidade desse fenômeno pode variar dependendo do táxon. Algumas espécies são capazes de regenerar apenas regiões específicas do corpo, enquanto outras podem regenerar o corpo todo. A causa da regeneração pode estar relacionada com eventos variados, como ferimentos causados pela predação, perturbações físicas e ambientais e também atividades antrópicas (Bely; Nyberg, 2010; Lindsay, 2010). No ambiente marinho, muitos invertebrados possuem a capacidade de substituir partes do corpo que foram perdidas, nisto incluem-se os poríferos, cnidários, platelmintos, hidrozoários, crustáceos, anelídeos, entre outros (Hyman, 1940; Tardent, 1963; Saló, 2006; Hopkins, 2015; Padua; Klautau, 2016; Leclére; Rottinger, 2017).

O Filo Annelida possui animais com uma grande capacidade regenerativa, sendo que cada espécie, ou até mesmo indivíduo, apresenta uma peculiaridade quanto ao processo de cura e regeneração das células (Kostyuchenko; Kozin, 2021). O conhecimento sobre as possibilidades regenerativas deste filo é disseminado desde o século passado, sendo descritos por Hyman (1940) e Herlant-Meewis (1964) como um dos mais importantes no estudo da regeneração, por serem animais que possuem estruturas relativamente simples, além de apresentarem uma capacidade regenerativa muito alta.

À vista disso, entender a regeneração do sistema nervoso é crucial para compreender outros aspectos do processo regenerativo dentro do filo. Em um experimento com a espécie *Eurythoe complanata* (Pallas, 1766), Müller, Berenzen e Westheide (2003) mostraram que os fragmentos regenerados são inervados por fibras do antigo sistema nervoso até que haja a formação e conexão das novas fibras com as pré-existentes. Esse processo de inervação precisa ocorrer dentro de um limite de tempo para que se obtenha êxito, caso contrário, todo o processo regenerativo sofrerá um atraso, podendo ser impossibilitado (Müller; Berenzen; Westheide, 2003). Em experimentos com a espécie *Diopatra claparedii* (Grube, 1878) foi observado que as ramificações de nervos podem inervar na parte exterior do cérebro, característica que se opõe à do cérebro humano (Nazri *et al.*, 2021). Ademais, notou-se que as estruturas principais do sistema nervoso central desse poliqueta são o cérebro e o cordão nervoso; e que existem diferenças significativas

nos estágios regenerativos entre o gânglio do cordão nervoso e os tecidos intactos (Nazri *et al.*, 2021).

Essa habilidade de regenerar fragmentos e estruturas anteriores é uma característica que foi reduzida ou perdida em algumas linhagens, já que o último ancestral dos anelídeos possuía capacidade de regenerar tanto as partes posteriores quanto as anteriores, incluindo o prostômio (Zattara; Bely, 2016). Além disso, a perda da capacidade regenerativa da parte anterior mostrou ser mais comum comparada com a perda da capacidade regenerativa da parte posterior (Zattara; Bely, 2016).

Dessa maneira, a biologia evolutiva do desenvolvimento pode atuar como uma peça-chave no entendimento dos processos evolutivos (Kuo, 2009). Acredita-se que as mudanças fenotípicas são causadas pelas mudanças no desenvolvimento e estas, por sua vez, são tidas como uma consequência de alterações genéticas. Sendo assim, a Evo-devo pode se conectar com o campo da genética de populações e resultar na criação de uma síntese de teorias evolutivas (Kuo, 2009). Por isso, é recomendado que espécies modelo sejam selecionadas levando em consideração a sua tratabilidade experimental - organismos que tenham maior taxa de sobrevivência em laboratório, por exemplo - e a facilidade de obtenção destes organismos - quanto maior a abundância, maior será a representatividade (Kuo, 2009).

É provável que o último ancestral comum dos metazoários atuais possuía algum nível de capacidade regenerativa, de modo que as habilidades regenerativas dos animais contemporâneos sejam historicamente contínuas (Tiozzo; Copley, 2015). Dessa forma, a regeneração, por ser um traço complexo, não pode ser simplesmente encarada a partir da sua distribuição filogenética, mas deve-se primeiro analisar o seu processo de acordo com suas etapas de cicatrização dos ferimentos, de mobilização dos precursores celulares e da morfogênese. A partir dos resultados dessa análise, pode-se compará-las com clados do mesmo filo ou até mesmo da mesma família (Tiozzo; Copley, 2015).

Os estudos de regeneração são vastos com poliquetas errantes, mas escassos em poliquetas sedentários, sendo alguns dos poucos exemplos as famílias Capitellidae, Opheliidae e Arenicolidae que mostraram ausência de regeneração dos segmentos anteriores (Bely, 2006). O gênero *Theodisca* (Müller, 1858),

anteriormente tratado como *Naineris* (Blainville, 1828), pertence à família Orbiniidae e atualmente possui 18 espécies válidas pertencentes à 3 subgêneros (Álvarez *et al.*, 2025). A espécie *Theodisca aurantiaca* foi descrita na costa brasileira por Müller (1858) e redescrita por Álvarez *et al.* (2019) como *Naineris aurantiaca*. Do pouco conhecimento que se tem sobre essa espécie, sabe-se que é um animal intertidal e que ocorre em sedimentos depositados entre rizóides de algas, em bancos de ostras e entre mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Álvarez *et al.*, 2019). Sobre sua morfologia, apresenta papilas anteriores e posteriores às brânquias, brânquias que aumentam de tamanho de forma gradativa, órgãos dorsais que aparecem a partir do décimo segundo segmento, papilas interramais e cerdas furcadas limitadas aos segmentos abdominais (Álvarez *et al.*, 2019).

Theodisca aurantiaca se distribui entre os estados de Santa Catarina e Rio de Janeiro (Álvarez *et al.*, 2019). No litoral do Paraná, pode ser encontrada abundantemente em regiões da Ilha do Mel, como na Bacia da Sereia, e Ilha das Palmas. Vale ressaltar, que ambientes podem moldar comportamentos e ajudar a entender o ciclo de vida e relações presa-predador, bem como a capacidade de adaptação às diferentes condições ambientais (Alfred; Baldwin, 2015). Dessa forma, por viver em um ambiente muito dinâmico e turbulento, com extremos de temperatura, salinidade e exposição aérea nas zonas entremarés, *T. aurantiaca* pode ter características adaptativas interessantes de regeneração que são relacionadas a esses ambientes. Estudos recentes, retratam que estes animais são capazes de realizar a regeneração anterior e posterior, assim como a regeneração bidirecional - bem pouco explorada na espécie -, fazendo com que possam ser potenciais organismos modelo para a biologia evolutiva do desenvolvimento (Álvarez *et al.*, 2024).

Atualmente, seu habitat é um dos ecossistemas mais suscetíveis aos impactos ocasionados pelas mudanças climáticas (IPCC, 2023). Este fato pode estar relacionado com a susceptibilidade ecossistêmica às variações e elevações na temperatura média ambiental, que são capazes de provocar transformações significativas na composição e estrutura das comunidades (Berchez *et al.*, 2008; Guimarães, 2023). De acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2023), a temperatura da superfície global entre 2011 e 2020 foi 1,09 °C mais alta do que entre 1850 e 1900, sendo que sobre o oceano o aumento

foi de aproximadamente 0,88 °C. Posto isto, os invertebrados marinhos bênticos estão entre as espécies consideradas em risco devido à exposição a temperaturas potencialmente perigosas (IPCC, 2023).

T. aurantiaca pode ser um potencial bioindicador destas alterações ambientais em seu habitat. Muitas espécies que possuem capacidade de regeneração podem ser utilizadas como biomarcadoras ecotoxicológicas e bioindicadoras ambientais, de riscos ecológicos e de alterações climáticas por apresentarem sensibilidade a diferentes estressores (Pires, 2022; Pires *et al.*, 2015). Em experimentos com a espécie *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776) (Nereididae) foi observado que as condições ambientais relacionadas às mudanças climáticas afetam as suas atividades fisiológicas, como a regeneração dos tecidos (Bhuiyan *et al.*, 2021). Em testes com anelídeos da espécie *Diopatra neapolitana* (Onuphidae), ao serem expostos a temperaturas mais elevadas, demonstraram maior taxa de regeneração corporal do que os expostos em baixas temperaturas (Pires *et al.*, 2015). Portanto, apesar de saber-se muito pouco sobre os efeitos do aumento da temperatura na sobrevivência de anelídeos poliquetas - principalmente sedentários - , alguns estudos já demonstram uma direção para tais respostas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta

A coleta dos exemplares foi realizada em duas datas, uma no mês de fevereiro de 2024 - para o experimento 1 - e outra no mês de junho de 2025 - para o experimento 2 - na Praia de Encantadas, Ilha do Mel (PR), no costão rochoso da Bacia da Sereia (Figura 1). O processo consistiu na raspagem da camada de sedimentos associada às algas da espécie *Caulerpa fastigiata*, nas rochas do mesolitoral inferior, com a utilização de espátulas. Os materiais coletados foram armazenados em baldes e transportados para o Centro de Estudos do Mar (CEM/UFPR).

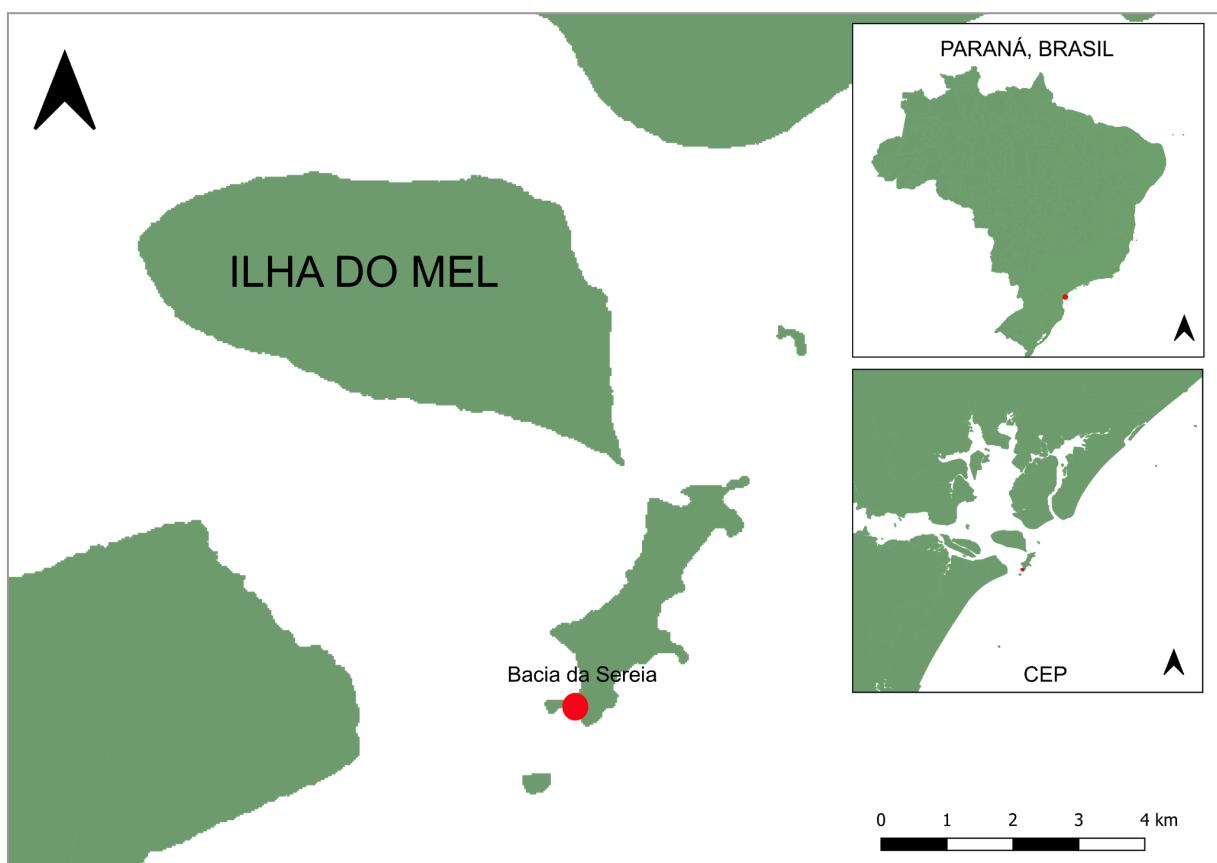


Figura 1. Delimitação do local da coleta dos exemplares de *T. aurantiaca*. Fonte: A Autora (2025).

3.2 Experimento 1

3.2.1 Aclimatação e preparação do experimento

Os animais coletados foram levados ao Laboratório de Ecologia Marinha (ECOMar) do CEM/UFPR onde foi realizada a triagem. O procedimento consistiu na

separação dos animais dos sedimentos por processo semelhante ao da flotação e por separação manual. Foram selecionados os animais que estavam inteiros, sem indícios de fragmentação e/ou regeneração. Os espécimes foram colocados em bêqueres de 500 mL com água do mar filtrada 0,22 µm e mantidos sob acondicionamento em temperatura ambiente (24°C) e salinidade ideal (32) durante três dias. Foram alimentados diariamente com 2 mL da microalga *Tetraselmis* sp.

Durante o período de acondicionamento, seis aquários foram preenchidos com 5 litros de água do mar - 0,22 µm, autoclavada - cada. Adicionou-se quatro placas de poços, envoltas em malhas de 150 µm, em cada aquário. As malhas foram utilizadas para evitar o escape dos animais durante o experimento. Para manter as placas presas no fundo do aquário, foram adicionados chumbos de pesca.

Foram utilizados aquecedores/termostatos nos aquários do controle, em que a temperatura inicial seria de 24°C, e do tratamento 2, em que a temperatura inicial seria de 28°C. Os aquários do tratamento 1 foram mantidos na temperatura de 20°C graus. As temperaturas foram estabelecidas de acordo com um dos cenários previstos pelo IPCC de aumento da temperatura de até 4,5°C até o ano de 2100.

3.2.2 Amputação

O processo de amputação dos animais foi realizado mediante anestesia com cloreto de magnésio em salinidade 30 com o auxílio de um bisturi. O corte foi feito na região que divide o tórax e abdômen, segmentos que variam de acordo com o indivíduo, originando o fragmento A - anterior - e o fragmento B - posterior (Figura 2A).

Após esse processo, os animais foram colocados em contato com a água do mar para recuperação pós-anestésica. Os fragmentos foram adicionados individualmente, de forma aleatória, nas placas de poço e, posteriormente, nos aquários (Figura 2B). Foram ligados tubos de aeração aos aquários para a oxigenação. No total, foram utilizados 72 indivíduos de *T. aurantiaca* que resultaram em 144 fragmentos.

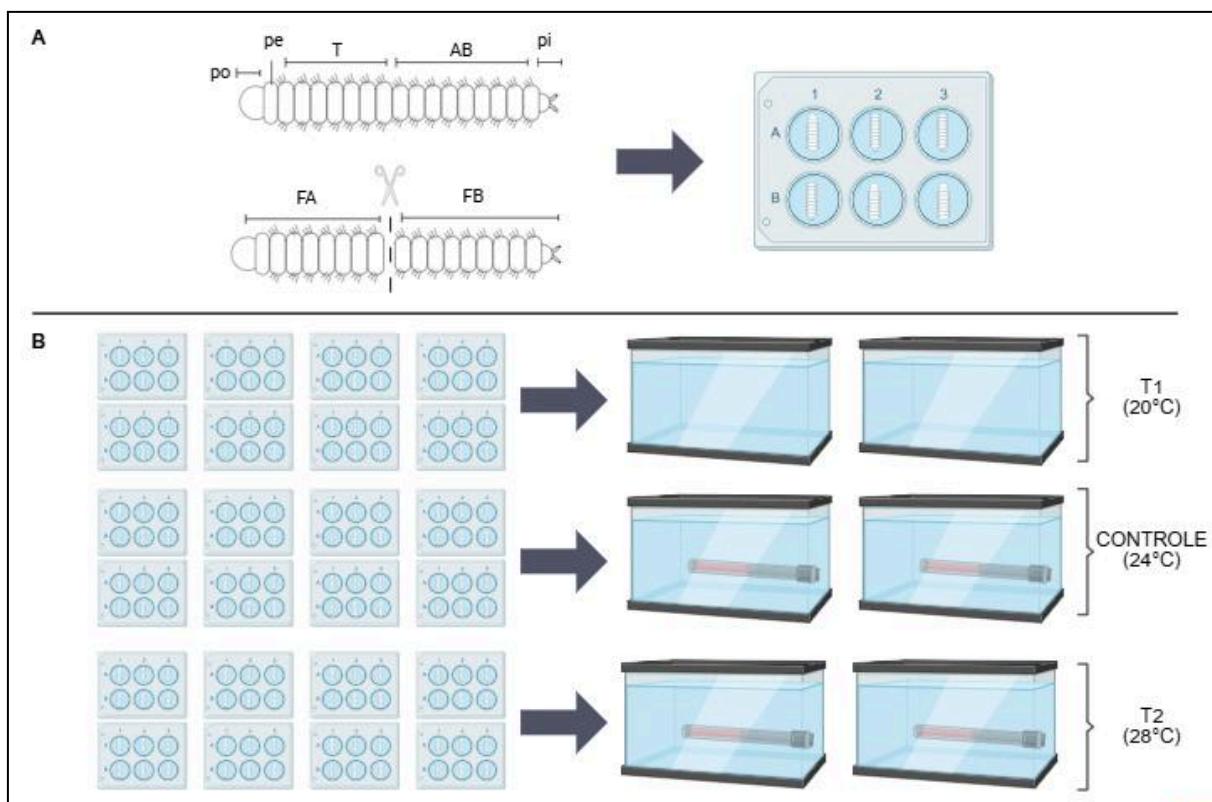


Figura 2. A) Região do corte dos animais e distribuição dos fragmentos na placa de poços; T - tórax, AB - abdômen, FA - fragmento A (anterior), FB - fragmento B (posterior), po - prostômio, pe - peristômio, pi - pigídio. B) Distribuição das placas e aquários por tratamento. Fonte: A Autora (2025).

3.2.3 Manutenção e acompanhamento

A temperatura dos aquários foi acompanhada diariamente com o auxílio de um termômetro e realizados ajustes nos aquecedores quando observadas variações maiores que 0,5 °C. A salinidade foi mantida em 32 com a adição de água mili-Q quando necessário. Os animais foram alimentados com microalga *Tetraselmis* sp. diariamente.

Todos os dias na primeira semana foram escolhidos aleatoriamente quatro fragmentos (dois anteriores e dois posteriores), de cada tratamento e do controle, para serem fixados em formol (10%) e fotografados em lupa. Após a primeira semana, o procedimento se repetiu nos tempos 14 e 21.

3.3 Experimento 2

A aclimatação, preparação do experimento e amputação seguiram conforme o Experimento 1, mas nesse caso a exposição dos fragmentos foi somente para a temperatura de melhor regeneração observada no Experimento 1 (28°C, ver

resultados). Nesse caso, foram utilizados apenas 16 indivíduos que originaram 32 fragmentos. A fixação dos fragmentos ocorreu em 4 tempos - 0, 2, 5 e 7 relativos aos 7 dias de experimento.

3.3.1 Fixação

Para a utilização da técnica de imunohistoquímica, os animais do experimento 2 foram fixados com PFA (paraformaldeído) 4% durante a noite em 4°C. Posteriormente, foram colocados em solução com 50% de etanol em água do mar, por uma hora, e então colocados em solução 80% etanol em água mili-Q e mantidos no freezer (-20°C).

3.4 Whole Mount

3.4.1 Reidratação e Permeabilização

Os animais fixados em etanol 80% foram reidratados em etanol 70, 50 e 30% por 10 minutos e enxaguados 3 vezes com solução PBS. Para a permeabilização das amostras foi utilizado Triton 5% em PBS (PBT 5%) durante 4,5 horas com agitação. As amostras foram expostas à solução de bloqueio com BSA 4% em PBT 1% durante a noite sob agitação.

3.4.2 Incubação em anticorpos primários

Os anticorpos escolhidos para a incubação foram *Mouse Anti- α Tubulin* 12G10 (1:200) e *Rabbit Anti-Serotonin* SIGMA S5545 (1:1000). Para isso, os anticorpos foram diluídos em PBT 1% - 100 μ L por amostra - a 16°C, durante a noite, sob agitação. Foi feita uma solução de 500 μ L em que foram adicionados 2,5 μ L do primeiro anticorpo e 0,5 μ L do segundo. Posteriormente, as amostras foram lavadas 4 vezes por 20 minutos cada em PBT 1% em temperatura ambiente sob agitação.

3.4.3 Incubação em anticorpos secundários

As amostras foram incubadas com os anticorpos secundários diluídos em PBT 1% - 100 μ L por amostra - a 4 °C e mantidos durante a noite. Os anticorpos secundários utilizados foram *Goat Anti Mouse* TRITC Jackson Labs (1:500) e Alexa Fluor 488 *Goat Anti-Rabbit* IgG (1:500). Este último foi diluído em água mili-Q pois

estava sólido, aumentando a proporção para 2,5:500. Após a incubação, as amostras foram lavadas 5 vezes por 10 minutos cada em PBT 1% (200 μ L por amostra) à 4°C sob agitação. Foram adicionados 2 μ L de DAPI (1:1000) em PBS por 3 minutos. Depois, foi realizado um enxágue com metanol 50% em PBS durante 30 minutos à 16°C e, em seguida, 3 enxágues de 10 a 30 minutos em metanol 100% a 4°C sob agitação.

3.4.4 Clareamento com BABB

Para clareamento das amostras foi adaptado o protocolo de Milichko e Dyachuk (2023) para Annelida, que consistiu na adição de BABB - Benzil-Álcool Benzil-Benzoato - (1:2) nas amostras durante 60 minutos com agitação e repetição do processo por mais uma vez.

3.5 Histologia

A descrição metodológica e resultados da histologia estão disponibilizados no Material Suplementar (Apêndice 1). Embora essa metodologia seja relevante para validações da morfologia de tecidos, não obtivemos resultados que pudessem ser incorporados em nossas interpretações.

3.6 Análise e tratamento de dados

Os dados obtidos no experimento 1 foram organizados em uma planilha no Microsoft Excel. As análises estatísticas foram realizadas no ambiente estatístico R (versão 4.3.1; R Development Core Team, 2025), utilizando diferentes pacotes, incluindo MASS, MuMIn e sciplot. Foram utilizados modelos lineares generalizados (GLM) para cada variável resposta - largura, comprimento, número de segmentos e número de cerdas -, e identificadas as famílias de distribuição mais adequada aos dados. Foram testadas as distribuições gaussiana, poisson e binomial negativa, e os modelos foram comparados com base no Critério de Informação de Akaike corrigido (AICc), no qual a distribuição gaussiana apresentou melhor ajuste. Posteriormente, a significância dos efeitos principais (tratamento, dia e fragmento) e de suas interações foi avaliada por meio de análises de variância usando como estatística o teste Qui-quadrado.

As imagens da imunohistoquímica do experimento 2 foram obtidas através da microscopia de fluorescência (Leica M205FA) e confocal (Leica TCS SPE), do Laboratório de Evo-Devo (IB-USP), e foram analisadas utilizando o software LASX WildField da Leica. Para edição das imagens e montagem das pranchas foi utilizado o software Adobe Photoshop. Para a confecção dos desenhos foi utilizada a plataforma BioRender.

4 RESULTADOS

4.1 Experimento 1

4.1.1 Temperatura

Na primeira semana, após os cortes, todos os indivíduos sorteados apresentaram 100% de sobrevivência. As temperaturas dos aquários do controle oscilaram consideravelmente, tornando desafiadora a manutenção das condições. Quanto aos aquários do Tratamento 1, a temperatura durante a semana obteve médias de 19,4°C e 19,7°C com desvio padrão de 0,77 e 0,85, respectivamente. No tratamento 2, a temperatura obteve médias de 28,8°C e 28°C com desvio padrão de 1,43 e 2,50, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Temperaturas dos aquários durante a primeira semana de experimento.

Fonte: A Autora (2025).

	Temperatura (°C)						
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
Controle (24°C)	25,0	22,8	25,8	21,3	26,4	22,5	24,2
Controle (24°C)	23,4	25,5	20,8	27,3	26,9	21,7	27,4
Tratamento 1 (20°C)	18,9	18,0	19,6	20,3	19,7	19,9	19,9
Tratamento 1 (20°C)	18,9	18,2	19,9	20,6	19,9	20,2	20,3
Tratamento 2 (28°C)	27,1	26,6	29,8	29,0	29,5	29,9	30,2
Tratamento 2 (28°C)	25,2	26,2	31,5	27,6	27,0	31,5	27,0

4.1.2 Regeneração

Houve diferenças significativas entre os tratamentos (Figuras 3 e 4). Os indícios iniciais de regeneração foram observados primeiramente no Tratamento 2, no tempo 2. Tal tratamento apresentou mais segmentos novos do que o Tratamento 1 ($\text{Chi}^2 < 3,005 \text{e-15}$, $\text{df} = 105$, $p < 0,001$, $n = 108$) (Figura 5A), assim como o fragmento B regenerou mais segmentos do que o A ($\text{Chi}^2 < 3,223 \text{e-05}$, $\text{df} = 96$, $p < 0,001$, $n = 108$). Com relação ao comprimento, o crescimento ao longo do tempo foi maior para o T2 do que para o T1 ($\text{Chi}^2 < 3,005 \text{e-15}$, $\text{df} = 105$, $p < 0,001$, $n = 108$), e maior para o fragmento B do que para o A ($\text{Chi}^2 < 3,223 \text{e-05}$, $\text{df} = 96$, $p < 0,001$, $n = 108$). Já a largura apresentou diferenças apenas entre os fragmentos, sendo B o que apresentou maiores valores ($\text{Chi}^2 < 0,04059$, $\text{df} = 96$, $p < 0,05$, $n = 108$). A presença de

cerdas foi maior no tratamento 2 - surgimento a partir do tempo 6 - do que no tratamento 1 ($\text{Chi} < 0,00174$, $df = 105$, $p < 0,01$, $n = 108$), assim como foi maior para o fragmento B ($\text{Chi} < 9,064\text{e-}05$, $Df = 97$, $p < 0,001$, $n = 108$).

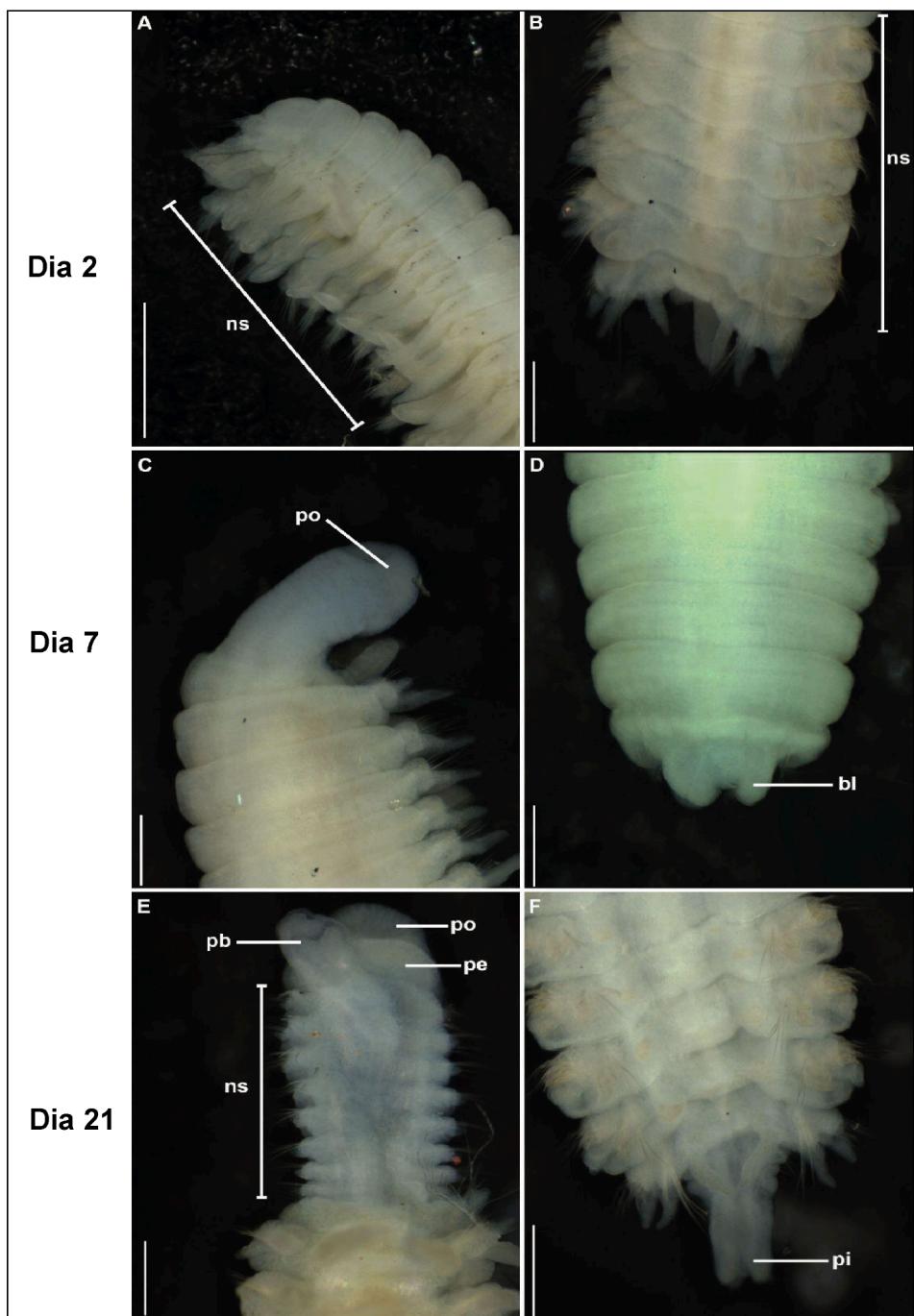


Figura 3. Regeneração no Tratamento 1 (20°C) ao longo do tempo. A) Tempo 2, fragmento B, em vista latero-ventral; B) Tempo 2, fragmento A, em vista ventral; C) Tempo 7, fragmento B, em vista latero-dorsal; D) Tempo 7, fragmento A, em vista dorsal; E) Tempo 21, fragmento B, em vista ventral; F) Tempo 21, fragmento A, em vista ventral; bl - blastema; ns - novos segmentos; pb - probóscide; pe - peristômio; pi - pigídio; po - prostômio. Escala: 200 μm . Fonte: A Autora (2025).

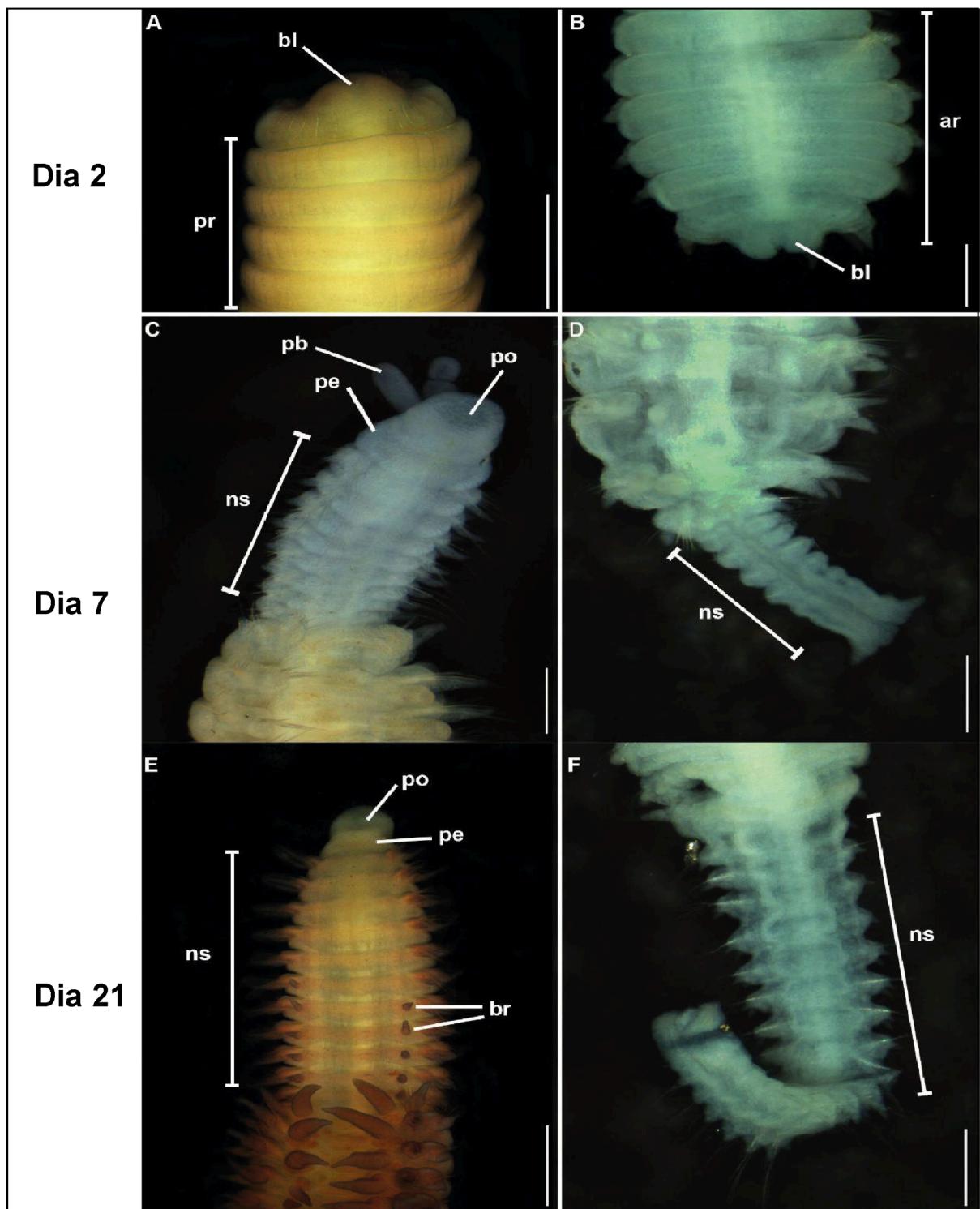


Figura 4. Regeneração no Tratamento 2 (28°C) ao longo do tempo. A) Tempo 2, fragmento B, em vista dorsal; B) Tempo 2, fragmento A, em vista dorsal; C) Tempo 7, fragmento B, em vista latero-ventral; D) Tempo 7, fragmento A, em vista ventral; E) Tempo 21, fragmento B, em vista ventral; F) Tempo 21, fragmento A, em vista ventral; ar - região anterior (ing. *anterior region*); bl - blastema; br - brânquias; ns - novos segmentos; pb - probóscide; pe - peristômio; po - prostômio; pr - região posterior (ing. *posterior region*). Escala: 200µm. Fonte: A Autora (2025).

No tempo 2 foi possível observar a formação do blastema em alguns exemplares do tratamento 2 (Figura 4). Enquanto no primeiro, os segmentos permaneceram quase inalterados (com pequenas flatulências observadas majoritariamente nos fragmentos posteriores), no tratamento 2 já foi possível observar esboços de regeneração. No tempo 6 foi observada a presença de cerdas nos novos segmentos anteriores do T2. No tempo 7 notou-se o surgimento de cerdas nos novos segmentos posteriores. Quanto aos fragmentos do controle, devido às significativas oscilações de temperatura, não obteve-se um padrão muito preciso de regeneração (Figura 5).

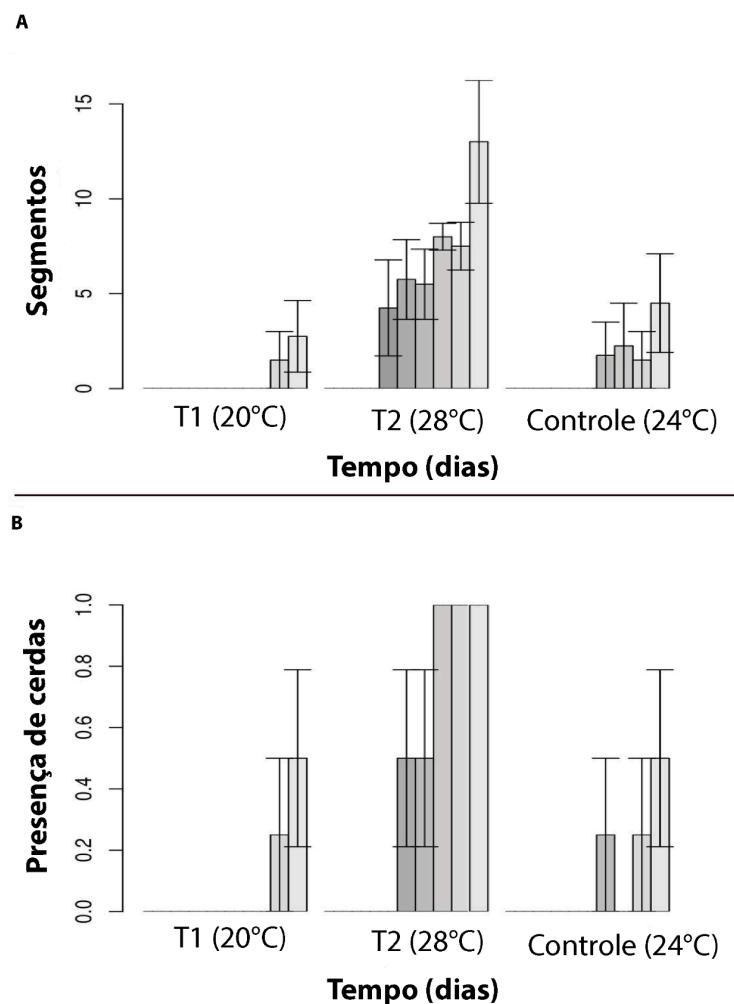


Figura 5. Relação dos tratamentos com os segmentos e cerdas. A) Relação entre os segmentos (eixo y) e os tratamentos (eixo x) ao longo do tempo; B) Relação entre a recuperação de cerdas (eixo y) e os tratamentos (eixo x) ao longo do tempo. Fonte: A Autora (2025).

Durante o processo fotográfico do experimento, notou-se que o surgimento de novos segmentos nesses indivíduos parece ser iniciado pela face dorsal. Os parapódios que antecedem o novo segmento apresentaram um posicionamento na direção oposta à que seria comum à eles, parecendo atuar como um mecanismo facilitador para o processo. Além disso, os fragmentos A, que regeneraram a parte posterior, mostraram indícios de formação do pigídio nos tempos iniciais. A presença de cerdas foi observada a partir do tempo 5 nos fragmentos B e a partir do tempo 7 nos fragmentos A (Figura 5B). Já com relação às brânquias, foram observadas a partir do tempo 14 no tratamento B e tempo 21 no tratamento A.

4.2 Experimento 2

4.2.1 Regeneração

Os fragmentos B apresentaram uma sobrevivência de 100%, enquanto os fragmentos A apresentaram 25% de sobrevivência no final do experimento. Vale ressaltar que os fragmentos A não apresentaram regeneração significativa durante os 7 dias, sendo descartados na histologia e imunohistoquímica. No tempo 2 foi possível observar a formação do blastema no fragmento B (Figura 6B). No tempo 5 iniciou-se a formação do prostômio (Figura 6C). No tempo 7 foi possível observar a formação dos novos segmentos e das cerdas (Figura 6D).

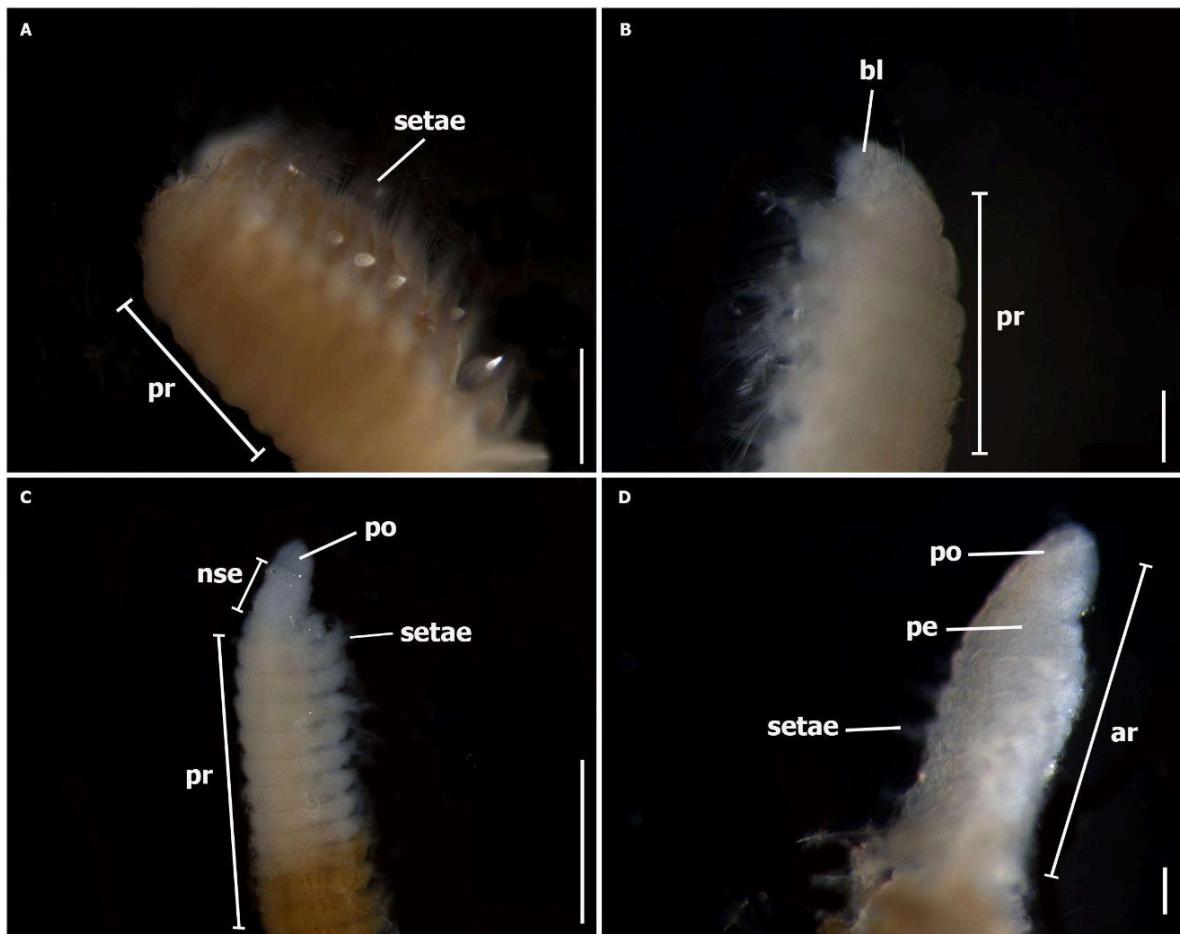


Figura 6. Regeneração do Experimento 2. A) Fragmento posterior após o corte no tempo 0, em vista latero-ventral; B) aparecimento do blastema no tempo 2, em vista latero-dorsal; C) início da formação dos segmentos e do prostômio no tempo 5, em vista latero-dorsal; D) prostômio e peristômio bem definidos e segmentos com aparecimento de cerdas no tempo 7, em vista latero-ventral; ar - região anterior (ing, *anterior region*); bl - blastema; nse - new segments; pe - peristômio; po - prostômio; pr - posterior region. Escalas: 0,5 mm; 0,2 mm; 1 mm e 1 mm, respectivamente. Fonte: A Autora (2025).

4.3 Tubulina e serotonina

Os dois anticorpos utilizados mostraram marcações nos animais. No tempo 0 foi possível observar maior concentração de tubulina na região próxima ao corte, indicando a presença de citoesqueleto de células neurais e de proliferação (Figura 7A-B). No tempo 2, pode-se observar a formação do blastema, bem como uma forte marcação de tubulina devido à maior concentração de citoesqueleto de células neurais (Figura 7C-D). No tempo 5, foi observada a intensificação da serotonina na região regenerada, com o início da resegmentação, principalmente na dorsal do animal, indicando a formação do gânglio cerebral (Figura 7E-F). No tempo 7 foi observada uma forte marcação da serotonina na região do prostômio, indicando a

formação do sistema nervoso central com os conectivos circumesofágicos, além da definição dos novos segmentos (Figura 7G-H).

Na figura 8A pode-se observar a região anterior do animal após os 7 dias de experimento, com os segmentos bem delimitados, assim como o prostômio. Com um maior aumento da imagem, foi possível observar as estruturas do sistema nervoso presentes no prostômio, como o sistema nervoso central e os neurônios pericáriacos. Na figura 8B, outro fragmento regenerado em 7 dias, também mostrou a formação do sistema nervoso central e dos conectivos circumesofágicos. Na figura 8C foi possível observar a grande quantidade de pericáriacos em outro fragmento do tempo 7.

Ao comparar dois fragmentos anteriores - um regenerado e outro completo (sem passar pelos cortes e regeneração) -, o fragmento anterior normal mostrou marcações bem definidas de tubulina indicando os conectivos circumesofágicos e o gânglio subesofágico (Figura 9C). Por outro lado, o fragmento regenerado apresentou marcações de tubulina nos neurônios pericáriacos, conectivos circumesofágicos e do cordão nervoso ventral (Figura 9F). Já nas marcações de serotonina, o fragmento completo apresentou o sistema nervoso central e a comissura estomatogástrica (Figura 9B), enquanto o fragmento regenerado apresentou apenas o sistema nervoso central de forma menos intensa (Figura 9E). Com as camadas sobrepostas, foi possível observar que o fragmento completo apresentou melhor definição das estruturas, enquanto o fragmento regenerado apresentou maior homogeneidade na marcação dos anticorpos, não sendo possível a visualização de estruturas como o gânglio subesofágico (Figuras 9A e 9D).

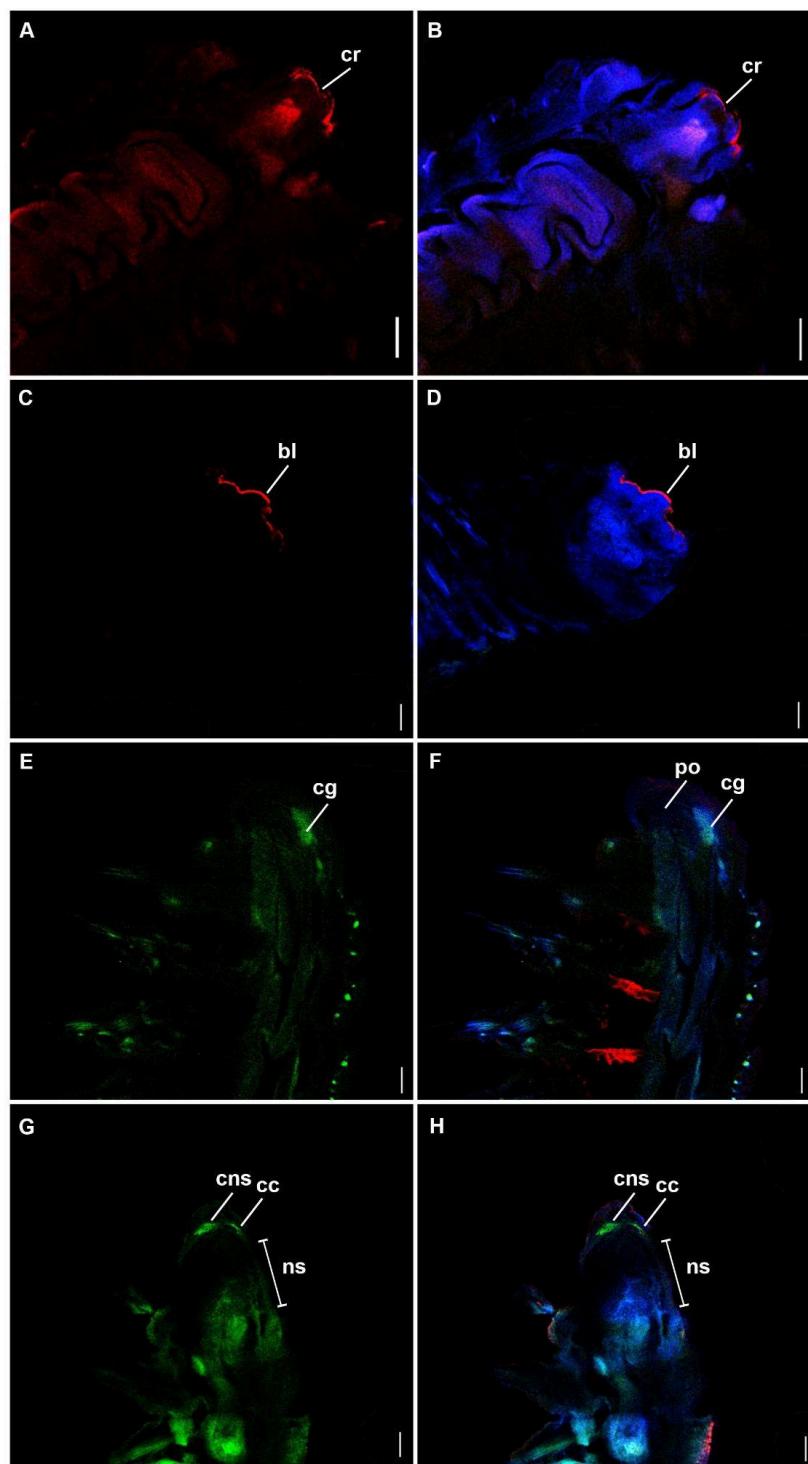


Figura 7. Regeneração do fragmento anterior durante 7 dias com marcações dos anticorpos tubulina (vermelho), serotonina (verde) e dapi (azul), em vista latero-dorsal. A-B) tempo 0; C-D) tempo 2; E-F) tempo 5 ; G-H) tempo 7; bl - blastema; cc - conectivos circumesofágicos (*circumeophagical connectives*); cns - sistema nervoso central (*central nervous system*); cr - região do corte (*cut region*); ns - segmentos novos (*new segments*); po - prostômio (*prostomium*). Escala: 50 μ m. Fonte: A Autora (2025).

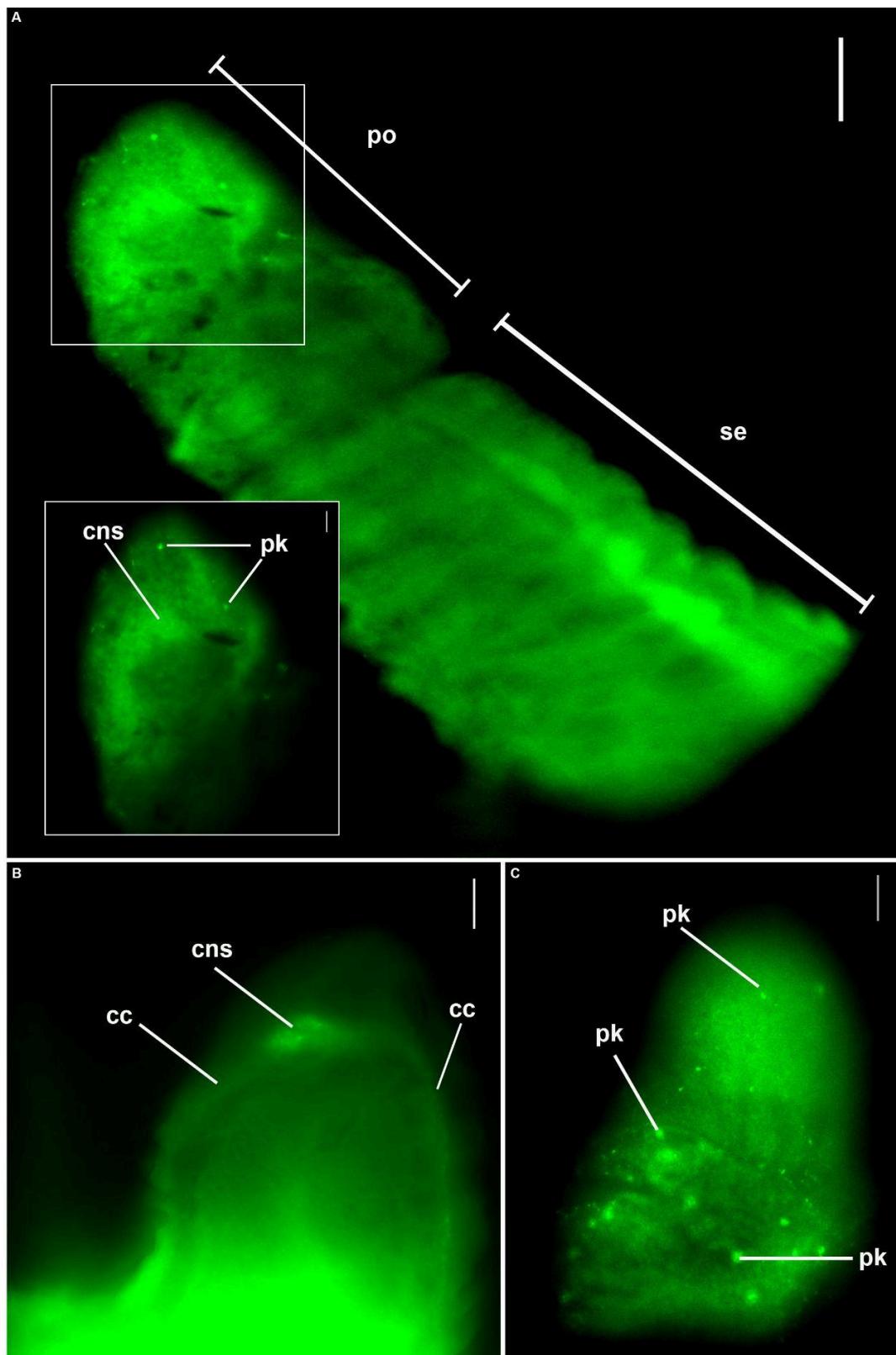


Figura 8. Marcações do anticorpo serotonina em fragmentos regenerados no tempo 7. A: fragmento 1, em vista ventral; B: fragmento 2, em vista latero-dorsal; C: fragmento 3, em vista ventral; cc - conectivos circumesofágicos (*circumesophageal connectives*); cns - sistema nervoso central (*central nervous system*); pk - pericários (*perikarion*); po - prostômio (*prostomium*); se - segmentos (*setiger*). Escala: 25 µm. Fonte: A Autora (2025).

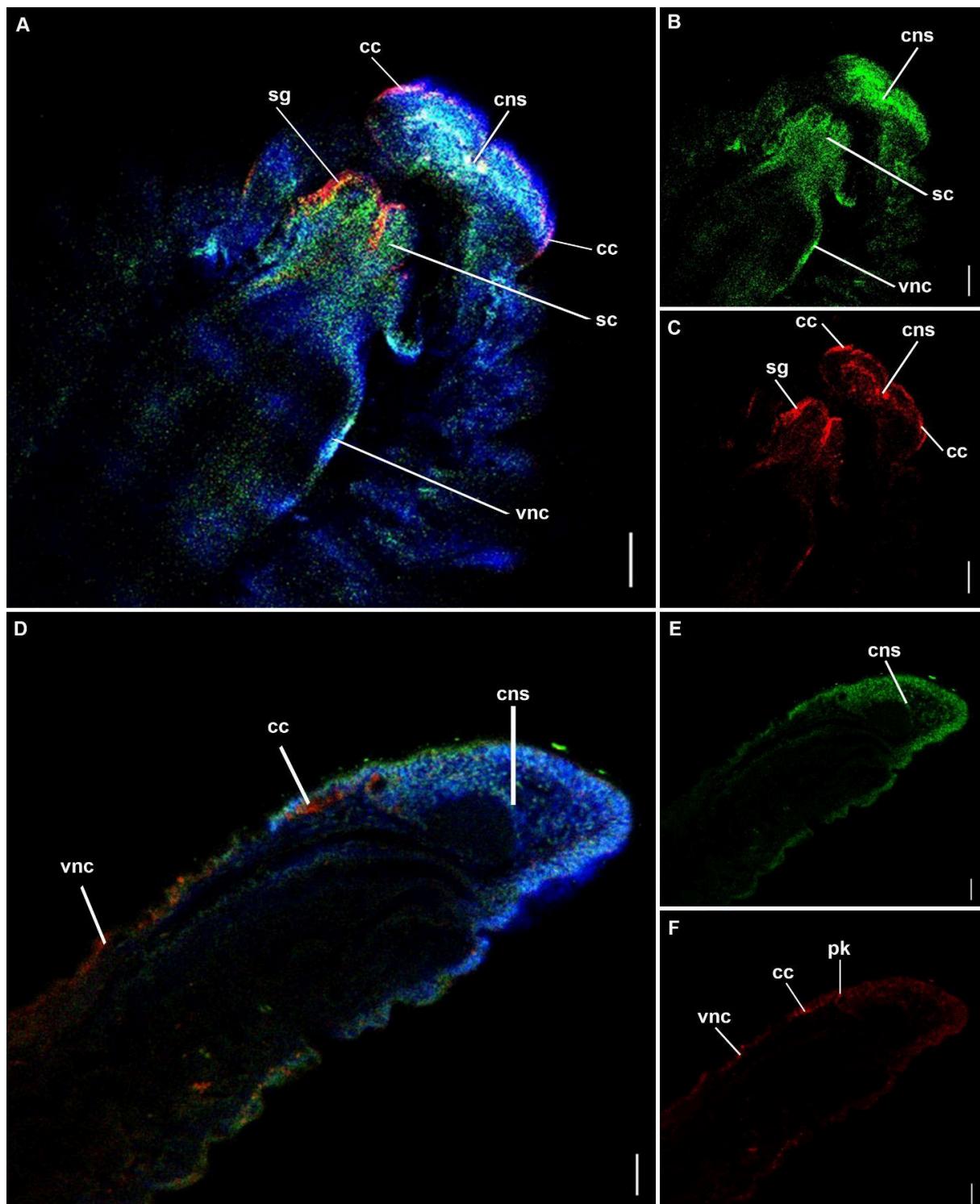


Figura 9. Comparação da região anterior completa e regenerada, em vista ventral. A, B, C) região anterior completa; D, E, F) região anterior regenerada em 7 dias; cc - conectivos circumesofágicos (*circumesophageal connectives*), cns - sistema nervoso central (*central nervous system*), pk - pericártios (*perikarion*), sc - comissura estomatogástrica (*stomatogastric commissure*), sg - gânglio subesofágico (*subesophageal ganglion*), vnc - cordão nervoso ventral (*ventral nerve cord*). Escala: 50 μ m. Fonte: A Autora (2025).

5 DISCUSSÃO

A hipótese de que as maiores temperaturas influenciam positivamente na capacidade regenerativa dos indivíduos de *T. aurantiaca* foi verificada. Com isso, foi possível avaliar a influência do ambiente sob um processo fisiológico do animal e prever um sucesso da espécie frente ao cenário de mudanças climáticas. O experimento 2 mostrou que *T. aurantiaca* consegue recuperar boa parte do sistema nervoso central após a regeneração anterior (prostômio, peristômio e segmentos setígeros), e foi considerado um bom modelo regenerativo para a biologia evolutiva do desenvolvimento de estruturas cefálicas.

5.1 Regeneração de *T. aurantiaca* sob estresse térmico

No experimento 1, os espécimes de *T. aurantiaca* quando submetidos à alta temperatura apresentaram maior sucesso no processo regenerativo, enquanto os indivíduos expostos à temperatura baixa mostraram lentidão no processo. Tais resultados apresentam divergências com o trabalho de Bhuiyan *et al.* (2021) em que espécimes de *Hediste diversicolor* submetidos a baixas temperaturas obtiveram maiores taxas de regeneração com relação aos submetidos às altas temperaturas. Por outro lado, o onufídeo *Diopatra neapolitana* e o amfínomídeo *Hermodice carunculata*, apresentaram respostas semelhantes, com maior sucesso regenerativo em altas temperaturas (Pires *et al.* 2015; Toso *et al.* 2024). Essas diferenças de resistência às temperaturas entre as espécies citadas podem estar relacionadas com a localização geográfica e características do habitat. Assim como *T. aurantiaca*, espécimes de *D. neapolitana* são encontrados em regiões tropicais do globo (Read; Fauchald, 2024a) e *H. carunculata* são nativas das regiões mais quentes do Mar Mediterrâneo (Toso *et al.*, 2024), o que pode justificar as melhores taxas de regeneração quando expostas às maiores temperaturas. Por outro lado, *H. diversicolor* é uma espécie que habita regiões costeiras do Atlântico Norte e outras regiões próximas à Europa, como o Mar Báltico, em que a temperatura das águas é consideravelmente mais fria (Read; Fauchald, 2024b). Dessa forma, alterações no habitat podem afetar processos vitais em *T. aurantiaca*, fator que pode influenciar na abundância da espécie, uma vez que a regeneração pode ser considerada uma forma de reprodução. O aumento ou diminuição das populações de *T. aurantiaca*, podem afetar todo o ecossistema, causando desequilíbrio nas relações ecológicas

como presa-predador e, alterando os processos de bioturbação, como mencionado no caso de *H. diversicolor* (Bhuiyan *et al.*, 2021).

Estudos acerca da exposição de invertebrados a diferentes fatores externos, incluindo a temperatura, mostraram que a composição de ácidos graxos é afetada por estas externalidades, provocando diferentes ações metabólicas que variam de acordo com o táxon (Yoon *et al.*, 2022). Devido à ectotermia, os anelídeos não possuem regulação interna de temperatura, o que lhes permite o desenvolvimento de mecanismos fisiológicos para lidar com anomalias na temperatura do ambiente. Testes com anelídeos da espécie *Ophryotrocha labronica* (La Greca; Bacci, 1962) demonstraram que as taxas metabólicas desses indivíduos estavam relacionadas de forma positiva com a temperatura (Massamba-N'Siala *et al.*, 2022). De acordo com Bhuiyan *et al.* (2021), estressores ambientais podem diminuir ou inibir outras funções fisiológicas de *H. diversicolor*, como alimentação e escavação, o que pode contribuir para uma menor reserva energética e, consequentemente, um baixo desempenho regenerativo. Sendo assim, sugere-se que outros fatores fisiológicos sejam observados em novos experimentos com *T. aurantiaca*, a fim de determinar quais impactos e papéis podem desempenhar na cura de ferimentos.

Tanto no experimento 1 quanto no experimento 2, a maior taxa de regeneração dos fragmentos posteriores (B) dos indivíduos de *T. aurantiaca* pode estar relacionada com um maior número de segmentos com brânquias da região abdominal e presença de estruturas abdominais que permitem manter uma reserva de energia suficiente para recuperar a região anterior (Álvarez *et al.*, 2024). Desse modo, a baixa taxa de regeneração do fragmento A em comparação com o B, bem como sua alta mortalidade, pode estar relacionada com um baixo estoque energético associado com a alta demanda metabólica devido à exposição em alta temperatura.

No tempo 0, logo após os cortes, pode ocorrer a migração de células em direção à região do corte para iniciar o processo de cicatrização. A formação do blastema dois dias após os cortes, pode ser resultado da interação entre o cordão nervoso ventral que foi cortado e a parede corporal danificada que impulsiona a formação desta estrutura (Bely, 2014). A formação do prostômio em cinco dias é semelhante a das espécies *Procerastea halleziana* (Malaquin, 1893), *Syllis amica* (Quatrefages, 1866) e *Typosyllis antoni* (Aguado, Helm, Weidhase e Bleidorn, 2015) (Ribeiro; Bleidorn; Aguado, 2018).

5.2 Marcadores imunohistoquímicos

Os anticorpos anti-serotonina e α -tubulina são os mais amplamente usados para estudos neuroanatômicos. O anticorpo α -tubulina pode permitir a coloração do sistema nervoso central, periférico e partes do sistema nervoso estomatogástrico. Contudo, esse marcador pode corar estruturas ciliares sensoriais e locomotoras, o que pode atrapalhar a análise mas também ser útil para identificar os elementos neurais associados à ciliação corporal (Müller, 2006). No caso do presente estudo, a α -tubulina não apresentou fortes marcações nos fragmentos em que a regeneração estava mais avançada, sendo mais visível nas estruturas como brânquias e cerdas. A marcação de tubulina mais intensa nos estágios iniciais da regeneração indicam a presença de citoesqueleto celular, o que pode estar relacionado com as células de proliferação presentes nos tecidos restantes que, após a amputação, começam a migrar em direção ao corte para começar a cicatrização do ferimento (Kostyuchenko; Kozin, 2021).

A maior intensificação da serotonina nos estágios finais indica uma maior estruturação do sistema nervoso ao longo do tempo. A forte marcação deste anticorpo no prostômio mostra a capacidade destes animais de recuperação de estruturas nervosas durante a regeneração. Tais resultados mostram que as marcações de anti-serotonina apresentam coloração e feixes mais compactos do que a α -tubulina, bem como um maior detalhamento do sistema nervoso (Müller, 2006; Weidhase; Bleidorn; Helm, 2015).

5.3 Regeneração do Sistema Nervoso Central e estruturas nervosas

De acordo com Orrhage e Müller (2005), em muitos poliquetas não é possível diferenciar nenhum gânglio separado no cérebro, principalmente no neuropilo central de espécies de sedentários. Com isso, pode-se caracterizar a estrutura presente na região central do prostômio dos animais do tempo 7, como um neuropilo central que compõe um único gânglio cerebral. Devido à dificuldade de identificar precisamente cada estrutura - gânglios, neuropilo - a massa cerebral identificada nos estágios finais foi definida como sistema nervoso central. Os dois filamentos conectados a esta estrutura são os conectivos circumesofágicos, que podem ser divididos em uma rota dorsal e outra ventral, responsáveis por comunicar-se com cada lado do animal

(Orrhage; Müller, 2005). Já os pontos mais isolados no prostômio, podem ser definidos como pericários, que são os corpos celulares dos neurônios. A regeneração do sistema nervoso, assim como observado por Weidhase, Bleidorn e Helm (2014), se deu a partir de estruturas correspondentes do corpo restante.

As estruturas neurais dos indivíduos de *T. aurantiaca* observadas estão dentro de alguns dos padrões para anelídeos, como a presença de conectivos circumesofágicos pareados com raízes dorsais e ventrais e um sistema nervoso periférico com vários nervos (Müller, 2006). Os outros padrões estabelecidos para Annelida, como cordão nervoso ventral com 5 conectivos e, muitas comissuras nervosas por segmento, hipotetizados por Müller (2006), não foram observados na imunohistoquímica, mas não quer dizer que elas não ocorram na espécie, sendo necessárias análises mais aprofundadas para a detecção.

5.4 Comparação entre sistema nervoso completo e o regenerado

Ao comparar com um fragmento inteiro que não foi amputado, é possível observar que este apresenta marcações bem mais estruturadas e definidas do que o fragmento regenerado. A tubulina com coloração mais intensa abaixo do prostômio pode indicar a presença de estruturas estomatogástricas como o gânglio subesofágico (como na Figura 2 A-D de Müller; Westheide, 2002). A maior definição das marcações da serotonina na região do prostômio, indicam maior complexidade do sistema nervoso. Enquanto isso, o fragmento regenerado apresenta menor heterogeneidade das duas marcações. Tais diferenças podem indicar que apesar do sucesso regenerativo desses animais, não há completa recuperação das suas estruturas internas após a regeneração.

A regeneração do sistema nervoso de *T. aurantiaca* é semelhante a algumas espécies de anelídeos. Em um estudo realizado com o silídeo *Typosyllis antoni*, o desenvolvimento do sistema nervoso pós amputação começa no segundo dia, durante o estágio de blastema, em que foi observado o crescimento difuso de neuritos provenientes do cordão nervoso ventral do fragmento restante (Weidhase et al., 2017). Tal processo assemelha-se com *T. aurantiaca* em que foi observada a presença de células neurais marcadas pela tubulina. Em *T. antoni*, após 4 dias, quando começa a formação dos segmentos, ocorre o desenvolvimento do cérebro na margem anterior dos conectivos circumesofágicos (Weidhase et al., 2017). Nesse

dia, já é observada a formação completa do sistema nervoso. Nesse ponto, há uma pequena diferença entre as espécies, já que em *T. aurantiaca*, no quinto dia, ainda não havia total desenvolvimento das estruturas nervosas. Outra diferença observada é que ao comparar a região anterior regenerada com uma completa, os indivíduos de *T. antoni* não apresentaram diferenças com relação ao sistema nervoso, enquanto que em *T. aurantiaca* foi observada menor complexidade das estruturas nervosas em fragmentos regenerados.

5.5 Sistema nervoso e estresse térmico

Esse déficit na recuperação das estruturas nervosas após a regeneração, pode estar relacionado com o tempo do experimento 2 que foi consideravelmente curto, mas também com a exposição ao estressor térmico. Nesse caso, a alta temperatura pode estar relacionada com a menor complexidade das estruturas regeneradas. Apesar de no experimento 1 *T. aurantiaca* apresentar maior sucesso regenerativo em altas temperaturas, a recuperação da estrutura externa pode não refletir a recuperação interna dos indivíduos, mostrando que, apesar da regeneração dos segmentos, prostômio, cerdas e brânquias ser mais rápido, não significa que a exposição em alta temperatura seja mais eficiente na recuperação de estruturas internas como a do sistema nervoso.

Em estudos da regeneração anterior de *Hermodice carunculata*, Toso *et al.* (2024) sugere que apesar da temperatura mais alta propiciar um maior sucesso regenerativo da região anterior de *H. carunculata*, a redução da concentração de oxigênio dissolvido na água provocada pelo aumento da temperatura pode prejudicar o processo regenerativo. Desse modo, sugere-se que em estudos futuros com regeneração de *T. aurantiaca* sejam avaliados e mantidos os parâmetros de oxigênio dissolvido durante os experimentos.

5.6 *T. aurantiaca* como organismo modelo da Evo-devo

Apesar da menor complexidade do sistema nervoso regenerado, *T. aurantiaca* atuou como um bom modelo regenerativo para a Evo-devo. A alta taxa de regeneração em alta temperatura - mesmo que de forma mais simples internamente - revela as adaptações desses organismos frente aos estressores de seu habitat. De acordo com Álvarez *et al.* (2024), a boa capacidade regenerativa de *T. aurantiaca*

pode ser um mecanismo adaptativo mantido pela espécie como forma de sobreviver às condições de turbulência/alta energia de seu habitat. Ao observar a regeneração anterior deste indivíduo pode-se afirmar que essa é uma característica fundamental desenvolvida por esses organismos para sobreviver ao ambiente altamente energético em que vivem. A sua boa tolerância térmica e favorecimento do processo regenerativo em cenários de temperaturas mais altas revelam uma plasticidade fenotípica desenvolvida por estes animais, característica muito importante para a Evo-devo (Hall, 2012).

Para entender os mecanismos evolutivos da regeneração, deve-se levar em consideração também as falhas regenerativas de cada espécie, sendo indicado realizar experimentos com controles adequados, réplicas e testes em condições variadas (Bely; Zattara; Sikes, 2014). Para isso, a baixa taxa de regeneração posterior nos indivíduos de *T. aurantiaca* pode ser uma característica importante de ser estudada e que, provavelmente, foi perdida evolutivamente. Ao comparar com espécies como *Platynereis dumerilii* que apresentam maior taxa regenerativa da região posterior (Paré *et al.*, 2023), entende-se que a regeneração anterior de *T. aurantiaca* manteve-se ao longo do tempo evolutivo por ser um mecanismo energeticamente mais útil para a espécie do que a regeneração posterior.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O anelídeo *Theodisca aurantiaca* apresenta alta capacidade regenerativa em situações de estresse térmico. Tais respostas fisiológicas levam a crer que essa espécie poderá apresentar uma vantagem com relação às outras menos adaptadas aos cenários de mudanças climáticas. A regeneração de estruturas nervosas e do sistema nervoso central mostrou que a espécie pode ser utilizada como organismo modelo da evo-devo. Sugere-se novos experimentos, com tempos mais prolongados para verificar a regeneração de novas estruturas nervosas que não foram observadas devido ao curto tempo de experimento. Também sugere-se desenvolver um método mais eficaz para a análise histológica destes animais, já que a falta de marcações nos tecidos provavelmente se deve a falhas nos procedimentos.

REFERÊNCIAS

- AGUADO, María Teresa et al. Description of a new syllid species as a model for evolutionary research of reproduction and regeneration in annelids. *Organisms Diversity & Evolution*, v. 15, n. 1, p. 1-21, 2015.
- ALFRED, Jane; BALDWIN, Ian T. New opportunities at the wild frontier. *Elife*, v. 4, p. e06956, 2015.
- ALVAREZ, Ricardo Castro; DOS SANTOS BRASIL, A. C. Redescription of *Naineris aurantiaca* (Müller, 1858) and designation of a neotype from the Brazilian coast (Annelida: Orbiniidae). *Zootaxa*, v. 4571, n. 1, p. 1-8, 2019.
- ALVAREZ, Ricardo et al. Regeneration patterns in *Naineris aurantiaca* (Muller, 1858)(Annelida, Orbiniidae). *Ocean and Coastal Research*, v. 72, p. e24087, 2024.
- ÁLVAREZ, Ricardo et al. Molecular phylogeny of *Naineris* and *Protoaricia* (Annelida: Orbiniidae) with the reinstatement of *Theodisca*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 205, n. 4, 2025.
- BELY, Alexandra E. Distribution of segment regeneration ability in the Annelida. *Integrative and Comparative Biology*, v. 46, n. 4, p. 508-518, 2006.
- BELY, Alexandra E. Early events in annelid regeneration: a cellular perspective. *American Zoologist*, v. 54, n. 4, p. 688-699, 2014.
- BELY, Alexandra E.; NYBERG, Kevin G. Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends in ecology & evolution*, v. 25, n. 3, p. 161-170, 2010.
- BELY, Alexandra E.; ZATTARA, Eduardo E.; SIKES, James M. Regeneration in spiralians: evolutionary patterns and developmental processes. *Int J Dev Biol*, v. 58, n. 6-8, p. 623-634, 2014.

BERCHEZ, F. et al. Possíveis impactos das mudanças climáticas globais nas comunidades de organismos marinhos bentônicos da costa brasileira. In: *Biologia & Mudanças Climáticas no Brasil*. São Carlos: RiMa, 2008. p. 167-180.

BHUIYAN, Khurshid Alam et al. Experimental evidence of uncertain future of the keystone ragworm *Hediste diversicolor* (OF Müller, 1776) under climate change conditions. *Science of the Total Environment*, v. 750, p. 142031, 2021.

BLAINVILLE, H. M. D. de (Henri-Marie Ducrotay). *Mollusques, Vers et Zoophytes* (entradas em VEA-VERS, v. 57). In: *Dictionnaire des Sciences naturelles, dans lequel on traite méthodiquement des différens êtres de la nature [...] Suivi d'une biographie des plus célèbres naturalistes*. Strasbourg; Paris: F. G. Levrault, 1828. v. 57. p. 490–491.

DELLE CHIAJE, S. *Descrizione e notomia degli animali invertebrati della Sicilia citeriore osservati vivi negli anni 1822-1830*. Naples: Batteli & Co., 1841-1844. Partes 1–8. p. 97-98, v. III.

DENNY, Mark W.; GAINES, Steven Dean (Ed.). *Encyclopedia of tidepools and rocky shores*. Berkeley: University of California Press, 2007.

GRUBE, Adolph-Eduard. *Annulata Semperiana. Beiträge zur Kenntniss der Annelidenfauna der Philippinen nach den von Herrn Prof. Semper mitgebrachten Sammlungen*. Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Pétersbourg, série 7, v. 25, n. 8, p. 1–300, 1878.

GUIMARÃES, Julia Machado et al. Mudanças climáticas e comunidades entremarés de costões rochosos – efeitos da temperatura e hidrodinamismo. 2023. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

HALL, Brian K. Evolutionary developmental biology (Evo-Devo): Past, present, and future. *Evolution: Education and outreach*, v. 5, n. 2, p. 184-193, 2012.

HERLANT-MEEWIS, HENRIETTE. Regeneration in annelids. *Advances in morphogenesis*, v. 4, p. 155-215, 1964.

HIGGINS, Steven I.; CONRADI, Timo; MUHOKO, Edward. Shifts in vegetation activity of terrestrial ecosystems attributable to climate trends. *Nature Geoscience*, v. 16, n. 2, p. 147-153, 2023.

HOPKINS, Penny M.; DAS, Sunetra. Regeneration in crustaceans. *The natural history of the Crustacea*, v. 4, p. 168-198, 2015.

HYMAN, Libbie H. Aspects of regeneration in annelids. *The American Naturalist*, v. 74, n. 755, p. 513-527, 1940.

IPCC. *Climate Change 2023: Synthesis Report. Summary for Policymakers. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [H. Lee; J. Romero (eds.)]. Geneva: IPCC, 2023. p. 1-34. DOI: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001.

JOHNSON, Markes E. Ecology of intertidal rocky shores related to examples of coastal geology across phanerozoic time. *Journal of Marine Science and Engineering*, v. 12, n. 8, p. 1399, 2024.

KOSTYUCHENKO, Roman P.; KOZIN, Vitaly V. Comparative aspects of annelid regeneration: Towards understanding the mechanisms of regeneration. *Genes*, v. 12, n. 8, p. 1148, 2021.

KUO, Dian-Han. Annelids in evolutionary developmental biology. *Annelids in Modern Biology*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2009. p. 65-87.

LA GRECA, M.; BACCI, G. Una nuova specie di *Ophryotrocha* delle coste tirreniche (Annelida, Polychaeta). *Bollettino di Zoologia*, v. 29, n. 1, p. 3–18, 1962. p. 9.

LECLÈRE, Lucas; RÖTTINGER, Eric. Diversity of cnidarian muscles: function, anatomy, development and regeneration. *Frontiers in cell and developmental biology*, v. 4, p. 157, 2017.

LINDSAY, Sara M. Frequency of injury and the ecology of regeneration in marine benthic invertebrates. *Integrative and Comparative Biology*, v. 50, n. 4, p. 479-493, 2010.

LINNAEUS, C. *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis.* Holmiae [Stockholm]: Impensis Direct. Laurentii Salvii, 1758. v. 1, p. 824.

LOVE, Alan C.; YOSHIDA, Yoshinari. Reflections on model organisms in evolutionary developmental biology. *Evo-Devo: Non-model Species in Cell and Developmental Biology*, p. 3-20, 2019.

MALAQUIN, Alphonse. *Recherches sur les Syllidiens: morphologie, anatomie, reproduction, développement.* Mémoires de la Société des Sciences, de l'Agriculture et des Arts de Lille, 4e série, v. 18, p. 1–477, 1893. Pls. I–XIV.

MARTINEZ ACOSTA, Veronica G. et al. It cuts both ways: an annelid model system for the study of regeneration in the laboratory and in the classroom. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 9, p. 780422, 2021.

MASSAMBA-N'SIALA, Gloria et al. Metabolic rate thermal plasticity in the marine annelid *Ophryotrocha labronica* across two successive generations. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 102, n. 1-2, p. 69-75, 2022.

MILICHKO, Valentin A.; DYACHUK, Vyacheslav. 3D Optical Reconstruction of the Nervous System of the Whole-Body Marine Invertebrates. *Chemical & Biomedical Imaging*, v. 1, n. 9, p. 852-863, 2023.

MÜLLER, F. Einiges über die Annelidenfauna der Insel Santa Catharina an der brasiliischen Küste. *Archiv für Naturgeschichte*, Berlin, v. 24, n. 1, p. 211-220, 1858.

MÜLLER, Monika CM. Polychaete nervous systems: ground pattern and variations—cLS microscopy and the importance of novel characteristics in phylogenetic analysis. *Integrative and Comparative Biology*, v. 46, n. 2, p. 125-133, 2006.

MÜLLER, Monika CM; BERENZEN, Andreas; WESTHEIDE, Wilfried. Experiments on anterior regeneration in *Eurythoe complanata* (" Polychaeta", Amphinomidae):

reconfiguration of the nervous system and its function for regeneration. *Zoomorphology*, v. 122, n. 2, p. 95-103, 2003.

MÜLLER, Monika C. M.; WESTHEIDE, Wilfried. Comparative analysis of the nervous systems in presumptive progenetic dinophilid and dorvilleid polychaetes (Annelida) by immunohistochemistry and cLSM. *Acta Zoologica*, v. 83, n. 1, p. 33-48, 2002.

MURUGANANDAM, M. et al. Impact of climate change and anthropogenic activities on aquatic ecosystem—A review. *Environmental Research*, v. 238, p. 117233, 2023.

NAZRI, Mohd Ulul Ilmie Ahmad et al. Cellular and molecular profiles of anterior nervous system regeneration in *Diopatra claparedii* Grube, 1878 (Annelida, Polychaeta). *Helicon*, v. 7, n. 2, 2021.

ORRHAGE, Lars; MÜLLER, Monika CM. Morphology of the nervous system of Polychaeta (Annelida). *Hydrobiologia*, v. 535, n. 1, p. 79-111, 2005.

PADUA, A.; KLAUTAU, M. Regeneration in calcareous sponges (Porifera). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 96, n. 2, p. 553-558, 2016.

PALLAS, P. S. *Miscellanea zoologica: quibus novae imprimis atque obscurae animalium species describuntur et observationibus iconibusque illustrantur*. Hagí Comitum: Petrum van Cleef, 1766. xii + 224 p.; 14 pls. p. 109–112, prancha VIII, figs. 19–26.

PARÉ, Louis et al. Transcriptomic landscape of posterior regeneration in the annelid *Platynereis dumerilii*. *BMC genomics*, v. 24, n. 1, p. 583, 2023.

PIRES, Adília et al. The effects of water acidification, temperature and salinity on the regenerative capacity of the polychaete *Diopatra neapolitana*. *Marine environmental research*, v. 106, p. 30-41, 2015.

PIRES, Adília. Studying Annelida Body Regeneration Under Environmental Stress in *Diopatra neapolitana*. *Whole-Body Regeneration*, p. 195, 2022.

READ, G.; FAUCHALD, K. (Ed.). World Polychaeta Database: *Diopatra neapolitana* Delle Chiaje, 1841. 2024a. Disponível em:

<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=130460>. Acesso em: 30 set. 2025.

READ, G.; FAUCHALD, K. (Ed.). World Polychaeta Database: *Diopatra neapolitana* Delle Chiaje, 1841. 2024b. Disponível em: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=130460>. Acesso em: 30 set. 2025.

RIBEIRO, Rannyele P.; BLEIDORN, Christoph; AGUADO, M. Teresa. Regeneration mechanisms in syllidae (Annelida). *Regeneration*, v. 5, n. 1, p. 26-42, 2018.

RILOV, Gil et al. Sea level rise can severely reduce biodiversity and community net production on rocky shores. *Science of the Total Environment*, v. 791, p. 148377, 2021.

SALÓ, Emili. The power of regeneration and the stem-cell kingdom: freshwater planarians (Platyhelminthes). *Bioessays*, v. 28, n. 5, p. 546-559, 2006.

TARDENT, PIERRE. Regeneration in the Hydrozoa. *Biological Reviews*, v. 38, n. 3, p. 293-333, 1963.

TIOZZO, Stefano; COPLEY, Richard R. Reconsidering regeneration in metazoans: an evo-devo approach. *Frontiers in Ecology and Evolution*, v. 3, p. 67, 2015.

TOIMIL, Alexandra et al. Addressing the challenges of climate change risks and adaptation in coastal areas: A review. *Coastal Engineering*, v. 156, p. 103611, 2020.

TOSO, Andrea et al. Effect of temperature and body size on anterior and posterior regeneration in *Hermodice carunculata* (Polychaeta, Amphinomidae). *Marine Biology*, v. 171, n. 8, p. 152, 2024.

TWORZYDŁO, Waclaw; BILINSKI, Szczepan M. (Ed.). *Evo-Devo: non-model species in cell and developmental biology*. Springer, 2019.

WEIDHASE, Michael; BLEIDORN, Christoph; HELM, Conrad. Structure and anterior regeneration of musculature and nervous system in *Cirratulus* cf. *cirratus* (Cirratulidae, Annelida). *Journal of Morphology*, v. 275, n. 12, p. 1418-1430, 2014.

WEIDHASE, Michael; HELM, Conrad; BLEIDORN, Christoph. Morphological investigations of posttraumatic regeneration in *Timarete cf. punctata* (Annelida: Cirratulidae). *Zoological Letters*, v. 1, n. 1, p. 20, 2015.

WEIDHASE, Michael et al. Nervous system regeneration in *Typosyllis antoni* (Annelida: Syllidae). *Zoologischer Anzeiger*, v. 269, p. 57-67, 2017.

WOOLWAY, R. Iestyn; SHARMA, Sapna; SMOL, John P. Lakes in hot water: the impacts of a changing climate on aquatic ecosystems. *Bioscience*, v. 72, n. 11, p. 1050-1061, 2022.

YOON, Deok-Seo et al. Effects of temperature and combinational exposures on lipid metabolism in aquatic invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 262, p. 109449, 2022.

ZATTARA, Eduardo E.; BELY, Alexandra E. Phylogenetic distribution of regeneration and asexual reproduction in Annelida: regeneration is ancestral and fission evolves in regenerative clades. *Invertebrate Biology*, v. 135, n. 4, p. 400-414, 2016.

APÊNDICE 1 – HISTOLOGIA

1 Materiais e Métodos

1.1 Inclusão em parafina

Os animais que estavam fixados em etanol 80% foram reidratados em etanol 95% por 30 minutos. Para a inclusão em parafina foi necessário realizar a desidratação das amostras com álcool 100% de 3 a 4 vezes por 30 minutos cada. Dessa forma, as amostras puderam ser incluídas na solução de Xilol por 3 vezes (15 minutos cada). Posteriormente, foram adicionadas em placas de vidro com parafina e mantidas em 60°C por 30 minutos. Esse processo foi repetido duas vezes. Foram confeccionados moldes para emblocar a parafina com papel alumínio, os quais foram preenchidos com a parafina e colocados para resfriar. Com o início do resfriamento, os animais foram adicionados nos moldes com a parafina e posicionados de forma que permitissem cortes longitudinais. Após o endurecimento dos blocos, estes foram moldados para remover o excesso de parafina e facilitar o posicionamento no micrótomo.

1.2 Cortes e preparação das lâminas

Os cortes foram feitos com espessura de 5 µm e foram separados, aproximadamente, 6 cortes por lâmina. As lâminas foram preparadas com Poly-L-lisina e os cortes colocados em banho-maria antes de irem para as lâminas. Após esse procedimento, foram deixados para secar na chapa aquecedora e logo colocados na estufa à 60°C para derreter a parafina. Para a desparafinização completa, as lâminas foram reidratadas em etanol 100, 80, 70, 50 e 30% durante 10 minutos cada e depois enxaguadas por 3 vezes com PBS. Para o bloqueio foi adicionado BSA 4% em PBT 1% durante 2 horas.

1.3 Incubação em anticorpos primários

Como foram emblocados dois animais de cada tempo, as primeiras réplicas de cada um foram expostas aos anticorpos primários rBIP1WI (Rinkevich 2010, rabbit) (1:1000), mPCNA MAB424 (1:200) em conjunto com rPH3 Mil 06-570 (1:500) e mAnti-tub 12G10 (1:200) em conjunto com rAnti-ser S5545 (1:1000), durante a noite e posteriormente enxaguadas 3 vezes com PBT. Para os anticorpos secundários foram utilizados GAR TRITC (Jackson Labs) (1:500), GAM ALEXA 488

em conjunto com GAR TRITC (1:500) e GAM TRITC em conjunto com GAR ALEXA 488 (1:500), respectivamente, durante 2 horas e enxaguados com PBT e, em seguida, com PBS. Já as segundas réplicas, além de expostas aos anticorpos rBIP1WI e mPCNA MAB424 em conjunto com rPH3 Mil 06-570 utilizados anteriormente, também foram expostas a mCD133 (1:50) em conjunto com rAnti-BsPL10 (1:1000) e rBsVasa (Rinkevich 2009, rabbit) (1:500) durante a noite e enxaguados com PBT.

1.4 Incubação em anticorpos secundários

Os anticorpos secundários aplicados nestes foram GAM TRITC em conjunto com GAR Alexa 488 (1:500) e GAR TRITC (jackson labs) (1:500), respectivamente. Após o enxágue dos anticorpos secundários, foi adicionado o DAPI (1:1000) por 3 minutos e, em seguida, enxaguados por 3 vezes em PBS. Por fim, foram realizados dois enxágues em ddH₂O (água destilada) e colocadas 2 a 3 gotas de glicerol 70%. As lâminas foram cobertas com lamínulas e armazenadas no escuro à 16°C. Para a visualização dos cortes foi utilizado o microscópio Leica de fluorescência M205FA com auxílio do software LASX.

2 Resultados

As lâminas histológicas não obtiveram marcações de piwi, Vasa, PCNA, PH3, PI10 e CD133.

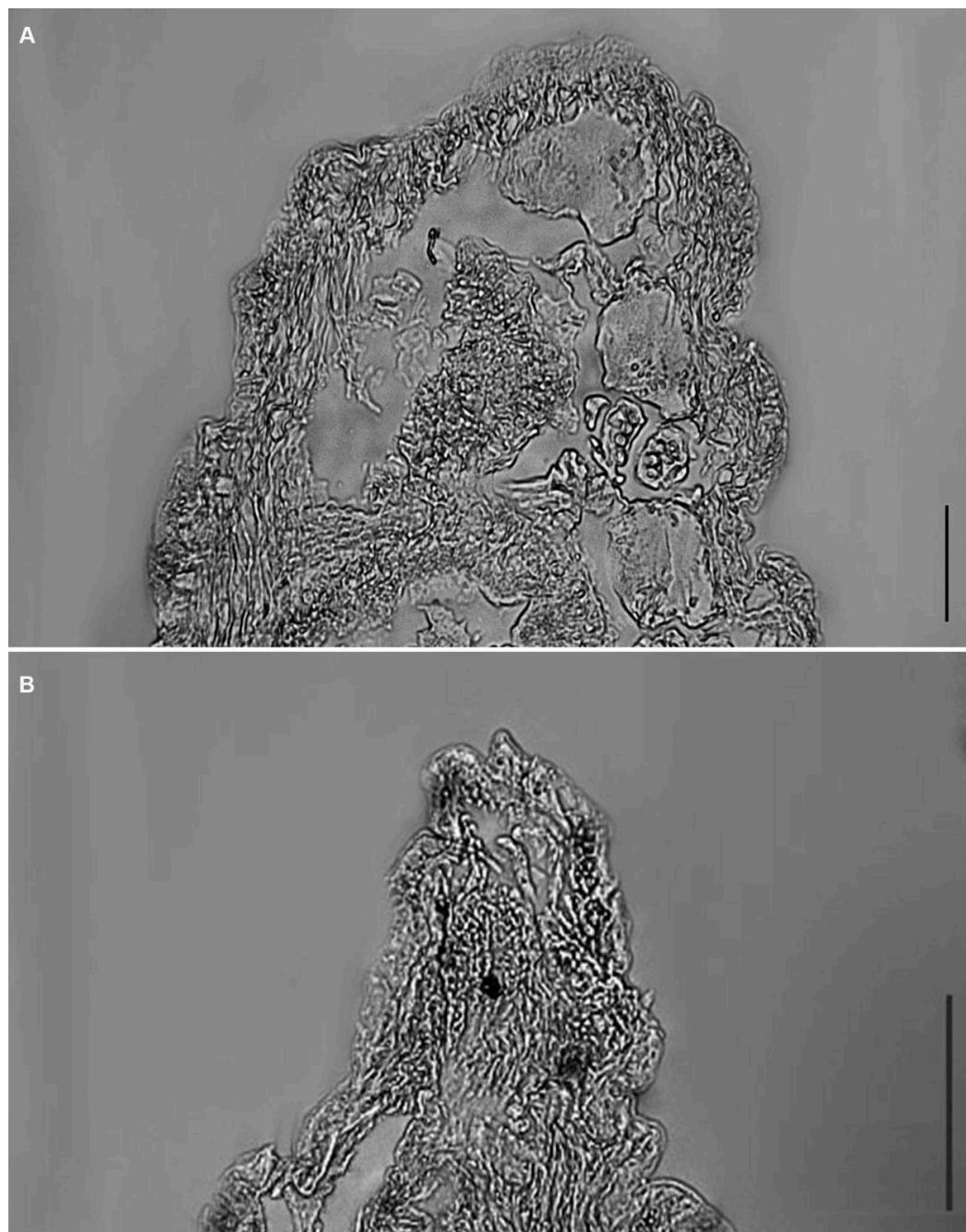


Figura 1. Cortes histológicos da região anterior de *T. aurantiaca*. A) tempo 5; B) tempo 7. Fonte: A Autora (2025).