



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR – LABOMAR

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

NADIA YUKIJI KOTO BONNET

FILOGENIA E TAXONOMIA DE PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA:
ASCIDIACEA)

FORTALEZA

2016

NADIA YUKIJI KOTO BONNET

Filogenia e Taxonomia de Phlebobranchia (Tunicata: Ascidiacea)

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Tito Monteiro da Cruz Lotufo

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Rosana Moreira da Rocha (UFPR)

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B711f Bonnet, Nadia Yukiji Koto.
Filogenia e Taxonomia de Phlebobranchia (Tunicata: Ascidiacea) / Nadia Yukiji Koto Bonnet. – 2016.
312 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Tito Monteiro da Cruz Lotufo.
Coorientação: Profa. Dra. Rosana Moreira da Rocha.

1. evolução. 2. morfologia. 3. COI. 4. 18S rDNA. 5. revisão taxonômica. I. Título.

CDD 551.46

NADIA YUKIJI KOTO BONNET

Filogenia e Taxonomia de Phlebobranchia (Tunicata: Ascidiacea)

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Tito Monteiro da Cruz Lotufo (Orientador)

Universidade de São Paulo – Instituto Oceanográfico

Prof. Dr. Federico David Brown Almeida

Universidade de São Paulo – Instituto de Biociências

Prof. Dr. Maximiliano Manuel Maronna

Universidade de São Paulo – Instituto de Biociências

Prof. Dr. Luis Ernesto Arruda Bezerra

Universidade Federal do Ceará – Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)

Prof. Dr. Vicente Vieira Faria

Universidade Federal do Ceará – Departamento de Biologia

*Aos meus pais,
que sonharam e me ensinaram a sonhar.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Tito M. C. Lotufo, por aceitar me orientar sem nem me conhecer e por acreditar que eu era capaz de realizar este trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Rosana M. da Rocha, por me receber em seu laboratório novamente e coorientar este trabalho.

À Dr. Gretchen Lambert, por todas as discussões e sugestões taxonômicas valiosas para mim. Foi um ótimo aprendizado e um grande crescimento para mim.

À Miranda Lowe e Emma Sherlock, do Natural History Museum (UK), por terem me recebido em Londres, permitido meu acesso à coleção de Ascidiacea ali depositada e por toda simpatia e atenção.

Ao Dr. Gustav Paulay, do Florida Museum of Natural History, e à Françoise Monniot, do Museum d'Histoire Naturelle (França), pelo empréstimo de espécimes para análise taxonômica.

Ao LABOMAR-UFC e à UFPR, pela estrutura de laboratório fornecida, que permitiu o desenvolvimento deste trabalho.

À CAPES, pela bolsa concedida durante todo o período da tese.

E como nem só de Ciência vive uma pessoa ao longo da Pós-Graduação, gostaria também de agradecer àquelas pessoas que foram importantes fora do âmbito acadêmico e que me deram o suporte para realizar este trabalho.

Tito e Rosana, um muito obrigada especial também por todo o apoio “humano”, pela paciência comigo, por compreenderem minhas limitações emocionais e minhas prioridades.

Aos meus pais, Terumi Koto e Manuel Bonnet. Ao longo dos nossos 29 anos juntos vocês sempre deixaram bem claro o quanto me amavam e eu espero que vocês também tenham tido a certeza do meu amor por vocês. Esta tese é a mais recente prova desse sentimento que sempre vai nos unir, onde quer que estejamos. Vocês acreditaram em mim mais do que eu mesma e sempre me incentivaram a seguir em frente. Se hoje eu

sou quem eu sou é graças a vocês. Obrigada por tudo! “Aonde quer que eu vá, levo vocês no olhar...”.

Ao meu irmão, Manuel Yuji, por ser um companheiro, um amigo, um colo, um sorriso, uma força. Te amo.

À toda minha família, pois sem vocês eu não teria chegado aqui. Obrigada pelo carinho, pelo incentivo e por estarem sempre ao meu lado e cuidarem de mim.

Ao pessoal do Laboratório de Ecologia Animal: Amarílis B. Paiva, Caio L. B. Holanda, Carlos Cavalcante, Dayara Normando, Francisca Andréa S. Oliveira, João Eduardo P. de Freitas, Raquel B. Rodrigues, Ronaldo R. Oliveira Filho, Sandra V. Paiva, Tarciana V. Fortaleza, Tatiana Duarte e Vicente V. Faria. Ao povo do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Invertebrados Marinhos: Gabriel Pacheco, Isabela M. Neves, Janaína Bumber, Joyce Ana Teixeira, Lívia Oliveira, Nicolas Chierigatti, Rodolfo Barros, Sandra Andrade e Simone Takeushi. Ao pessoal que conheci durante a pós: Anamaria e Eugênio Betanho, Cristiane Xerez, Juliana C. Gaeta, Juliana Fonseca, Valesca P. Rocha e Valdenísio Júnior. Aos companheiros de Zoologia da UFPR: Murilo Marochi e Salise Brandt. Muito obrigada por tudo e parabéns por terem me suportado durante todo esse tempo.

Quero agradecer especialmente à Andréa, à Cris, à Anamaria e à Valesca: meninas, conhecer vocês foi o melhor presente que o Ceará me deu. Vocês foram minha família aqui e sei que nossa amizade vai continuar independentemente da distância ou do tempo. Muito obrigada por cada momento compartilhado, cada risada, cada “terapia”, cada comilança... Tudo fez com que esses quatro anos se tornassem muito mais especiais.

Também quero agradecer à Joy, à Lívia e ao Daniel Moura, pelas músicas compartilhadas, pelas brincadeiras, pelos cafés e chás, pelas conversas. Foi bom voltar para Curitiba assim.

Aos amigos espalhados pelo mundo, mas que nunca deixaram que as distâncias geográficas nos afastassem: Maya Lissa, Milenie Stavis Meyer e Varne Nóbrega. Amizade como a de vocês não se encontra facilmente. Sou muito abençoada por ter vocês na minha vida.

E também quero agradecer àquelas pessoas que não são tão próximas assim, mas que estiveram por perto quando eu mais precisei e que, conscientemente ou não, ajudaram a me reerguer, me fizeram rir quando tudo o que eu mais queria era chorar, me fizeram ser forte quando eu me sentia totalmente frágil. Obrigada Aírton Graeml, Graça Stavis, Lys Rosita, Marcelo Coelho, Mateus Stange, Morel W. Bueno e Vera O. Viola.

E por fim, eu agradeço imensamente ao Luiz Paulo Pereira por ter caído de paraquedas na minha vida, por ser tão insistente em querer ficar nela mesmo quando eu não colaborei muito para isso e, principalmente, por me reensinar a sonhar.

*“A verdadeira sabedoria começa em
saber dar o nome certo às coisas”*

(Provérbio Chinês)

Estudo da Evolução e Taxonomia de Phlebobranchia (Tunicata: Ascidiacea)

RESUMO

Ascidiacea é tradicionalmente dividida em três taxa: Aplousobranchia, Phlebobranchia e Stolidobranchia. Os flebobrânquios incluem espécies solitárias e coloniais e são caracterizados pela presença de tentáculos orais simples, faringe sem pregas e gônadas associadas ao trato digestório. Presente ao redor do mundo inteiro e nas mais variadas profundidades, é a ordem com menor número de espécies descritas, porém é também a que apresenta maior variabilidade morfológica. A filogenia do grupo já foi estudada em níveis bastante abrangentes, mas com uma amostragem taxonômica bastante limitada. Além disso, a monofilia e as relações internas entre os táxons desta ordem não foram ainda adequadamente trabalhados. Com o objetivo de suprir essa lacuna, foram feitas análises filogenéticas utilizando tanto dados moleculares quanto morfológicos com uma ampla amostragem de espécies e famílias. Para as análises moleculares foram sequenciados os marcadores 18S rDNA (nuclear) e citocromo oxidase subunidade I (COI, mitocondrial). As sequências obtidas foram somadas a outras obtidas do GenBank e, para cada matriz (18S, COI e dados concatenados), realizadas análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Já os dados morfológicos foram obtidos a partir de estudos taxonômicos do grupo, que incluiu amostras coletadas recentemente, espécimes já depositados em museus e revisão bibliográfica. Nessa revisão taxonômica foram analisadas 62 espécies de sete famílias de Phlebobranchia. Para cada uma delas foi feita uma descrição completa, comparando também com a bibliografia já existente. Foram encontradas cinco espécies novas (uma de Ascidiidae, já publicada, e quatro de Perophoridae, com o manuscrito em preparação), além de cinco morfotipos que não puderam ainda ser identificados. Com os dados morfológicos gerou-se uma matriz que foi utilizada para a análise de Máxima Parsimônia. Os resultados sugerem a relação de Phlebobranchia e Aplousobranchia, ainda que não de forma determinada. Das famílias estudadas, apenas Ascidiidae e Hypobythiidae tiveram a monofilia confirmada; Agneziidae teve a monofilia apenas sugerida, assim como sua derivação a partir de Corellidae. Não foi encontrado suporte para a divisão de Corellidae em subfamílias, mas as espécies abissais tradicionalmente alocadas nesse grupo formam uma possível família própria. Cionidae e Diazonidae provavelmente não correspondem

ao táxon Phlebobranchia. Nenhuma inferência sobre a validade de Octacnemidae pode ser feita pelos resultados obtidos. Em relação aos gêneros, em Ascidiidae foi confirmada a existência de *Phallusia* e *Ascidiella*, porém não a de *Ascidia*, que deve ser subdividida em novos gêneros. Já Perophoridae demonstrou ser um táxon monogenérico, sendo *Perophora* o nome que deve permanecer. As hipóteses geradas sobre o relacionamento entre as famílias são ainda muito inconsistentes, sendo necessário um maior número de terminais avaliados para que se possa chegar a uma conclusão mais confiável.

Palavras chave: morfologia, 18S rDNA, COI, evolução, revisão taxonômica.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Filogenia morfológica de Phlebobranchia baseada em 87 caracteres de 66 espécies (62 de *ingroup* e quatro de *outgroup*). Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>50). Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Agneziidae (em verde claro), Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (Corellinae em roxo; Rhodosomatinae em lilás), Diazonidae (em laranja), Hypobythiidae (em verde escuro), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.....35

Figura 2. Filogenia morfológica de Phlebobranchia baseada em 87 caracteres de 66 espécies (62 de *ingroup* e quatro de *outgroup*). Sinapomorfias dos clados. Comprimento dos ramos alterados para a inserção dos caracteres. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Agneziidae (em verde claro), Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (Corellinae em roxo; Rhodosomatinae em lilás), Diazonidae (em laranja), Hypobythiidae (em verde escuro), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.....36

Figura 3. Filogenia de Phlebobranchia baseada em sequências de COI de 36 espécies, com 445pb cada. Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>75%) (ML) e probabilidade posterior (>0.9) (BI), respectivamente. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (em roxo), Diazonidae (em laranja), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.....40

Figura 4. Filogenia de Phlebobranchia baseada em sequências de 18S rDNA de 48 espécies, com 955pb cada. Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>75%) (ML) e probabilidade posterior (>0.9) (BI), respectivamente. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (Corellinae em roxo; Rhodosomatinae em lilás), Octanecmidae (em azul claro), Perophoridae (em azul escuro). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.....42

Figura 5. Filogenia de Phlebobranchia baseada em dados concatenados (COI + 18S) de 20 espécies, resultando em sequências com 1400pb cada. Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>75%) (ML) e probabilidade posterior (>0.9) (BI), respectivamente. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza),

Corellidae (em roxo), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.....44

Capítulo II

Figura 01. Desenhos esquemáticos indicando a orientação dos animais. A. Phlebobranchia com corpo não dividido. B. Phlebobranchia com corpo dividido em tórax + abdome.....103

Figura 02. A. Desenho esquemático de um Phlebobranchia com corpo não dividido, indicando a localização das principais estruturas (tubo digestivo e gônadas estão do lado esquerdo do animal apenas como exemplo) (adaptado de Bonnet 2010). B-G. Projeções na túnica. B. Projeções esféricas. C. Papilas cônicas. D. Projeções digitiformes. E-F. Pedúnculo. G. “Almofadas”.....104

Figura 03. Padrões de musculatura. A-E. Sifões. A. Ausência de fibras musculares. B. Fibras circulares em baixa densidade. C. Fibras circulares em alta densidade. D. Fibras longitudinais não organizadas em feixes. E. Fibras longitudinais organizadas em feixes. F-L. Musculatura corporal. F. Em rede. G. Feixes longitudinais cruzados por fibras transversais completas. H. Fibras oblíquas longas. I. Fibras oblíquas curtas. J. Fibras perpendiculares à margem dorsal. K. Fibras perpendiculares às margens dorsal e ventral. L. Coluna de fibras transversais no meio da parede do corpo. Legenda: gn: gânglio nervoso; sa: sifão atrial; so: sifão oral; t: túnica.....105

Figura 04. A-B. Margem dos lobos do sifão. A. Lisos. B. Com projeções. C-F. Parede interna do sifão oral. C. Lisa. D. Com membrana. E. Com papilas arredondadas. F. Com projeções aculeares. G-L. Lâmina dorsal. G. Dupla anteriormente. H. Margem lisa. I. Margem serrilhada por projeções dos vasos transversais da faringe. J. Margem serrilhada por projeções próprias e dos vasos transversais da faringe. K. Em linguetas. L. Papilas na lateral da lâmina dorsal, próximo à abertura do esôfago. Legenda: ae: abertura do esôfago; ld: lâmina dorsal; td: tubérculo dorsal.....106

Figura 05. A. Anel ciliado liso. B. Anel ciliado com projeções e papilas na área entre anel ciliado e tentáculos orais. C-G. Tubérculo dorsal. C. Ausente. D. Em fenda. E. Em U, sem pontas enroladas. F. Em U, com pontas enroladas. G. Meandriforme. H-I. Aberturas acessórias. H. Agrupadas. I. Em linha. J-L. Inserção dos tentáculos orais. J. Diretamente na parede do corpo. K. Em anel muscular. L. Em membrana. Legenda: aa: aberturas acessórias; ac: anel ciliado; ld: lâmina dorsal; p: papila; td: tubérculo dorsal; to: tentáculos orais.....107

Figura 06. A-C. Fendas na faringe. A. Em espiral. B. Retas. C. Circular. D-G. Faringe com papilas exposta ao lúmen. D. Papilas simples. E. Papilas bilobadas. F. Papilas triplas. G. Papilas primárias e secundárias. H-I. Papilas primárias da faringe não expostas ao lúmen. H. Papilas sob vasos longitudinais completos. I. Papilas sob vasos longitudinais incompletos. J-L. Margem do endóstilo. J. Liso. K. Com papilas. L. Com projeções filiformes. Legenda: ppb: papila primária bilobada; pps: papila primária simples; ppt: papila primária tripla; ps: papila secundária; vlc: vaso longitudinal completo; vt: vaso transversal.....108

Figura 07. A-B. Abertura do esôfago. A. Margeada por uma lâmina. B. Margeada por linguetas. C-F. Parede do estômago. C. Liso. D. Com pregas longitudinais. E. Com pregas helicoidais. F.

Areolada. G-L. Intestino. G. Com alça primária e secundária fechadas. H. Com alça secundária aberta. I. Alça secundária ausente. J. Com alça secundária posterior ao estômago. K. Com dilatação não saculiforme. L. Com dilatação saculiforme. Legenda: ae: abertura do esôfago; aip: alça intestinal primária; ais: alça intestinal secundária; est: estômago; ld: lâmina dorsal; ov: ovário; ovi: oviduto.....109

Figura 08. A-C. Abertura do ânus. A. Liso. B. Bilobado. C. Multilobado. D. Vesículas renais. E-F. Constrições no intestino. G-L. Gônadas. G. Ovócitos agrupados e testículo circular. H. Testículo recobrimdo o tubo digestivo. I. Ovário saculiforme. J. Ovário lobado, restrito à alça intestinal primária. K. Ovário lobado, no interior da alças intestinais primária e secundária. L. Ovário ramificado. Legenda: aip: alça intestinal primária; ais: alça intestinal secundária; con: constrição no intestino; est: estômago; ov: ovário; tes: testículo.....110

Figura 09. A-B. Desenhos esquemáticos indicando algumas medições externas feitas nos espécimes. A. Phlebobranchia com corpo não dividido. B. Phlebobranchia com corpo dividido em tórax + abdome. Legenda: C: comprimento corporal; CA: comprimento do abdome; CSO: comprimento do sifão oral; CSA: comprimento do sifão atrial; CT: comprimento do tórax; DS: distância entre sifão atrial e sifão oral; L: largura corporal.....111

Figura 10. Desenho esquemático de estruturas internas indicando algumas das medições feitas. A. Região anterior. B. Tubo digestório. Legendas: CE: comprimento do estômago; CTD: comprimento do tubo digestório; CTO: comprimento dos tentáculos orais; DTA: distância entre os tentáculos orais e o anel ciliado; DTD: diâmetro ântero-posterior do tubérculo dorsal; LDD: distância da lâmina dorsal dupla; LE: largura do estômago; LTD: largura do tubo digestório.....112

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>).....15

Tabela 2. Especificações dos iniciadores utilizados.....30

Tabela 3. Teste de Substituição de Saturação (Xia *et al.* 2003). Análise realizada para todos os sítios das sequências das matrizes de COI e 18S rDNA. Em ambos os casos assumiu-se uma topologia assimétrica.....39

Capítulo II

Tabela 1. Lista de espécies analisadas.....95

Tabela 2. Lista de caracteres estudados.....101

SUMÁRIO

Introdução Geral.....	1
Referências Bibliográficas.....	4
CAPÍTULO I – INFERÊNCIAS FILOGENÉTICAS EM PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA, ASCIDIACEA)	
Resumo.....	5
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Material & Métodos.....	12
1. Análise Morfológica.....	12
1.1. Material Biológico.....	12
1.2. Análise Filogenética.....	13
2. Análise Molecular.....	13
2.1. Material Biológico.....	14
2.2. Extração de DNA.....	30
2.3. Amplificação e Sequenciamento.....	30
2.4. Análise Filogenética.....	31
Resultados.....	34
1. Análise Morfológica.....	34
2. Análises Moleculares.....	38
2.1. Testes de Saturação.....	38
2.2. Gene COI.....	39
2.3. Gene 18S rDNA.....	41

2.4. Dados Concatenados.....	43
Discussão.....	45
Conclusões.....	55
Referências Bibliográficas.....	56
Apêndices.....	65
1. Matriz de Dados Morfológicos.....	65
2. Caracteres Morfológicos Avaliados.....	83
3. Protocolos de Amplificação de DNA.....	88
CAPÍTULO II – TAXONOMIA DE PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA, ASCIDIACEA)	
Resumo.....	89
Abstract.....	90
Introdução.....	91
Material & Métodos.....	94
Resultados.....	113
Agneziidae.....	113
<i>Agnezia</i>	113
<i>Caenagnesia</i>	116
Ascidiidae.....	119
<i>Ascidia</i>	119
<i>Ascidiella</i>	172
<i>Phallusia</i>	177
Corellidae.....	187

<i>Chelyosoma</i>	188
<i>Corella</i>	191
<i>Corynascidia</i>	198
<i>Abyssascidia</i>	200
<i>Rhodosoma</i>	203
Hypobythiidae.....	206
<i>Hypobythius</i>	207
Perophoridae.....	210
<i>Ecteinascidia</i>	210
<i>Perophora</i>	259
Dimeatidae, Octacnemidae e Plurellidae.....	269
Cionidae.....	271
<i>Ciona</i>	272
Diazonidae.....	277
<i>Rhopalaea</i>	278
<i>Tylobranchion</i>	280
Considerações Finais.....	283
Referências Bibliográficas.....	285

INTRODUÇÃO GERAL

A correta identificação de espécies é de fundamental importância em qualquer estudo que envolva um organismo vivo. Como estudar a recuperação de uma área degradada se não for possível dizer quais são as espécies que estão participando do processo? Como proteger a biota nativa se não se conhece o que há no próprio território e no resto do mundo para poder identificar casos de bioinvasão? Como escolher e/ou monitorar uma unidade de conservação se não se sabe quem habita aquela região? Em trabalhos como esses é que se nota a necessidade de uma boa taxonomia.

A classe Ascidiacea (Chordata: Tunicata) é composta por animais marinhos, sésseis, solitários ou coloniais, filtradores e hermafroditas. Seu tempo de vida larval é relativamente curto (de poucos minutos a algumas horas), sendo esta a única fase livre-natante. Portanto, sua capacidade de dispersão acaba sendo bastante limitada. Mesmo assim, espécies de ascídias podem ser encontradas em todas as partes do mundo tanto devido a presença de espécies cosmopolitas quanto pela grande diversidade existente, desde zonas entremarés até grandes profundidades. O grupo é atualmente formado por três ordens: Phlebobranchia (372 espécies), Stolidobranchia (1033 espécies) e Aplousobranchia (1500 espécies) (WoRMS), sendo que as duas primeiras apresentam gêneros solitários e coloniais, enquanto que Aplousobranchia inclui apenas formas coloniais.

O táxon Phlebobranchia – foco deste estudo – é tradicionalmente composto por dez famílias: Agneziidae, Ascidiidae, Cionidae, Corellidae, Diazonidae, Dimeatidae, Hypobythiidae, Octacnemidae, Perophoridae e Plurellidae. No entanto ainda não existe nenhum estudo sobre a evolução das espécies do grupo, o que impossibilita uma classificação biológica confiável baseada em dados filogenéticos. Dessa forma, não é possível responder algumas questões relativas aos Phlebobranchia: como as famílias estão relacionadas? Como seus caracteres se desenvolveram ao longo da história? Serão gêneros, famílias e a própria ordem válidos filogeneticamente? Para Ascidiacea em geral, algumas pesquisas já vem sendo desenvolvidas no sentido de tentar responder essas questões a partir de métodos filogenéticos, mas de forma ainda incipiente e sem boa cobertura dos táxons (Turón & Lopez-Legentil 2004; Moreno & Rocha 2008; Pérez-Portela *et al.* 2009). Especificamente para os flebobrânquios, a filogenia continua mal resolvida, uma vez que apenas poucos táxons deste grupo foram incluídos em tais

estudos, impossibilitando uma análise abrangente da evolução dos mesmos. Esse conhecimento restrito da ordem chega muitas vezes a ser contraditório: sequer estão definidas quais famílias fazem realmente parte de Phlebobranchia ou se a ordem é monofilética. Assim, um estudo filogenético baseado em caracteres morfológicos e moleculares do grupo é de extrema importância para melhor compreensão do mesmo.

Entretanto, a própria taxonomia de Phlebobranchia está mal resolvida. Em um levantamento preliminar é possível observar uma grande quantidade de sinonimizadas que foram sendo feitas ao longo do tempo. Essa dificuldade no reconhecimento específico pode ser comprovada ao se analisar taxonomicamente parte da família Ascidiidae, para a qual o reexame de espécimes já depositados em coleções revelou erros de identificação (Bonnet 2010). Tais erros ocorreram principalmente devido a três razões:

- a) A comparação dos materiais com a literatura pertinente não foi suficiente ou as descrições disponíveis são incompletas – como no caso de *Ascidia santosi* Millar, 1958, cuja descrição se assemelhava a exemplares coletados recentemente e que apenas com a revisão do holótipo foi possível distinguir que se tratavam de espécies distintas (Bonnet & Rocha 2011).
- b) A ausência de espécies semelhantes já conhecidas para determinada região levou à descrição da espécie como nova, sem que houvesse uma revisão bibliográfica completa do gênero ao redor do mundo. Esse foi o caso de *Ascidia corelloides* (Van Name, 1924), descrita como uma espécie caribenha, mas que, ao ser comparada com espécimes provenientes do Japão e da Austrália, foi reconhecida como sinônimo menor de *Ascidia archaia* Sluiter, 1890 (Kott 1985).
- c) A descrição de espécies com um amplo espectro de variações morfológicas possíveis, sendo que análises *a posteriori* as reclassificaram em mais de uma espécie (eram portanto complexos de espécies). Um exemplo observado disto é o registro de *Ascidia curvata* (Traustedt, 1882) na costa brasileira, cuja revisão de alguns exemplares separou as amostras em *A. curvata*, *A. tenue* Monniot, 1983 e *A. nordestina* Bonnet & Rocha, 2011 (Bonnet & Rocha 2011).

Assim, uma possível solução para evitar futuros problemas de identificações equivocadas seria a revisão de holótipos, neótipos e parátipos, a fim de criar descrições

mais detalhadas das espécies. Mas isso não basta, uma vez que existem espécies crípticas que, embora sejam espécies distintas, possuem grande semelhança morfológica (Tarjuelo *et al.* 2001). Nesse caso, ferramentas moleculares acabam sendo de grande valia, já havendo resultados positivos nesse aspecto (Tarjuelo *et al.* 2001; Pérez-Portela *et al.* 2007).

Dessa forma, os objetivos desta tese foram a geração de dados para filogenia molecular de Phlebobranchia, bem como o levantamento de hipóteses sobre a evolução do táxon com base em dados morfológicos e moleculares (testar o monofiletismo de Phlebobranchia e determinar quais famílias a compõe), além fazer uma revisão taxonômica do grupo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bonnet, NYK. 2010. *Taxonomia e filogenia de Ascidiidae (Chordata, Tunicata)*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.
- Bonnet, NYK; Rocha, RM. 2011. The Ascidiidae (Ascidiacea: Tunicata) of Coastal Brazil. *Zoological Studies*, 50(6): 809-825.
- Kott, P. 1985. The Australian Ascidiacea. Part 1. Phlebobranchia and Stolidobranchia. *Memoirs of the Queensland Museum*, 23: 1-440.
- Moreno, TR; Rocha, RM. 2008 Phylogeny of the Aplousobranchia (Tunicata: Ascidiacea). *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(2): 269-298.
- Pérez-Portela, R; Bishop, JDD; Davis, AR; Turon X. 2009. Phylogeny of the families Pyuridae and Styelidae (Stolidobranchiata, Ascidiacea) inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50: 560-570.
- Pérez-Portela, R; Duran, S; Palacín, C; Turon, X. 2007. The genus *Pycnoclavella* (Ascidiacea) in the Atlanto-Mediterranean region: a combined molecular and morphological approach. *Invertebrate Systematics*, 21: 187-205.
- Tarjuelo, I; Posada, D; Crandall, KA; Pascual, M; Turon, X. 2001. Cryptic species of *Clavelina* (Ascidiacea) in two different habitats: harbours and rocky littoral zones in the Northwestern Mediterranean. *Marine Biology*, 139: 455-462.
- Turon, X; Lopez-Legentil, S. 2004 Ascidian molecular phylogeny inferred from mtDNA data with emphasis on the Aplousobranchiata. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33: 309-320.
- WoRMS Editorial Board (2016). World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org> at VLIZ. Acesso em 02 de agosto de 2016. doi:10.14284/170

CAPÍTULO I

INFERÊNCIAS FILOGENÉTICAS EM PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA, ASCIDIACEA)

Resumo

Ascidiacea é tradicionalmente compreendida pelas ordens Aplousobranchia, Phlebobranchia e Stolidobranchia. Os flebobrânquios são bastante diversificados, incluindo espécies solitárias e coloniais, de águas rasas e profundas, tropicais a polares. Filogenias para o grupo já foram propostas, porém com uma amostragem taxonômica bastante limitada. Além disso, a monofilia e as relações internas entre os táxons desta ordem não foram ainda adequadamente trabalhados. Com o objetivo de suprir essa lacuna, a filogenia do grupo foi descrita a partir de dados morfológicos quanto moleculares. Os primeiros foram obtidos a partir de estudos taxonômicos do grupo, que incluiu amostras frescas, espécimes depositados em museus e informações disponíveis na literatura. A matriz gerada foi submetida à análise de Máxima Parsimônia. Já para as análises moleculares foram sequenciados os marcadores 18S rDNA (parcial, nuclear) e citocromo oxidase subunidade I (COI, mitocondrial). As sequências obtidas foram somadas a outras obtidas do GenBank e, para cada matriz (18S, COI e dados concatenados), realizadas análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Os resultados sugerem uma relação de Phlebobranchia e Aplousobranchia. Das famílias estudadas, apenas Ascidiidae e Hypobythiidae tiveram a monofilia confirmada; Agneziidae teve a monofilia apenas sugerida, assim como sua derivação a partir de Corellidae. Não foi encontrado suporte para a divisão de Corellidae em subfamílias, mas as espécies abissais tradicionalmente alocadas nesse grupo formam uma possível família própria. Cionidae e Diazonidae provavelmente não correspondem ao táxon Phlebobranchia. Nenhuma inferência sobre a validade de Octacnemidae pode ser feita pelos resultados obtidos. Em relação aos gêneros, em Ascidiidae foi confirmada a existência de *Phallusia* e *Asciella*, porém não a de *Ascidia*, que deve ser subdividida em novos gêneros. Já Perophoridae demonstrou ser um táxon monogênico, sendo *Perophora* o nome que válido. As hipóteses geradas sobre o relacionamento entre as famílias são ainda muito inconsistentes, sendo necessário um maior número de terminais avaliados para que se possa chegar a uma conclusão mais confiável.

Palavras chave: morfologia, 18S rDNA, COI, Enterogona, evolução.

CHAPTER I

PHYLOGENETIC INFERENCES IN PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA, ASCIDIACEA)

Abstract

Traditionally, Ascidiacea is divided in three orders: Aplousobranchia, Phlebobranchia and Stolidobranchia. The phlebobranchs are the most diverse, with solitary and colonial forms, living in shallow to deep waters, in tropical to polar regions. The phylogeny of Phlebobranchia was already assessed in studies with limited taxon sampling, and focus on deeper relationships. The monophyly of the families and their phylogenetic relationships were not properly addressed. This study presents a phylogenetic analysis based in both morphological and molecular characters, in an integrative approach. The morphological data were obtained from a taxonomic review, including specimens recently collected, samples deposited in museums and bibliography. A matrix of characters was generated in Nexus Data Editor 0.5.0 (NDE); the Maximum Parsimony trees were obtained with PAUP 4.0b10. Molecular data consisted of sequences of the nuclear 18S rADN and the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I (COI) obtained in laboratory; sequences from GenBank completed the matrix. The Maximum Likelihood and Bayesian Inference analysis were made for each dataset (18S, COI and concatenated data) in PhyML and MrBayes 3.2.2, respectively. Results suggest the relationship among Phlebobranchia and Aplousobranchia. Also, only Ascidiidae and Hypobythiidae were recovered as monophyletic groups; Agneziidae may be monophyletic and derived from a corellid ancestor. No support was found to divide Corellidae in subfamilies, but the abyssal species traditionally in this group are probably a new family. Cionidae and Diazonidae do not correspond to Phlebobranchia. The validity of Octacnemidae could not be inferred. About the genera, it was confirmed the validity of *Phallusia* and *Asciella* in Ascidiidae, but not of *Ascidia*, which may be divided in new genera. Perophoridae is a monogeneric taxon and *Perophora* is the genus valid. Hypothesis about the relationships among families were inconsistent and more data and broader taxon sampling are necessary.

Key words: morphology, 18S rDNA, COI, Enterogona, paraphyly

INTRODUÇÃO

O subfilo Tunicata reúne animais exclusivamente marinhos e primariamente filtradores. A circulação interna de água através da faringe perfurada permite, além da obtenção de alimentos, as trocas gasosas, a eliminação de excretas e dejetos alimentares, e a liberação de gametas. Suas larvas apresentam as cinco características que definem os cordados (fenas branquiais, cauda pós anal, endóstilo/tireóide, tubo nervoso dorsal e notocorda). Tradicionalmente os tunicados são considerados grupo-irmão de Vertebrata + Cephalochordata, sendo essa hipótese sustentada pela presença de miótomos em Vertebrata + Cephalochordata e da túnica em Tunicata, e corroborada por dados de 18S rDNA (Cameron *et al.* 2000; Swalla *et al.* 2000). Entretanto, recentes estudos utilizando marcadores moleculares apontaram Tunicata como grupo-irmão de Vertebrata (Delsuc *et al.* 2006; Dunn *et al.* 2008) e a monofilia do grupo é sustentada tanto por dados de 18S rDNA e citocromo oxidase subunidade I (COI) (Swalla *et al.* 2000; Stach & Turbeville 2002; Turón & Lopez-Legentil 2004; Tsagkogeorga *et al.* 2009), quanto por caracteres morfológicos (Zeng & Swalla 2005). As sinapomorfias de Tunicata são: presença de túnica, gânglio neural sólido em adultos, reversão dos batimentos cardíacos em intervalos regulares, e ausência de cavidades celômicas (Zeng & Swalla 2005; Stach 2009).

Os tunicados estão tradicionalmente divididos em três classes, sendo duas de organismos pelágicos (Appendicularia e Thaliacea) e a outra bentônica (Ascidiacea). Atualmente são conhecidas aproximadamente 68 espécies de apendiculários (WoRMS 2016, acesso em 12 de fevereiro de 2016) e 79 de taliáceos (Govindarajan *et al.* 2011), que, somadas, perfazem apenas cerca de 5% da diversidade total do grupo.

A mais diversa classe dentre os Tunicata é Ascidiacea, com cerca de 3000 espécies descritas, distribuídas por águas tropicais a polares, desde regiões entremarés até zonas abissais (Appeltans *et al.* 2012). Em sua maioria são animais filtradores, porém algumas espécies de grandes profundidades desenvolveram hábito carnívoro (Lambert 2005). São organismos solitários ou coloniais, hermafroditas, com fertilização externa (solitários) ou interna (coloniais). Nesse último caso há a incubação das larvas, mas o local varia conforme o grupo: pode ser na cavidade atrial, em uma bolsa incubatória, ou na túnica (Monniot C. *et al.* 1991). Algumas espécies solitárias de Corellidae e *Ascidia* também costumam incubar suas larvas na cavidade atrial, porém

constituem exceções. As larvas são livre-natantes, com tempo de vida curto no plâncton (minutos a horas), após o qual se fixam ao substrato e sofrem metamorfose para a forma adulta (Monniot C. *et al.* 1991).

Classicamente o grupo é dividido em três ordens, baseando-se na estrutura da faringe: plana e sem vasos longitudinais em Aplousobranchia; plana e com vasos longitudinais completos em Phlebobranchia; e pregueada com vasos longitudinais em Stolidobranchia. (Lahille 1886). Estudos posteriores corroboraram essa classificação de Ascidiacea ao demonstrar que o sangue presente em Phlebobranchia contém o metal vanádio em estado de oxidação III, em Aplousobranchia há vanádio IV e espécies de Stolidobranchia não possuem quantidade significativa desse elemento (Hawkins *et al.* 1983). Thaliacea foi considerada parte de Aplousobranchia por Lahille (1886), porém foi reconhecida como um grupo a parte por Garstang em 1896 (Berrill 1950).

No entanto, baseado na posição das gônadas, outra divisão para as ascídias foi proposta por Perrier em 1898, tendo sido modificada por Garstang em 1928 (Berrill 1950). Nessa nova proposta, Ascidiacea é dividida em Pleurogona (espécies cujas gônadas se encontram em ambos os lados do corpo e associadas à parede do corpo) e Enterogona (ascídias com uma única gônada localizada junto ao tubo digestório) (Berrill 1950; Kott 1985). Em 1937, Huus combinou as classificações de Lahille e Perrier (com as devidas adaptações feitas por Garstang), aceitando Phlebobranchia e Aplousobranchia como subordens de Enterogona e Stolidobranchia como subordem de Pleurogona (Berrill 1950).

Se morfologicamente parecia ter-se chegado a um consenso sobre a classificação e as relações entre os diferentes grupos de tunicados, análises moleculares recentes vêm questionando isso. Estudos utilizando 18S rDNA apontaram a inclusão de Thaliacea em Ascidiacea como grupo-irmão de Phlebobranchia (Wada 1998; Swalla *et al.* 2000; Stach & Turbeville 2002; Zeng *et al.* 2006; Tsagkogeorga *et al.* 2009; Govindarajan *et al.* 2011), além de questionar a validade de Aplousobranchia, uma vez que esta estaria relacionada a [Thaliacea + Phlebobranchia] (Tsagkogeorga *et al.* 2009; Govindarajan *et al.* 2011). No entanto, apenas um gene foi utilizado como marcador, sendo necessário um estudo mais abrangente para se compreender a filogenia do grupo com maior segurança. Recentemente, uma filogenia baseada em dados de transcriptoma corrobora a

hipótese de ((Phlebobranchia + Aplousobranchia) + Thaliacea), porém utilizando um número pequeno de táxons (Simion *et al.*, dados não publicados).

Atualmente, Phlebobranchia – foco deste estudo – é composto por dez famílias. Tradicionalmente apenas Agneziidae, Ascidiidae, Cionidae, Corellidae, Diazonidae, Hypobythiidae e Perophoridae eram reconhecidas como parte do grupo (Berrill 1950), porém recentemente três novas famílias foram criadas e acrescentadas: Dimeatidae, Octacnemidae e Plurellidae (Kott 1985; Sanamyan 2001). A presença de vasos longitudinais completos associados à faringe lisa é um caracter que pode ser considerado apomórfico para Phlebobranchia (como proposto por Lahille 1886), sendo a faringe lisa um caracter também presente em Aplousobranchia e os vasos longitudinais completos um caracter eventualmente reduzido ou perdido ao longo da evolução do grupo (como observado em Agneziidae, Hypobythiidae e alguns corelídeos, diazonídeos, dimeatídeos e peroforídeos). A posição do tubo digestório e das gônadas no lado esquerdo do corpo também pode ser considerada sinapomórfica para o grupo, sendo as variações modificações secundárias que ocorreram (em Corellidae e Octacnemidae ambos estão do lado direito, em Hypobythiidae estão na região dorsal, e em Cionidae e Diazonidae se localizam posteriormente à faringe). Phlebobranchia possui ainda outras características, mas que são compartilhadas com Aplousobranchia, tais como: cavidade atrial originada a partir de duas invaginações dorsais da ectoderme, tentáculos orais lisos, faringe sem pregas verdadeiras, gônadas ímpares (um ovário, um testículo) e associadas ao tubo digestório (Berrill 1950; Kott 1985). É um grupo que apresenta uma grande diversidade de formas: a maior parte das espécies são solitárias, porém existem representantes coloniais (todos de Perophoridae, parte de Diazonidae e o gênero *Plurella* de Plurellidae); no geral possuem a faringe com fendas retas, mas em Agneziidae e parte de Corellidae as fendas são espiraladas e em Hypobythiidae e Octacnemidae estão reduzidas, ou até mesmo ausentes em alguns octacnemídeos; e podem apresentar lâmina dorsal contínua ou subdividida em linguetas. Os flebobrânquios são encontrados principalmente em águas rasas, mas algumas espécies de Agneziidae, Cionidae e Corellidae, além de toda a família Hypobythiidae e Octacnemidae, são habitantes de águas profundas.

Filogeneticamente, a composição de Phlebobranchia tem sido contestada por diversos autores. Kott (1990) assume que Cionidae e Diazonidae são parte de Aplousobranchia, pois possuem epicárdio com função regenerativa. De acordo com a

autora, apenas em aplousobrânquios o epicárdio é relacionado a processos vegetativos, enquanto que em Phlebobranchia e Stolidobranchia o órgão é responsável por funções excretoras (Kott 1985). Mais recentemente, Moreno & Rocha (2008), baseando-se exclusivamente em caracteres morfológicos, propõem que Perophoridae e Diazonidae fariam parte de Aplousobranchia e Cionidae estaria relacionado aos Phlebobranchia. No campo de pesquisas moleculares, análises com o gene citocromo oxidase I (COI) incluem Diazonidae e Cionidae entre os aplousobrânquios e mantêm Perophoridae relacionado aos flebobrânquios (Turón & López-Legentil 2004), concordando com a proposta de Kott (1985, 1990); entretanto, estudos com o gene nuclear 18S rDNA corroboram Cionidae e Perophoridae como Phlebobranchia (Zeng *et al.* 2006; Tsagkogeorga *et al.* 2009). No entanto, todos os trabalhos publicados até o momento utilizam os flebobrânquios ou como grupo externo ou como parte de análises sobre Tunicata em geral. Por causa disso, poucas espécies do grupo são incluídas nesses estudos (menos de 20 espécies, representando cinco famílias), o que restringe o conhecimento sobre a validade de gêneros e famílias, bem como de suas relações entre si.

Dessa forma, com o objetivo de analisar a validade das famílias de Phlebobranchia como grupos monofiléticos e inferir as relações filogenéticas entre elas, foram levantados caracteres morfológicos e sequenciados dois marcadores, um mitocondrial (COI) e outro nuclear (18S). O gene COI possui função codificadora de proteínas que integram a cadeia respiratória celular, porém tem sido amplamente utilizado para a identificação genética de espécies animais, pois apresenta um grau de polimorfismo alto o suficiente para permitir tal diferenciação devido a sua alta taxa evolutiva (Folmer *et al.* 1994; Hebert *et al.* 2003). Vários estudos que utilizaram este marcador obtiveram resultados importantes sobre as relações evolutivas entre táxons de ascídias, tanto em nível específico (Nydam & Harrison 2007; Pérez-Portela *et al.* 2007) quanto para gêneros e famílias (Kurabayashi *et al.* 2003; Turón & López-Legentil 2004; Pérez-Portela & Turón 2008; Pérez-Portela *et al.* 2009). Tais características também podem fazer de COI um gene adequado para estudos de genética de populações, filogeografia, identificação de espécies crípticas e bioinvasões em Ascidiacea (Tarjuelo *et al.* 2001; Castilla *et al.* 2002; Turón *et al.* 2003; López-Legentil & Turón 2006; Pérez-Portela *et al.* 2007; Barros *et al.* 2009; Stefaniak *et al.* 2012).

Mais amplamente utilizado em filogenia de clados superiores, o gene 18S rDNA tem demonstrado ser de grande utilidade para inferências sobre relações filogenéticas de Metazoa em diferentes escalas evolutivas, uma vez que é facilmente amplificado e não sofre transferência lateral (Zeng *et al.* 2006). Especialmente para os tunicados, o gene apresenta uma região bem conservada de aproximadamente 1000 pares de bases que o torna um marcador mais eficiente para estudos evolutivos de grandes grupos taxonômicos (Zeng *et al.* 2006). Resultados importantes para a compreensão da evolução de Tunicata já foram obtidos em nível de filo (Wada 1998; Swalla *et al.* 2000; Stach & Turbeville 2002, 2005), classe (Wada *et al.* 1992; Govindarajan *et al.* 2011), família (Kurabayashi *et al.* 2003; Pérez-Portela *et al.* 2009; Tatián *et al.* 2011) e gênero (Haydar *et al.* 2010).

O uso de caracteres morfológicos em reconstruções filogenéticas também é uma ferramenta importante no estudo da evolução de um grupo, pois permite a análise da evolução dos próprios caracteres (Moreno & Rocha 2008; Bonnet 2010). Além disso, o conhecimento morfológico possibilita a compreensão lógica dos resultados obtidos em análises moleculares. Dessa forma, apesar de comumente negligenciado em estudos cladísticos de Ascidiacea, tais caracteres são de extrema importância para um conhecimento mais amplo do grupo como um todo e de como ele se diversificou ao longo do tempo, sendo por isso analisados aqui também.

MATERIAL & MÉTODOS

1. Análise morfológica

1.1. Material biológico

Foram dissecados indivíduos de 62 espécies diferentes, pertencentes a sete das dez famílias de Phlebobranchia (Tabela 1). As amostras que estavam em formalina 4% foram previamente lavadas em água e examinadas logo imediatamente; já as que estavam em álcool 70% foram deixadas reidratando em cuba com água durante 24h antes da análise. Espécimes que estavam já há muitos anos em álcool não puderam ser estudados devido à fragilidade do material. As dissecações foram realizadas em microscópio estereoscópio, sendo as estruturas internas evidenciadas com corante Hematoxilina de Harris. No caso de espécies coloniais, foram feitas lâminas permanentes dos zooides e levadas ao microscópio ótico para melhor visualização das estruturas. Ambos os microscópios contavam com um retículo acoplado à ocular, possibilitando a medição das estruturas.

As amostras estudadas encontram-se depositadas nas seguintes instituições (Tabela 1):

ColBIO: Coleção Biológica Prof. Edmundo Nonato, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo

MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

DZUP: Coleção de Ascidiacea da Universidade Federal do Paraná

FMNH: Florida Museum of Natural History (EUA)

NHM: Natural History Museum of London (Reino Unido)

MNHN: Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris, França)

O grupo interno contém 62 espécies de Phlebobranchia, sendo duas de Agneziidae, 27 de Ascidiidae, duas de Cionidae, sete de Corellidae, uma de Diazonidae, duas de Hypobythiidae e 21 de Perophoridae, além de três espécies de Aplousobranchia; já o grupo externo é formado por apenas uma espécie de Stolidobranchia (Tabela 1). Para cada espécie, sempre que possível foram dissecadas três amostras de diferentes

localidades a fim de obter as variações intraespecíficas e assim criar um exemplar hipotético que incluísse tais variações possíveis. Esse exemplar hipotético foi utilizado para as análises filogenéticas. Quando necessário, a matriz foi completada com dados de literatura.

1.2. Análise Filogenética

Para a criação da matriz contendo os dados morfológicos utilizou-se o programa Nexus Data Editor 0.5.0 (NDE) (Page 2001), incluindo um total de 66 terminais (65 de ingroup e um de outgroup) e 87 caracteres (Apêndice 1). A lista de caracteres foi criada a partir de observações prévias em Ascidiidae, Cionidae e Corellidae (Bonnet 2010) e dados obtidos da literatura para as demais famílias, tendo sido ampliada à medida que os espécimes foram sendo estudados e novos caracteres úteis para a filogenia foram encontrados (Apêndice 2). Os caracteres faltantes foram simbolizados com “?” e os inaplicáveis à espécie com “-”.

As análises filogenéticas foram realizadas no programa PAUP 4.0b10 (Swofford 2002), tendo sido feita uma busca heurística (hsearch;), com TBR (*Tri-Bisection-Reconnection*), sem limite de árvores. Todos os caracteres foram considerados não ordenados e a história dos caracteres foi traçada em ACCTRAN (*Accelerated Transformation*). A árvore consenso estrito foi gerada no mesmo programa (contree;) e as transformações dos caracteres analisadas com auxílio do programa Mesquite 3.04 (Maddison & Maddison 2015). O suporte dos ramos foi calculado por Bremer, em TNT, (Goloboff *et al.* 2008) e bootstrap, no próprio PAUP (bootstrap nreps=100 search=heuristic/addseq=random;).

2. Análise molecular

Foram obtidas sequências parciais de DNA dos genes mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI) e nuclear 18S rDNA. Todos os procedimentos de extração e amplificação do material genético foram realizados no Laboratório de Ecologia Animal do Instituto de Ciências do Mar (Universidade Federal do Ceará). Nem sempre foi

possível obter sequências de COI e parcial de 18S para a mesma amostra por dificuldade na amplificação, principalmente no caso do gene mitocondrial.

2.1. Material Biológico

Os espécimes utilizados foram coletados no Brasil (Arquipélago de São Pedro e São Paulo, Atol das Rocas, Fernando de Noronha, Maranhão, Ceará, Paraíba, Espírito Santo, São Paulo) e em ambas as costas do Panamá, no período de 2008 a 2013. De cada um foi retirada uma amostra de tecido destinada especificamente para as análises moleculares (parte do sifão de indivíduos solitários ou parte da colônia) enquanto que o restante era anestesiado e posteriormente fixado em formaldeído 4% para estudos taxonômicos. As sub-amostras de tecido separadas foram estocadas diretamente em etanol 96% e armazenadas em freezer a -20°C. As espécies utilizadas e seus códigos de identificação podem ser observados na Tabela 1.

Para as análises foram incluídas também sequências já depositadas no GenBank, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) tanto de espécies de *Phlebobranchia* (*ingroup*) quanto de *Thaliacea*, *Aplousobranchia* e *Stolidobranchia* – estes três últimos grupos como *outgroups* a fim de testar suas relações com o táxon de interesse. Ainda como grupo externo foram utilizadas sequências de *Cephalochordata*, também obtidas no banco de dados. Os códigos de acesso de cada uma e as respectivas referências encontram-se listados na Tabela 1.

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>).

† Em revisão da espécie, *Ciona intestinalis* foi separada em *C. intestinalis* e *C. robusta* (Brunetti *et al.* 2015). Como os trabalhos aqui mencionados são anteriores a essa revisão, foi deixado o nome que consta nos respectivos trabalhos de onde foram obtidas as sequências.

FAMÍLIA (NÚMERO DE GÊNEROS / ESPÉCIES CONHECIDAS PARA A FAMÍLIA)	ESPÉCIE	PROCEDÊNCIA / REFERÊNCIA	CÓDIGO MORFOLÓGICO	CÓDIGO DE IDENTIFICAÇÃO / NÚMERO DE ACESSO (GenBank)	COI	18S
Phlebobranchia						
Agneziidae (05 / 32)	<i>Agnezia glaciata</i> Michaelsen, 1898 (ESPÉCIE-TIPO)	Argentina	NHM 1960.10.13.52			
	<i>Caenagnesia bocki</i> Ärnäck-Christie-Linde, 1938 (ESPÉCIE-TIPO)	Palmer Archipelago	NHM 1960.10.13.518			
Asciidiidae (05 / 153)	<i>Ascidia archaia</i> Sluiter, 1890	Panamá (Atlântico e Pacífico)	DZUP ASC 58; DZUP ASC 185			
	<i>A. archaia</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 899	X	X
	<i>A. archaia</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 907	X	X
	<i>A. bocatorensis</i> Bonnet & Rocha, 2011	Panamá (Atlântico)	DZUP ASC 144; DZUP ASC 145; DZUP ASC 146			
	<i>A. ceratodes</i> (Huntsman, 1912)	Panamá (Pacífico)	DZUP ASC 51; DZUP ASC 52; DZUP ASC 53; DZUP ASC 54; DZUP ASC 184; DZUP ASC 187			
	<i>A. ceratodes</i> *	Panamá (Pacífico)		TL 884	X	X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>A. ceratodes</i> *	Panamá (Pacífico)		TL 890	X	X
<i>A. collini</i> Bonnet & Rocha, 2011	Panamá (Atlântico)	MZUSP 00014; DZUP ASC 140; DZUP ASC 141; DZUP ASC 139			
<i>A. conchilega</i> Müller, 1776	Suécia	DZUP ASC 172			
<i>A. corallicola</i> Bonnet & Rocha, 2011	Panamá (Atlântico)	MZUSP 00017; MZUSP 00018; DZUP ASC 126; DZUP ASC 128; DZUP ASC 130; DZUP ASC 127; DZUP ASC 129			
<i>A. curvata</i> (Traustedt, 1882)*	Panamá (Atlântico)		TL 718		X
<i>A. curvata</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 898		X
<i>A. curvata</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 905		X
<i>A. interrupta</i> Heller, 1878	Panamá (Atlântico)	DZUP ASC 75; DZUP ASC 70; DZUP ASC 26; DZUP ASC 76; DZUP ASC 69			
<i>A. interrupta</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 721	X	X
<i>A. interrupta</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 846	X	X
<i>A. cf. liberata</i>	Panamá (Pacífico)	DZUP ASC 55; DZUP ASC 56; DZUP ASC 57			
<i>A. mentula</i> Müller, 1776 (ESPÉCIE-TIPO)	Escócia, Espanha	NHM 1898.5.7.283; DZUP ASC 20			

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>A. monnioti</i> Bonnet & Rocha, 2011	Panamá (Atlântico)	MZUSP 00019; MZUSP 00020; DZUP ASC 136; DZUP ASC 137; DZUP ASC 133; DZUP ASC 132; DZUP ASC 135; DZUP ASC 134; DZUP ASC 138			
<i>A. cf. munda</i>	Panamá (Atlântico)	DZUP ASC 158			
<i>A. nordestina</i> Bonnet & Rocha, 2011	Brasil	DZUP ASC 176			
<i>A. obliqua</i> Alder, 1863	Suécia	DZUP ASC 168; DZUP ASC 169; DZUP ASC 170			
<i>A. panamensis</i> Bonnet & Rocha, 2011	Panamá (Atlântico)	MZUSP 00021; DZUP ASC 91; DZUP ASC 32; MZUSP 00023; DZUP ASC 33; DZUP ASC 34; MZUSP 00022; DZUP ASC 90			
<i>A. panamensis</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 845	X	X
<i>A. cf. papillata</i>	Brasil	ColBIO-TUN 224; DZUP ASC 196			
<i>A. paulayi</i> Bonnet & Lotufo, 2015	Polinésia Francesa	FLMNH UF 787; FLMNH UF 788; FLMNH UF 802			
<i>A. sideralis</i> Bonnet & Rocha, 2013*	Panamá (Pacífico)		TL 887	X	X
<i>A. sideralis</i> *	Panamá (Pacífico)		TL 891	X	X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>A. sydneyensis</i> Stimpson, 1855	Brasil	ColBIO-TUN 54-55-6-11-17; ColBIO-TUN 12-093			
<i>A. sydneyensis</i> *	Panamá (Pacífico)		TL 893		X
<i>A. cf. tapuni</i>	Brasil	DZUP ASC 49; DZUP ASC 182; DZUP ASC 186			
<i>A. virginea</i> Müller, 1776	Suécia	DZUP ASC 166			
<i>A. virginea</i>	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309647.1		X
<i>A. viridina</i> Paiva <i>et al.</i> , 2015	Brasil	ColBIO-TUN 519; ColBIO-TUN 472; ColBIO-TUN 485; MZUSP 00119; MZUSP 00116; ColBIO-TUN 1076; ColBIO-TUN 1307			
<i>A. viridina</i> *	Brasil		TL 524	X	X
<i>Ascidia</i> sp. 1	Panamá (Pacífico)	DZUP ASC 193; DZUP ASC 194			
<i>Ascidia</i> sp. 2	Brasil		TL 525		X
<i>Ascidia</i> sp. 3	Brasil		TL 858		X
<i>Ascidiella aspersa</i> (Müller, 1776) (ESPÉCIE-TIPO)	França, Suécia	DZUP ASCD 01; DZUP ASCD 04			
<i>A. aspersa</i>	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309653.1	X	

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>A. aspersa</i>	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309661.1	X
<i>A. aspersa</i>	Stach & Turberville 2002		AY116600.1	X
<i>A. scabra</i> (Müller, 1776)	Suécia	DZUP ASCD 02; DZUP ASCD 03		
<i>A. scabra</i>	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309650.1	X
<i>A. scabra</i>	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309572.1	X
<i>Asciidiella</i> sp.	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244843.1	X
<i>Phallusia fragilis</i> Bonnet & Rocha, 2011	Panamá (Atlântico)	DZUP PHA 17; DZUP PHA 18; DZUP PHA 22; DZUP PHA 20		
<i>Phallusia fumigata</i> (Grube, 1864)	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309548.1	X
<i>Phallusia fumigata</i> (Grube, 1864)	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268454.1	X
<i>Phallusia fumigata</i> (Grube, 1864)	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244844.1	X
<i>P. ingeria</i> Traustedt, 1883	Turón & López-Legentil 2004		AY600976.1	X
<i>P. mammillata</i> (Cuvier, 1815) (ESPÉCIE-TIPO)	França	DZUP PHA 08		
<i>P. mammillata</i>	López-Legentil <i>et al.</i> 2015		KF309607.1	X
<i>P. mammillata</i>	Turón & López-Legentil 2004		AY600980.1	X
<i>P. mammillata</i>	Cameron <i>et al.</i> 2000		AF236803.2	X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>P. nigra</i> Savigny, 1816	Brasil	ColBIO-TUN 24-57	
<i>P. nigra</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 897 X
<i>P. nigra</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 903 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KJ875973.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KJ875972.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KJ875971.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268459.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268458.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268457.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268456.1 X
<i>P. nigra</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268455.1 X
<i>P. nigra</i>	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244845.1 X
<i>P. philippinensis</i> Millar, 1975	Taiwan, Japão, Singapura, EUA	DZUP PHA 30; DZUP PHA 31; DZUP PHA 32; DZUP PHA 39	
<i>P. philippinensis</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268462.1 X
<i>P. philippinensis</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268461.1 X
<i>P. philippinensis</i>	Vandepas <i>et al.</i> 2015		KF268460.1 X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

Cionidae (03 / 18)	† <i>Ciona intestinalis</i> (Linnaeus, 1767) (ESPÉCIE-TIPO)	Satou <i>et al.</i> 2002		AK116803.1	X
	† <i>Ciona intestinalis</i>	Wada 1998		AB013017.1	X
	<i>Ciona robusta</i> Hoshino & Tokioka, 1967	Brasil	DZUP CIO 04		
	<i>C. cf. savignyi</i>	Canadá, França	DZUP CIO 03; DZUP CIO 05		
	<i>C. savignyi</i>	Yokobori <i>et al.</i> 2003		AB079784.1	X
Corellidae (11 / 43)	<i>Abyssascidia wyvilli</i> Herdman, 1880 (ESPÉCIE-TIPO)	Austrália		NHM 1887.2.4.136	
	<i>Chelyosoma macleayanum</i> Broderip & Sowerby, 1830 (ESPÉCIE-TIPO)	Noruega		NHM 1965.8.19.2-8	
	<i>Chelyosoma siboja</i> Oka, 1906	Kurabayashi <i>et al.</i> 2003		AB104872.1	X
	<i>C. siboja</i>	Swalla <i>et al.</i> 2000		AF165821.2	X
	<i>Corella eumyota</i> Traustedt, 1882	Ilhas Malvinas		NHM 1910.6.17.16	
	<i>C. eumyota</i>	Dupont <i>et al.</i> (unpublished)		EU140818.1	X
	<i>C. eumyota</i>	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244846.1	X
	<i>C. inflata</i> Huntsman, 1912	Zeng <i>et al.</i> 2006		AY903930.1	X
	<i>C. minuta</i> Traustedt, 1882	Panamá (Atlântico)		DZUP COR 04	
<i>C. minuta</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 900	X	

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

	<i>C. minuta</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 941	X
	<i>C. parallelogramma</i> (Müller, 1776) (ESPÉCIE-TIPO)	Suécia	DZUP COR 01		
	<i>Corynascidia suhmi</i> Herdman, 1882 (ESPÉCIE-TIPO)	Oceano Índico	NHM 1887.2.4.129-30		
	<i>Rhodosoma turcicum</i> (Savigny, 1816) (ESPÉCIE-TIPO)	Panamá (Atlântico), Brasil, Mariana Islands	DZUP RHO 01; DZUP RHO 03; DZUP RHO 04; DZUP RHO 05; DZUP RHO 07; UF 845; AC 01; CIDRO 153-297		
	<i>R. turcicum</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 895	X
Diazoniidae (05 / 38)	<i>Rhopalaea abdominalis</i> (Sluiter, 1898)	Panamá (Atlântico)	DZUP RHOP 07; DZUP RHOP 11		
	<i>R. abdominalis</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 906	X
	<i>R. birkelandi</i> Tokioka, 1971*	Panamá (Pacífico)		TL 885	X
	<i>R. neapolitana</i> Philippi, 1843 (ESPÉCIE-TIPO)	Turón & López-Legentil 2004		AY600983.1	X
Hypobythiidae (01 / 02)	<i>Hypobythius calycodes</i> Moseley, 1877 (ESPÉCIE-TIPO)	Oceano Pacífico	NHM 1887.2.4.180		
	<i>H. moseleyi</i> Herdman, 1882	Argentina	NHM 1887.2.4.181		
Octacnemidae (10 / 27)	<i>Megalodicopia hians</i> Oka, 1918 (ESPÉCIE-TIPO)	Kurabayashi <i>et al.</i> 2003		AB075543.1	X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

Perophoridae (02 / 51)	<i>Ecteinascidia conklini</i> Berrill, 1932	Bermudas, Antilhas Francesas	NHM 1932.2.9.2; MNHN P2 ECT 47; MNHN P2 47		
	<i>E. faaopa</i> Monniot & Monniot, 1987	Polinésia Francesa	MNHN P2 ECT 37		
	<i>E. herdmani</i> (Lahille, 1887)	Açores	MNHN P2 76; MNHN P2 78; MNHN P2 ECT 04		
	<i>E. herdmani</i>	Turón & López-Legentil, 2004		AY600968.1	X
	<i>E. herdmani</i>	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244847.1	X
	<i>E. longiducta</i> Monniot, 1978	Ilê de Saint-Paul	MNHN P2 114; MNHN P2 126; MNHN P2 ECT 08		
	<i>E. minuta</i> Berrill, 1932	Guadalupe, Panamá (Atlântico)	DZUP ECT (11); MNHN P2 ECT 28; MNHN P2 161		
	<i>E. minuta</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 902	X
	<i>E. sluiteri</i> Herdman, 1906	Sri Lanka	NHM 1907.8.30.2		
	<i>E. cf. styeloides</i> A	Porto Rico, Guadalupe, Panamá (Atlântico), Brasil	ColBIO-TUN 36; ColBIO-TUN 37; DZUP ECT 09; DZUP ECT (157); MNHN P2 169; MNHN P2 170; MNHN P2 172		

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>E. cf. styeloides</i> B	Guadalupe, Brasil	ColBIO-TUN CE-19; ColBIO-TUN CE-118; ColBIO-TUN 165; ColBIO-TUN 271; MNHN P2 ECT 27; MNHN P2 174			
<i>E. styeloides</i> (Traustedt, 1882)*	Brasil		TL 283		X
<i>E. styeloides</i> *	Brasil		TL 847		X
<i>E. styeloides</i> *	Brasil		TL 860	X	
<i>E. styeloides</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 842		X
<i>E. styeloides</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 883		X
<i>E. thurstoni</i> Herdman, 1890	Índia	NHM 1956.10.17.5			
<i>E. turbinata</i> Herdman, 1880 (ESPÉCIE-TIPO)	Bermudas, Cuba, Antilhas Francesas, Panamá (Atlântico)	NHM 1887.2.4.188-200; DZUP ECT 10; DZUP ECT 11; UF 1379			
<i>E. turbinata</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 841	X	X
<i>E. turbinata</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 896	X	X
<i>E. turbinata</i> *	Panamá (Atlântico)		TL 904	X	X
<i>E. turbinata</i>	López-Legentil & Turón 2007		EF643374.1	X	
<i>E. turbinata</i>	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244848.1		X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	Brasil	ColBIO-TUN 433; ColBIO-TUN 01; DZUP ECT 12; DZUP ECT 13; DZUP ECT 15; DZUP ECT 16; UFPB TUN 200			
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1*	Brasil		TL 433	X	X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1*	Brasil		TL 878		X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1*	Brasil		TL 901	X	X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1*	Brasil		TL 909	X	X
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	Brasil	ColBIO-TUN 586			
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2*	Brasil		TL 586		X
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	Brasil	ColBIO-TUN 62B			
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	Brasil	122; DZUP ECT 14			
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4*	Brasil		TL 943		X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	Panamá (Atlântico)	DZUP ECT (39); DZUP ECT (18)			
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	Brasil	15, 22, 35, 37			
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	Brasil		TL 408		X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	Brasil		TL 403		X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	Brasil		TL 385		X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	Brasil		TL 383	X
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	Brasil		TL 246	X
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	Bermudas	MNHN P2 49; MNHN P2 50; MNHN P2 103; MNHN P2 104; MNHN P2 106		
<i>Perophora japonica</i> Oka, 1927	Yokobori <i>et al.</i> (unpublished)		AB499607.1	X
<i>P. listeri</i> Wiegman, 1835 (ESPÉCIE-TIPO)	Inglaterra	NHM 1898.5.7.306		
<i>P. multiclathrata</i> (Sluiter, 1904)	Brasil	DZUP PER 1.2; DZUP PEROPH 1.4		
<i>P. sagamiensis</i> Tokioka, 1953	Kurabayashi <i>et al.</i> 2003		AB104873.1	X
<i>P. viridis</i> Verrill, 1871	Panamá (Atlântico), Brasil	DZUP PERO (48); DZUP PERO 24; DZUP PEROPH 07		
<i>P. viridis</i>	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244849.1	X
<i>Perophora</i> sp.	Brasil	DZUP PERO 16; DZUP PEROPH 13; DZUP PERO 18; DZUP PEROPH 11		
<i>Perophora</i> sp. 1*	Brasil		TL 270	X
<i>Perophora</i> sp. 2*	Brasil		TL 121	X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

	<i>Perophora</i> sp. 3*	Brasil		TL 868	X
Aplousobranchia					
Clavelinidae (04 / 71)	<i>Clavelina lepadiformis</i> (Müller, 1776)	Turón & López-Legentil 2004		AY603104.1	X
	<i>C. meridionalis</i> (Herdman, 1891)	Pérez-Portela & Turón 2008		AM706470.1	X
	<i>C. meridionalis</i>	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009		FM244840.1	X
	<i>C. oblonga</i> Herdman, 1880	Brasil	DZUP POCY 1.43; DZUP POCY 1.44; DZUP CLA 03		
	<i>C. oblonga</i>	Turón & López-Legentil 2004		AY603106.1	X
	<i>Clavelina picta</i> (Verrill, 1900)	Cuba	DZUP CLA 44; DZUP CLA 44 / POCY 1.51		
	<i>Pycnoclavella aurilucens</i> Garstang, 1891 (ESPÉCIE-TIPO)	Pérez-Portela <i>et al.</i> 2007		AM403692.1	X
	<i>P. communis</i> Pérez-Portela, Duran & Turón, 2007	Pérez-Portela & Turón 2008		AM746368.1	X
Holozoidae (09 / 112)	<i>Distaplia dubia</i> (Oka, 1927)	Yokobori <i>et al.</i> 2006		AB211068.1	X
	<i>Distaplia</i> sp.*	Brasil		TL 02	X
Polyclinidae (10 / 439)	<i>Aplidium conicum</i> (Olivi, 1792)	Turón & López-Legentil 2004		AY600969.1	X

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

	<i>A. conicum</i>	Mohamed Hussain <i>et al.</i> (unpublished)	KJ632949.1	X
	<i>A. elegans</i> (Giard, 1872)	Turón & López-Legentil 2004	AY600971.1	X
	<i>A. fuscum</i> Herdman, 1886	Turón & López-Legentil 2004	AY600975.1	X
	<i>A. lobatum</i> Savigny, 1816	Brasil	DZUP APL 04; DZUP POCL 28; DZUP POCL 28 1.72	
	<i>A. pliciferum</i> (Redikorzev, 1927)	Yokobori <i>et al.</i> 2006	AB211067.1	X
	<i>Synoicum</i> sp.*	Brasil	TL 665	X
Stolidobranchia				
Molgulidae (15 / 231)	<i>Molgula manhattensis</i> (De Kay, 1843)	Kanamori & Kawasaki 2014	AB922018.1	X
	<i>M. manhattensis</i>	Hadfield <i>et al.</i> 1995	L12426.2	X
	<i>M. occidentalis</i> Traustedt, 1883	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009	FM244850.1	X
Pyuridae (17 / 247)	<i>Halocynthia papillosa</i> (Linnaeus, 1776)	Turón & López-Legentil 2004	AY600981.1	X
	<i>H. pyriformis</i> (Rathke, 1806)	Pérez-Portela <i>et al.</i> 2009	FJ528610.1	X
	<i>H. roretzi</i> (Drasche, 1884)	Yokobori <i>et al.</i> 1999	AB024528.1	X
Styelidae (38 / 545)	<i>Styela clava</i> Herdman, 1881	Pérez-Portela <i>et al.</i> 2009	FJ528635.1	X
	<i>Styela plicata</i> (Lesueur, 1823)	Brasil	DZUP STY 65	

Tabela 1. Lista de espécies utilizadas durante o estudo, tanto para análises morfológicas quanto moleculares. Espécies com * indicam aquelas que foram sequenciadas no presente trabalho. As demais sequências moleculares foram obtidas a partir do GenBank. Número de gêneros e espécies reconhecidas para cada família obtido a partir de dados do WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>). (cont.)

	<i>S. plicata</i>	Pineda <i>et al.</i> 2011	HQ916445.1	X	
	<i>S. plicata</i>	Hadfield <i>et al.</i> 1995	L12444.2		X
Thaliacea					
Salpidae (13 / 45)	<i>Salpa thompsoni</i> Foxton, 1961	Tsagkogeorga <i>et al.</i> 2009	FM244867.1		X
	<i>Thalia democratica</i> (Forskål, 1775)	Zhang <i>et al.</i> (unpublished)	KF977358.1	X	
	<i>T. democratica</i>	Zhang <i>et al.</i> (unpublished)	KF977357.1	X	
	<i>T. democratica</i>	Wada & Satoh 1994	D14366.1		X
Cephalochordata					
Branchiostomidae (03 / 30)	<i>Branchiostoma floridae</i> Hubbs, 1922	Boore <i>et al.</i> 1999	NC_000834.1	X	
	<i>B. floridae</i>	Stock & Whitt, 1992	M97571.1		X

2.2. Extração de DNA

Para a extração do material genético, sempre que possível foi utilizado apenas o tecido muscular, isolado da túnica e do epitélio, a fim de evitar contaminações por microorganismos (algas e bactérias). Entretanto, em alguns casos, tal procedimento não foi possível devido à aderência da túnica à parede do corpo (Perophoridae) e/ou pouca quantidade de musculatura presente (Perophoridae e gênero *Corella*).

Para a extração do DNA foram utilizados os kits DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) e QIAmp DNA Micro Kit (Qiagen). Em ambos os casos seguiram-se os procedimentos sugeridos pelo fabricante, com incubação por 12 horas com proteinase K em banho seco a 56°C. A concentração e a qualidade do DNA obtido foram mensuradas através do espectrofotômetro de microvolume NanoDrop 2000 (Thermo Scientific).

2.3. Amplificação e Sequenciamento

As reações de amplificação foram feitas com o uso do iniciador universal LCO-HCO (COI) (Folmer *et al.* 1994) e 18S1-18S4 (parcial de 18S) (Tsagkogeorga *et al.* 2009). A descrição de cada um deles pode ser observada na Tabela 2. O par de iniciadores LCO-HCO pode amplificar um fragmento de até 710 pares de bases (Folmer *et al.* 1994); já os iniciadores 18S1-18S4 podem amplificar uma região com aproximadamente 1000 pares de bases (Tsagkogeorga *et al.* 2009).

Tabela 2. Especificações dos iniciadores utilizados

Gene	Iniciadores	Sequência	Referência
COI	LCO1490 (F)	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G	Folmer <i>et al.</i> , 1994
	HCO2198 (R)	TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA	
18S (18S1-18S4)	18S1 (F)	CCT GGT TGA TCC TGC CAG	Tsagkogeorga <i>et al.</i> , 2009
	18S4 (R)	GAT TAA AGA AAA CAT TCT TGG C	

Para as amplificações foram utilizadas alíquotas com até 100ng de DNA. As PCRs (*Polymerase Chain Reaction*) foram feitas utilizando os kits GoTaq Green Master Mix (ProMega), PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads (GE Healthcare) e AmpliTaq Gold 360 Master Mix (Applied Biosystems), seguindo os protocolos específicos (Apêndice

3). Foi utilizado 1,0 μ L de cada primer, em concentração de 25pmol. Para completar o volume total de 25,0 μ L de reação, adicionou-se água ultrapura. Todas as reações de amplificação foram realizadas em termociclador C1000 Thermal Cycler (Bio-Rad). Os produtos resultantes foram corados com SYBR Safe DNA Gel Stain (Life Technologies) 100X e separados em gel de agarose a 2% com tampão Tris-borato (TBE). A corrida de eletroforese ocorreu a 80V e 40mA, durante 60 minutos, em solução de TBE 0,5X. Cada gel foi fotodocumentado digitalmente através do Molecular Imager Gel DocTM XR+ (Bio-Rad), com auxílio do programa ImageLabTM 2.0 (Bio-Rad). A mensuração do DNA presente em cada banda foi feita através do mesmo programa, tendo como base as bandas obtidas com o marcador de 100 bp DNA (New England BioLabs).

Os produtos de PCR foram purificados com ExoSAP-IT (Affymetrix), seguindo a metodologia especificada pelo fabricante (proporção de 2 μ L de ExoSAP-IT para cada 5 μ L de produto de PCR). As reações de sequenciamento foram realizadas pela Macrogen Inc., na Coreia, utilizando o método Sanger.

2.4. Análise Filogenética

As sequências geradas foram visualizadas e editadas manualmente com uso do software Geneious R7 (versão 7.1.7). O alinhamento destas e das sequências obtidas no GenBank foi realizado no programa MAFFT 7 (Katoh & Standley 2013), usando o algoritmo L-INS-i. Tanto para os dados de COI quanto de 18S foi realizado o teste de Índice de Saturação de Substituição com o auxílio do programa DAMBE (Xia *et al.* 2003) a fim de verificar se há perda de informação filogenética nas sequências devido a uma alta taxa de mutação em algum ponto.

A matriz final para o gene COI consistiu de 50 sequências com 445 pares de bases, sendo 30 espécies do *ingroup* (22 espécies de Ascidiidae, Cionidae, Corellidae, Diazonidae e Perophoridae (Phlebobranchia), uma de Thaliacea e sete de Aplousobranchia) e seis do *outgroup* (cinco de Stolidobranchia e uma de Cephalochordata) (Tabela 2). Já a matriz do gene 18S foi composta por 83 sequências com 955 pares de bases, sendo 37 espécies de Phlebobranchia (Ascidiidae, Cionidae, Corellidae, Diazonidae, Octacnemidae e Perophoridae), duas de Thaliacea e cinco de

Aplousobranchia, e quatro de *outgroup* (três de Stolidobranchia e uma de Cephalochordata) (Tabela 2). Foi realizada ainda a análise conjunta dos dados (COI + 18S), tendo sido utilizadas 29 sequências de 1400 pares de bases cada, sendo 14 de espécies de Phlebobranchia (Ascidiidae, Cionidae, Corellidae, Diazonidae e Perophoridae), uma de Thaliacea, duas de Aplousobranchia e três de *outgroup* (duas de Stolidobranchia e uma de Cephalochordata) (Tabela 2). Apesar de existirem mais sequências de Phlebobranchia depositadas no GenBank (tais como *Ciona savignyi*, *Ascidia zara*, *Ascidiella aspersa* e *Corella japonica*, para 18S; e *Megalodicopia hians*, *Chelyosoma siboja*, *Perophora sagamiensis* e *Ascidia ahodori*, para COI), as mesmas não puderam ser utilizadas neste trabalho pois apenas parte delas alinhava com as demais sequências, reduzindo consideravelmente o tamanho da matriz em relação ao número de bases analisado. Apesar das matrizes menores, foram rodadas análises que incluíam tais sequências nas matrizes de COI e 18S a fim de avaliar se havia interferência com a redução no número de pares de bases. Os resultados obtidos foram topologias incoerentes, indicando a falta de dados (pares de bases) nas análises, e por isso não serão aqui apresentados.

Para cada conjunto de dados foi gerado um cladograma a fim de comparar as topologias obtidas de diferentes fontes de informação, além de realizar a análise conjunta dos dados como forma de corroborar ou não os resultados individuais. Em cada uma das situações foi escolhido o melhor modelo de evolução nucleotídica utilizando o *Akaike Information Criterion* (AIC) através do software JModelTest 2.1.4 (Darriba *et al.* 2012). O modelo encontrado foi o GTR+G para todos os conjuntos de dados, com valores de gamma de 0.2660 para COI, 0.3660 para 18S e 0.2640 para os dados concatenados. No caso do gene mitocondrial, foi feita ainda a transformação das sequências para aminoácidos através do Geneious R7, não tendo sido encontrados “stop codons”. Para cada matriz (COI, 18S e dados concatenados) foi criada uma árvore de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI), com o auxílio dos programas PhyML (Guindon *et al.* 2010) e MrBayes 3.2.2 (Ronquist *et al.* 2012), respectivamente. O suporte dos ramos da análise de ML foi feito a partir de 1000 réplicas de *bootstrap*; já o de BI foi calculado por probabilidade posterior utilizando Markov Chain Monte Carlo (MCMC), com cinco milhões de gerações e descarte de 25% das árvores geradas na fase *burn-in*. Todos os programas citados para a construção dos cladogramas encontram-se implementados no próprio Geneious R7, com exceção

do JModelTest 2.1.4. Os resultados obtidos foram visualizados e editados no programa FigTree 1.4.2 (Rambaut 2014).

RESULTADOS

1. Análise morfológica

A análise dos caracteres morfológicos resultou em seis árvores igualmente parcimoniosas, com comprimento de 647 passos, Índice de Consistência (CI) = 0,2403 e Índice de Retenção (RI) = 0,6204. Apenas a árvore de consenso estrito gerada ao final será apresentada aqui. Apesar de não ter sido encontrado suporte de Bremer para nenhum ramo, alguns clados tiveram valores significativos de *bootstrap* (a partir de 50%), sendo estes representados no cladograma (Figura 1). O mapeamento de caracteres revelou um grande número de homoplasias (principalmente casos de reversões), com poucos caracteres estáveis o suficiente para sustentarem clados. Apenas aqueles que representaram sinapomorfias para algum grupo serão apresentados (Figura 2).

De acordo com a filogenia obtida, Phlebobranchia foi resgatado como um táxon parafilético que inclui Aplousobranchia, porém sem suporte estatístico significativo (Figura 1), sendo sustentado somente por dois caracteres: lâmina dorsal subdividida em linguetas (50) e testículo recobrando o tubo digestório (86) (Figura 2).

A análise propõe que Cionidae é grupo-irmão de todos os demais Phlebobranchia, porém essa posição de Cionidae é incerta, pois não possui suporte estatístico (Figura 1). As espécies dessa família formam um clado (suporte de 65%) cujas sinapomorfias são a túnica gelatinosa (7), as papilas faríngeas primárias projetando-se no lúmen da faringe (60) e as gônadas do lado esquerdo do corpo (80) (Figura 2), entretanto os dois últimos caracteres são homoplásicos, sendo encontrados também em Ascidiidae (60 e 80), Perophoridae e Agneziidae (apenas 80) (Figura 2). Os demais flebobrânquios formam um clado (76% de *bootstrap*, Figura 1) suportado pela presença de papilas primárias sob os vasos longitudinais da faringe (60) e as gônadas do lado direito do corpo (80) (Figura 2). Este clado encontra-se separado em dois ramos: um contendo [(Perophoridae + (*Corynascidia suhmi* + *Abyssascidia wyvilli*)) + ((Agneziidae + *Corella parallellogramma*) + *Corella minuta*)] + (Diazonidae + Hypobythiidae)] e outro formado por [(Ascidiidae + *Rhodosoma turcicum*) + (*Chelyosoma macleayanum* + *Corella eumyota*)] (Figura 1). O primeiro destes ramos tem como sinapomorfias a distribuição incompleta das fibras musculares oblíquas ou perpendiculares ao longo da margem dorsal do lado direito do corpo (26) e a alça

intestinal secundária aberta ou ausente (73); já a única sinapomorfia do segundo ramo é o ovário com formato lobado ramificado ou lobado (81) (Figura 2).

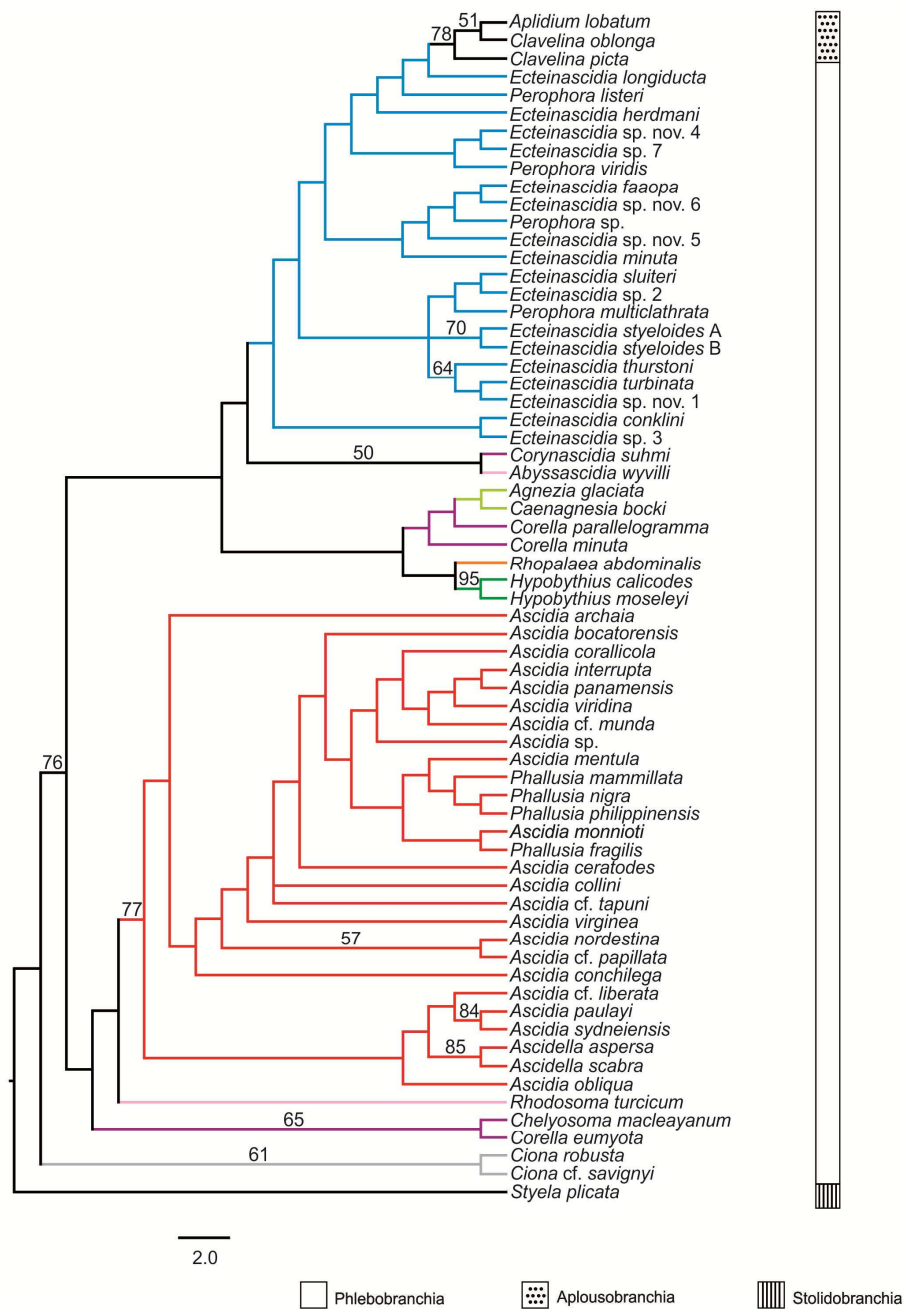


Figura 1. Filogenia morfológica de Phlebobranchia baseada em 87 caracteres de 66 espécies (62 de *ingroup* e quatro de *outgroup*). Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>50). Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Agneziidae (em verde claro), Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (Corellinae em roxo; Rhodosomatinae em lilás), Diazonidae (em laranja), Hypobythiidae (em verde escuro), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.

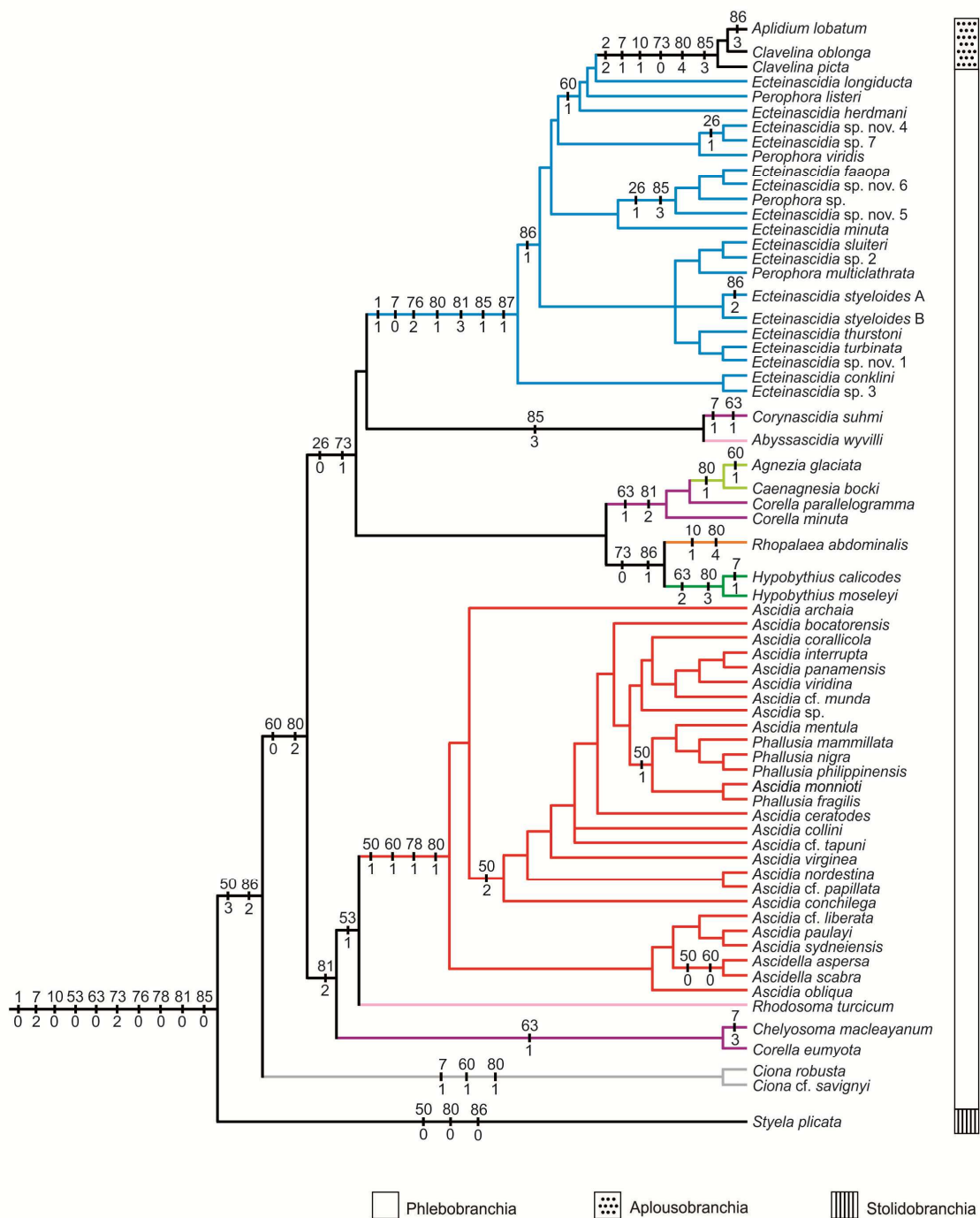


Figura 2. Filogenia morfológica de Phlebobranchia baseada em 87 caracteres de 66 espécies (62 de *ingroup* e quatro de *outgroup*). Sinapomorfias dos clados. Comprimento dos ramos alterados para a inserção dos caracteres. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Agneziidae (em verde claro), Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (Corellinae em roxo; Rhodosomatinae em lilás), Diazonidae (em laranja), Hypobythiidae (em verde escuro), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.

Analisando individualmente o clado [(Perophoridae + (*Corynascidia suhmi* + *Abyssascidia wyvilli*)) + ((Agneziidae + *Corella paralellogramma*) + *Corella minuta*)) + (Diazonidae + Hypobythiidae)], pode-se perceber que os dados morfológicos indicam a parafilía de Phlebobranchia ao incluir Aplousobranchia dentro de Perophoridae (único grupo de Phlebobranchia avaliado com representantes coloniais), porém não foi encontrado suporte de *bootstrap* para o ramo (Figura 1). Essa relação se deve ao fato de ambos os grupos compartilharem o hábito de vida colonial (1), a presença de constrições no intestino (76), o ovário formado apenas pelo agrupamento de ovócitos (81) e a incubação de larvas na cavidade atrial do zooide (87) (Figura 2). Aplousobranchia forma um clado (suporte de 78%) que se distingue de Perophoridae devido ao aspecto da colônia incrustante ou pedunculada (2), a túnica gelatinosa ou mesmo cartilaginosa (7), o corpo dos zooides divididos em duas ou três regiões (10), a alça intestinal secundária ausente (73), as gônadas posteriores à faringe (80) e o testículo formando uma massa compacta (85) (Figura 2). Dentre os peroforídeos, seus dois únicos gêneros (*Ecteinascidia* e *Perophora*) não foram confirmados uma vez que as espécies de ambos misturaram-se em clados distintos, mas sem suporte para que seja possível avaliar de fato a monofília dos dois gêneros (Figura 1).

O clado formado por [((Agneziidae + *Corella paralellogramma*) + *Corella minuta*)) + (Diazonidae + Hypobythiidae)] e seus ramos internos não possuem suporte estatístico e nem de caracteres (Figuras 1 e 2), mas algumas considerações devem ser feitas sobre os grupos. Agneziidae e Hypobythiidae são apresentados como táxons válidos, sendo o último o único clado do ramo com suporte (95%) (Figura 1). Agneziidae possui como única sinapomorfia as gônadas do lado esquerdo do corpo (80), enquanto que Hypobythiidae é sustentado pelas fendas faríngeas circulares (63) e as gônadas na região dorsal do corpo (80) (Figura 2). Neste estudo, Diazonidae só pode ser representado por uma única espécie, o que impossibilita inferir sobre a validade da família. Suas sinapomorfias são os zooides divididos em tórax e abdome (10) e as gônadas posteriores à faringe (80), características também encontradas em Aplousobranchia (Figura 2).

Já Corellidae não parece ser grupo válido, pois se apresenta completamente dividido: duas espécies de *Corella* encontram-se relacionadas a Agneziidae (presença de fendas faríngeas em espiral (63) e ovário ramificado (81)); *Corynascidia suhmi* e *Abyssascidia wyvilli* formam um clado (50% de *bootstrap*; presença de uma compacta

massa testicular (85)) que é irmão de Perophoridae; e *R. turcicum* está junto a Ascidiidae (presença de lâmina dorsal estendendo-se além da abertura do esfago (53)), tendo o clado (*C. macleayanum* + *C. eumyota*) (65% de *bootstrap*; presença de fendas da faringe em espiral) como grupo-irmão (presença de ovário ramificado (81)) (Figuras 1 e 2). As subfamílias propostas para Corellidae tampouco foram resgatadas nesta análise, uma vez que representantes de Corellinae e Rhodosomatinae encontram-se mesclados (Figura 1).

A última família avaliada foi Ascidiidae e sua validade como táxon foi corroborada (suporte de 77%) (Figura 1). As sinapomorfias que sustentam o grupo são a lâmina dorsal serrilhada (50), as papilas primárias expostas ao lúmen da faringe (60), a presença de vesículas renais (78) e as gônadas do lado esquerdo do corpo (80) (Figura 2). Assim como em Perophoridae, os gêneros de Ascidiidae não foram resgatados durante a análise: dentre *Ascidia*, *Phallusia* e *Ascidiella* apenas esta última formou um clado (85% de *bootstrap*, presença de lâmina dorsal lisa (50) e papilas primárias faríngeas sob os vasos longitudinais (60)), porém encontra-se dentro de *Ascidia* – assim como todos os representantes de *Phallusia* (Figuras 1 e 2).

2. Análises Moleculares

2.1 Testes de Saturação

Os testes de saturação por substituição apresentaram valores de Índice de Saturação de Substituição (Iss) significativamente menores que os Índices Críticos de Saturação para árvores assimétricas (Iss.cAsym), como as obtidas neste estudo (Tabela 4). Isso significa que tanto nas sequências de COI quanto nas de 18S as taxas de substituição não interferiram no sinal filogenético das mesmas. Portanto ambos os conjuntos de dados podem ser utilizados para o resgate da história evolutiva dos táxons estudados.

Tabela 3. Teste de Substituição de Saturação (Xia *et al.* 2003). Análise realizada para todos os sítios das seqüências das matrizes de COI e 18S rDNA. Em ambos os casos assumiu-se uma topologia assimétrica.

COI			18S		
NumOTU	Iss	Iss.cAsym	NumOTU	Iss	Iss.cAsym
4	0.466	0.759	4	0.396	0.787
8	0.462	0.635	8	0.432	0.679
16	0.470	0.501	16	0.502	0.569
32	0.482	0.369	32	0.579	0.436

2.2. Gene COI

Tanto as análises de Máxima Verossimilhança quanto de Inferência Bayesiana resultaram em topologias congruentes e, portanto, será apresentada apenas uma árvore, com ambos os suportes obtidos (valores acima de 75% para *bootstrap* e 0.9 para probabilidade posterior) (Figura 3).

O clado formado por (Phlebobranchia + Aplousobranchia) apresenta valor alto de suporte em BI (0.99), porém não de *bootstrap* em ML (40%, valor não apresentado) (Figura 3). Em ambas as análises o grupo foi dividido em três ramos: o primeiro formado por ((Aplousobranchia + Cionidae) + Perophoridae); o segundo por Ascidiidae; e o terceiro por Corellidae (Figura 3). Dentre os três, apenas Ascidiidae possui suporte ótimo pela análise de BI (0.91), ainda que não de ML (71%, valor não representado). Devido ao fato de Corellidae só poder ter sido representado por uma única espécie, não foi possível inferir a validade da família nesta análise. Sua posição filogenética tampouco é clara, não tendo sido encontrada relação com nenhuma outra família amostrada.

Apesar do ramo formado por ((Aplousobranchia + Cionidae) + Perophoridae), que indicaria a parafilia de Phlebobranchia, não ter suporte estatístico (13% de *bootstrap* e 0.52 de probabilidade posterior, valores não apresentados), seus desdobramentos internos apresentam resultados interessantes. A monofilia de Diazonidae não pôde ser corroborada, porém sua posição dentro de Aplousobranchia (0.99 de probabilidade posterior) a exclui do grupo tradicionalmente conhecido como

Phlebobranchia (Figura 3). A relação (Cionidae + Aplousobranchia) não foi suportada em nenhuma das análises, porém o fato de ter sido resgatada em ambas é interessante (Figura 3). Perophoridae é composto por apenas dois gêneros (*Ecteinascidia* e *Perophora*), porém só pôde ser representado por espécies de *Ecteinascidia*. Nenhuma análise suportou *Ecteinascidia* (0.86 de probabilidade posterior e *bootstrap* de 40%, valores não apresentado).

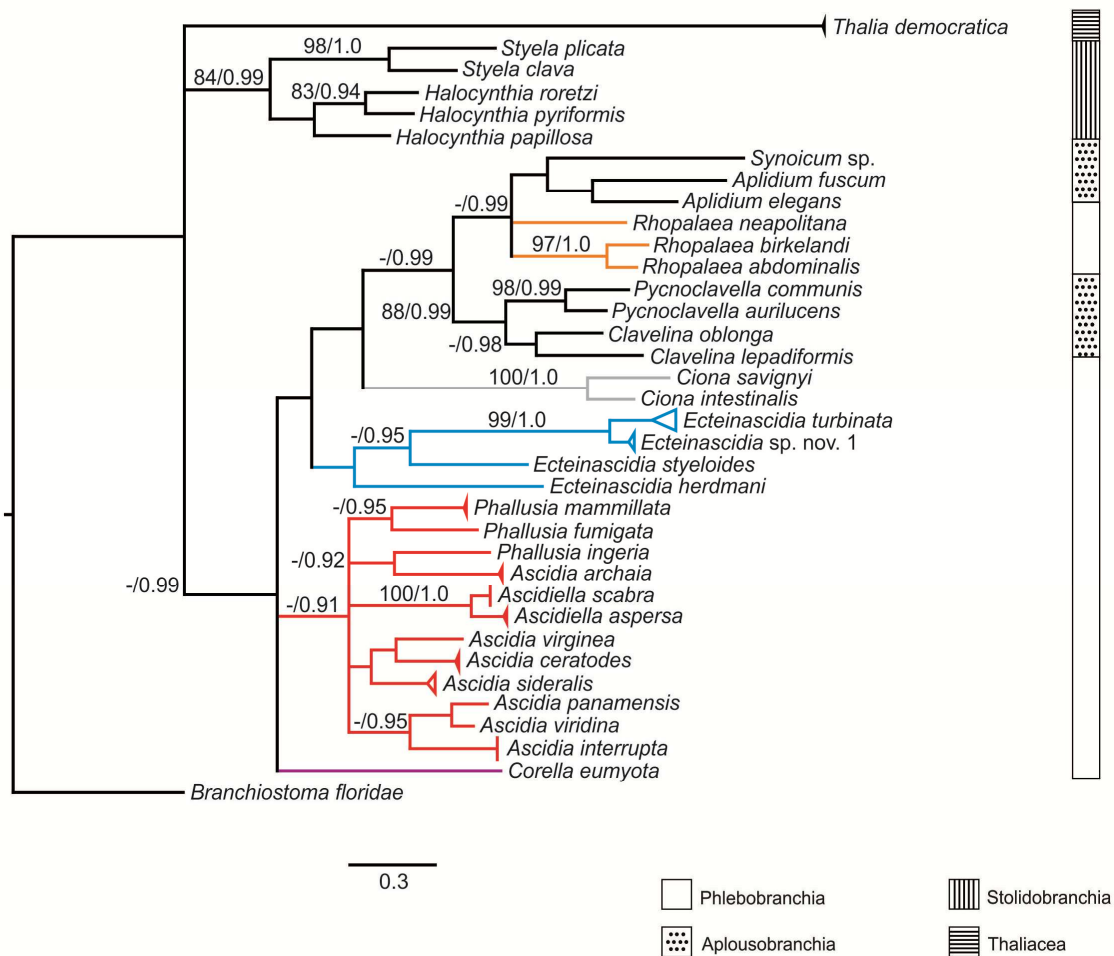


Figura 3. Filogenia de Phlebobranchia baseada em sequências de COI de 36 espécies, com 445pb cada. Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>75%) (ML) e probabilidade posterior (>0.9) (BI), respectivamente. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (em roxo), Diazonidae (em laranja), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.

2.3. Gene 18S rDNA

Assim como para COI, devido à congruência entre as topologias, apenas uma árvore será apresentada, com os devidos valores de *bootstrap* e probabilidade posterior (acima de 75% e 0.9, respectivamente).

Ao contrário do obtido com o gene mitocondrial, os cladogramas gerados tem pouca resolução, com muitas politomias. Essa ausência de definição é observada principalmente entre sequências de mesma espécie, como nos casos de *Phallusia nigra*, *Ascidia ceratodes*, *Ecteinascidia turbinata*, *E. styeloides*, *Ecteinascidia* sp. nov. 1 e *Perophora* sp. 1 (Figura 4). Apesar de que o gene 18S é mais comumente utilizado em nível de família ou acima, o mesmo possui regiões com alta variabilidade e por isso não se justifica essa baixa resolução.

Diferentemente do encontrado nos cladogramas de COI e caracteres morfológicos, as análises de 18S separam Ascidiacea em três principais grupos: (Aplousobranchia + (Stolidobranchia + Phlebobranchia)), sendo que Cionidae foi agrupada junto aos Stolidobranchia. Entretanto, não foi encontrado suporte para tal divisão, mantendo as relações entre as ordens indefinidas (Figura 4). Pela mesma razão, a posição de Cionidae também é contestável, bem como a monofilia de Phlebobranchia – uma vez que apenas os grupos tradicionalmente conhecidos como Aplousobranchia e Stolidobranchia foram sustentados (0.97 de probabilidade posterior para o primeiro e 100 de *bootstrap* e 1.0 de probabilidade posterior para o segundo).

Um resultado interessante gerado pelo gene nuclear é a presença de *Rhodosoma turcicum* (Corellidae) junto a *Ecteinascidia turbinata* e *Ecteinascidia* sp. nov. 1 (Perophoridae) e não com os demais representantes da família (*bootstrap* de 98% e 0.99 de probabilidade posterior) (Figura 4), separando as subfamílias Rhodosomatinae e Corellinae. Além disso, a relação de Octacnecmidae e Corellidae (Corellinae) foi resgatada, com alto suporte em BI (1.0) (*bootstrap* de 74%, valor não apresentado), sendo sugerido que Octacnecmidae faz parte de Corellinae (0.94 de probabilidade posterior) (Figura 4).

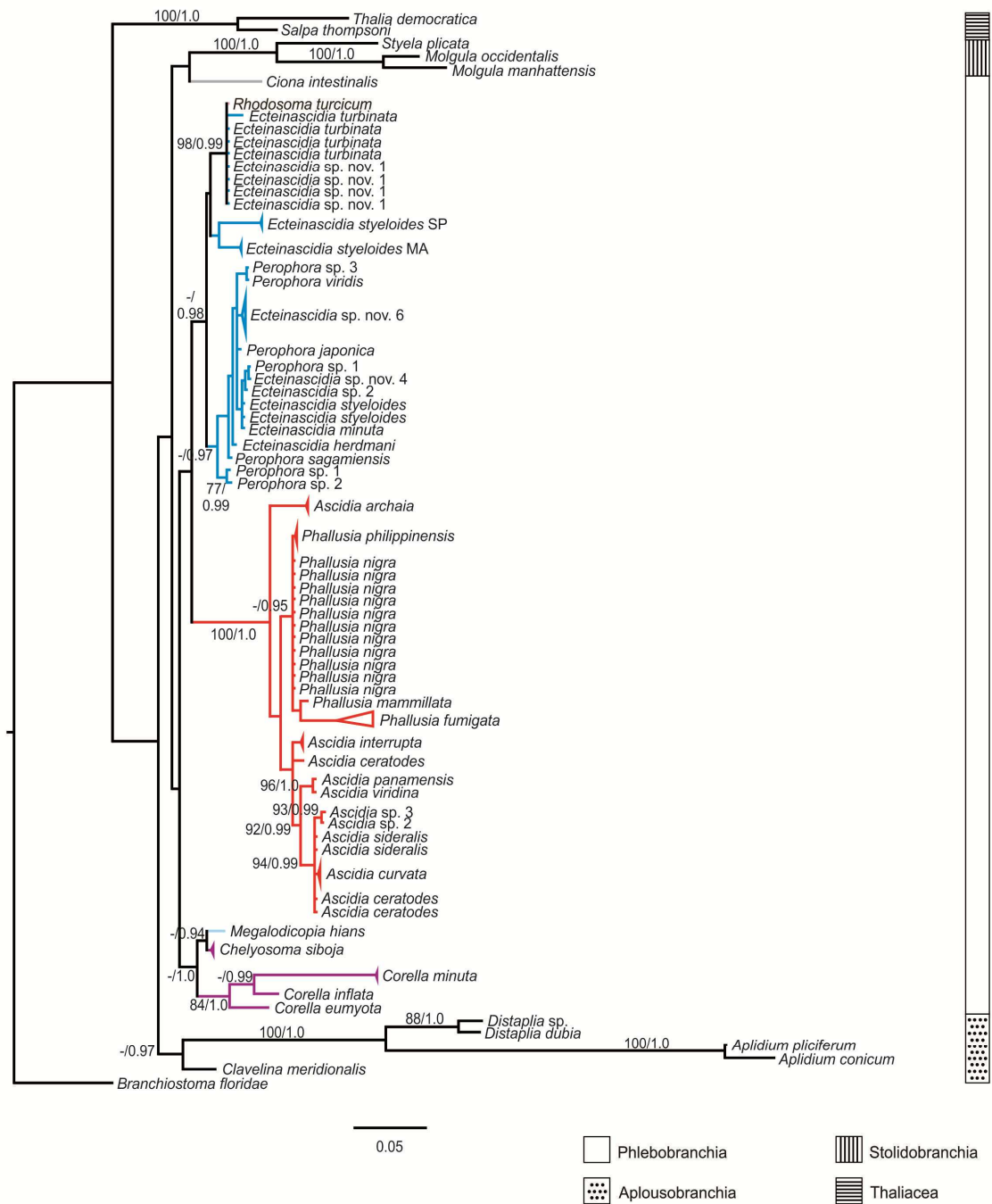


Figura 4. Filogenia de Phlebobranchia baseada em seqüências de 18S rDNA de 48 espécies, com 955pb cada. Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>75%) (ML) e probabilidade posterior (>0.9) (BI), respectivamente. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (Corellinae em roxo; Rhodosomatinae em lilás), Octanecmidae (em azul claro), Perophoridae (em azul escuro). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.

Apesar de terem sido utilizados ambos os gêneros de Perophoridae nesta análise, tampouco aqui a família pode ser considerada um grupo monofilético, desta vez devido à presença de *R. turcicum* (0.99 de probabilidade posterior e 98% de *bootstrap*) (Figura 4). Ascidiidae foi a única família considerada monofilética, pois formou um único clado com suportes máximos (*bootstrap* de 100% e 1.0 de probabilidade posterior) (Figura 4).

2.4. Genes Concatenados

Aqui também será apresentada apenas uma árvore, uma vez que ambas as análises de ML e BI tiveram resultados congruentes (Figura 5). Somente serão demonstrados valores de suporte acima de 75% de *bootstrap* e 0.9 de probabilidade posterior.

A análise de dados combinados não permite fazer nenhuma inferência a respeito das relações entre os grandes táxons de Tunicata, pois não foi encontrado suporte para a posição filogenética dos mesmos (Figura 5). Entretanto, alguns ramos internos apresentaram bom suporte, como é o caso de Ascidiidae (99% de *bootstrap* e 1.0 de probabilidade posterior) e Perophoridae (79% e 0.99, respectivamente) (Figura 5). Assim como na análise de 18S, Cionidae novamente aparece próximo à Stolidobranchia, dessa vez como grupo irmão de Stolidobranchia + Thaliacea (0.92 de probabilidade posterior). A posição de Corellidae não pode ser resgatada nesta análise devido à falta de suporte estatístico.

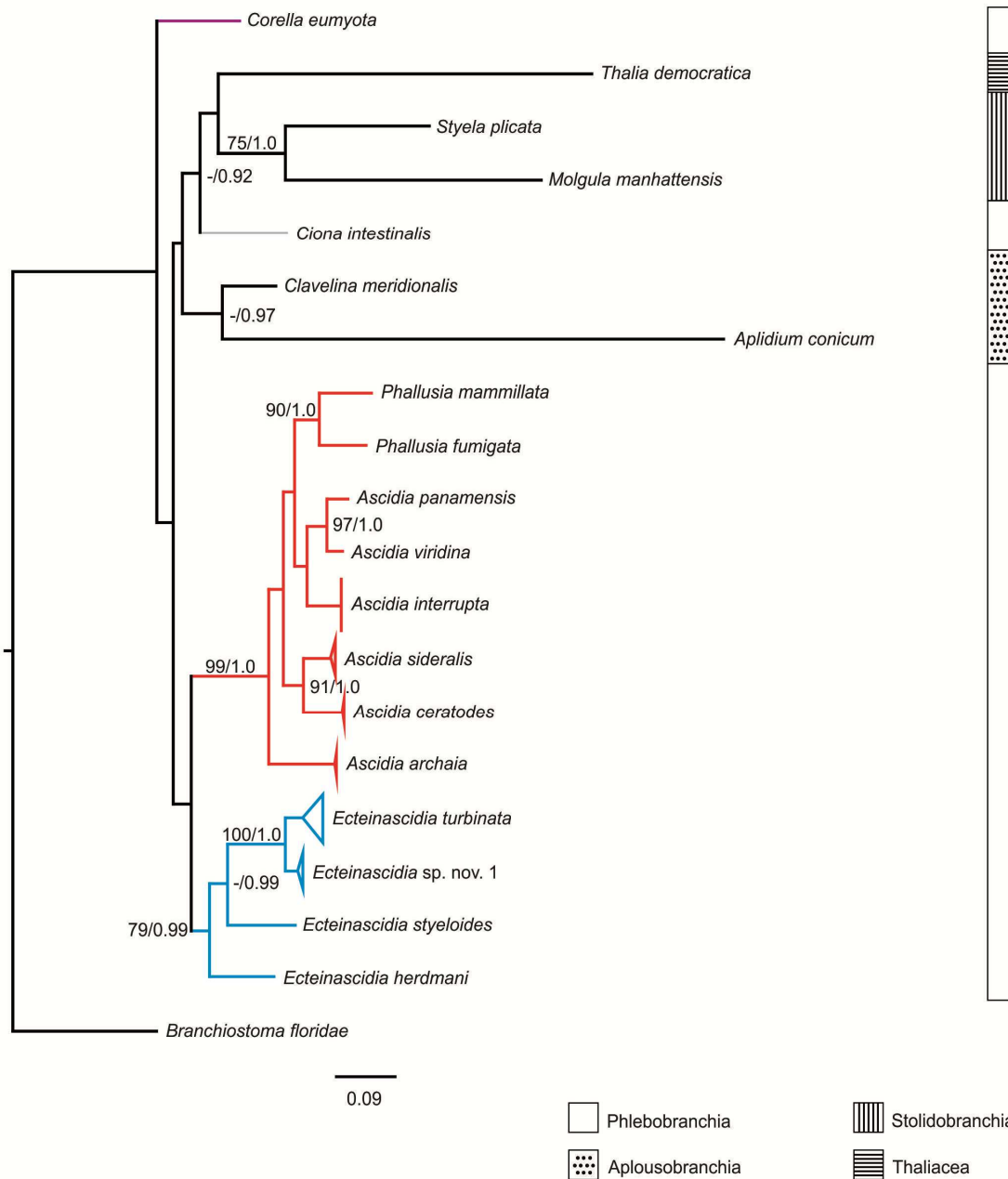


Figura 5. Filogenia de Phlebobranchia baseada em dados concatenados (COI + 18S) de 20 espécies, resultando em sequências com 1400pb cada. Valores de suporte de ramos de *bootstrap* (>75%) (ML) e probabilidade posterior (>0.9) (BI), respectivamente. Famílias tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia: Ascidiidae (em vermelho), Cionidae (em cinza), Corellidae (em roxo), Perophoridae (em azul). Barra vertical à direita da árvore indica as Ordens a que pertencem os táxons examinados.

DISCUSSÃO

Este trabalho é o primeiro a focar em Phlebobranchia especificamente e, portanto, a utilizar um maior conjunto de táxons desse grupo. Até recentemente a maioria dos estudos filogenéticos de Ascidiacea não tinha o foco em Phlebobranchia, sendo este um grupo com pouca representação nos trabalhos. A primeira exceção foi o estudo envolvendo o gene 18S rDNA realizado por Tsagkogeorga *et al.* (2009), que envolveu representantes de cinco famílias de Phlebobranchia. No entanto, como o objetivo era analisar a filogenia de Tunicata em geral, poucas espécies de cada família foram incluídas.

Phlebobranchia no significado tradicional aparentemente não constitui um táxon monofilético, pois nas reconstruções obtidas ou incluiu também representantes de Aplousobranchia (Figuras 1 e 3), ou não incluiu Cionidae (Figuras 4 e 5). Do ponto de vista morfológico, Phlebobranchia e Aplousobranchia apresentam em comum a lâmina dorsal subdividida em linguetas (50) e o testículo recobrindo o tubo digestório (86) (ainda que ambos os caracteres tenham sofrido mudanças ao longo da história) (Figura 2). O resultado encontrado é ainda corroborado por dados recentes de transcriptômica (Simion *et al.*, dados não publicados), além da presença de desenvolvimento da cavidade atrial a partir de invaginações da região dorsal, faringe sem pregas e gônadas ímpares, associadas ao tubo digestório (Kott 1985). A presença de vanádio na corrente sanguínea pode ser considerada também uma sinapomorfia entre os grupos (ainda que em estados oxidativos distintos: em Phlebobranchia ocorre no estado III e em Aplousobranchia no estado IV), sendo ausente em Stolidobranchia (Hawkins *et al.* 1983). No entanto, a relação encontrada entre Perophoridae e Aplousobranchia pode ser apenas um artefato causado pela ausência de representantes de Stolidobranchia coloniais na análise morfológica. A inclusão de tais espécies poderia vir a alterar essa topologia, sendo a colonialidade um caracter que teria evoluído mais de uma vez em Ascidiacea. Isso já é indicado no estudo de Zeng *et al.* (2006) com dados de 18S rDNA e citocromo oxidase B, em que representantes coloniais de Stolidobranchia, Thaliacea e Phlebobranchia tem origens independentes (nenhum Aplousobranchia foi examinado na ocasião) (Zeng *et al.* 2006). A inclusão futura de outros grupos de Aplousobranchia bem como de Thaliacea nas análises pode ajudar a definir melhor essa relação entre Aplousobranchia e Phlebobranchia e a própria evolução da colonialidade em Tunicata.

Cionidae, que nas presentes análises ora aparece como Phlebobranchia ora associado a Stolidobranchia, é um grupo que apresenta tanto características de Phlebobranchia como de Aplousobranchia, sem nenhuma relação morfológica com Stolidobranchia além do hábito de vida solitário e do tamanho corporal. Devido a isso, sua posição filogenética nunca ficou muito clara. No presente trabalho, a análise morfológica resultou em Cionidae irmão de (Phleboranchia + Aplousobranchia) (Figura 1); os dados de COI posicionam Cionidae como grupo-irmão de Aplousobranchia (Figura 3); dados de 18S indicam (Cionidae + Stolidobranchia) (Figura 4) e dados concatenados apresentam (Cionidae + (Stolidobranchia + Thaliacea)) (Figura 5). Destas, a única hipótese que possui algum suporte estatístico é a última (Figura 5), porém nenhuma justificativa morfológica pode ser encontrada para explicar tal agrupamento. Essa falta de definição na posição de Cionidae na árvore evolutiva já podia ser observada em trabalhos prévios (Stach & Turbeville 2002; Turón & López-Legentil 2004; Moreno & Rocha 2008; Tsagkogeorga *et al.* 2009; Govindarajan *et al.* 2011), porém esperava-se uma maior congruência entre os resultados nas diferentes análises aqui testadas. Uma possibilidade de obter maior resolução seria com a inclusão de mais famílias de Aplousobranchia, o que aumentaria a diversidade desse grupo, representando mais adequadamente a realidade e isso poderia vir a ajudar na definição das relações entre grupos. Outra possível explicação para essa indefinição a respeito de Cionidae pode ser o fato de que sempre apenas um gênero (*Ciona*) é utilizado nos trabalhos, sendo que a família é constituída por três gêneros (*Araneum*, *Ciona* e *Tantillulum*). Infelizmente, no presente estudo tampouco foi possível incluir exemplares de *Araneum* e *Tantillulum* – gêneros exclusivamente abissais –, nem mesmo na abordagem morfológica. Assim, os caracteres apresentados na sustentação de Cionidae são na verdade características apenas de *Ciona* (presença de túnica gelatinosa, papilas primárias faríngeas projetando-se no lúmen da faringe e gônadas do lado esquerdo do corpo (Figura 2)) e nenhuma inferência sobre a validade de Cionidae pode ser hipotetizada.

Quanto às demais famílias que tradicionalmente fazem parte de Phlebobranchia, de acordo com a análise morfológica somente Ascidiidae e Hypobythiidae foram consideradas monofiléticas (Figura 1). Dentre estas, o clado Ascidiidae é corroborado tanto por COI quanto por dados concatenados (Figuras 3 e 5). Na árvore de 18S o ramo

formado por *Ascidiella* sp. e *A. sydneiesis* ficou junto a Perophoridae, porém sem valor significativo de suporte (Figura 4).

Morfologicamente, Ascidiidae é sustentada pela presença de lâmina dorsal serrilhada, as papilas primárias expostas ao lúmen da faringe, a presença de vesículas renais e as gônadas do lado esquerdo do corpo (Figura 2). Destas, apenas a posição das papilas faríngeas não costuma ser utilizada na diagnose da família (Rocha *et al.* 2012), uma vez que é um caracter variável entre os gêneros. Além das apomorfias recuperadas nesta análise, são ainda considerados caracteres diagnósticos a presença exclusiva de indivíduos solitários, com musculatura presente principalmente do lado direito do corpo e nos sífões, fendas branquiais retilíneas e dispostas longitudinalmente, tubo digestório ao lado esquerdo da faringe e gônadas relacionadas à alça intestinal (Van Name 1945; Berrill 1950). Com exceção da distribuição da musculatura corporal, que pode ser um caracter homoplásico, pois também é encontrado em Agneziidae, os demais caracteres apresentados correspondem a plesiomorfias, sendo comuns à grande maioria de flebobrânquios.

Ascidiidae é composta por cinco gêneros: *Ascidia*, *Ascidiella*, *Fimbrora*, *Phallusia* e *Psammascidia*. Neste estudo, apenas *Ascidia*, *Ascidiella* e *Phallusia* puderam ser avaliados (com exceção da análise de dados concatenados, em que *Ascidiella* não pode ser amostrada). A diferenciação clássica entre os três gêneros aqui estudados é feita pela presença de aberturas acessórias apenas em *Phallusia* e papilas suportando os vasos longitudinais da faringe sem projeção para o lúmen da faringe somente em *Ascidiella* (Berrill 1950; Rocha *et al.* 2012). Dados de 18S e concatenados sugerem uma origem única para as aberturas acessórias (Figuras 4 e 5), com altos valores de suporte; já a análise morfológica e de COI indicam múltiplas origens independentes, porém sem sustentação estatística (Figuras 1 e 3). O que todas as análises concordam é na relação entre as espécies de *Phallusia* e alguma espécie de *Ascidia*, o que já havia sido encontrado para o gene 18S por Tsagkogeorga *et al.* (2009). Como os resultados obtidos com 18S e dados concatenados foram bem suportados, pode-se considerar que *Phallusia* representa um táxon válido, sendo que o surgimento das aberturas acessórias teria ocorrido em um único evento. *Ascidiella* por sua vez apresenta como sinapomorfias as papilas sob os vasos longitudinais e a lâmina dorsal lisa (Figura 2) e a relação entre suas espécies foi resgatada também por dados de COI (Figura 3), com alto valor de suporte, o que torna o táxon válido ainda que tenha

aparecido como ramo interno a *Ascidia*. A inclusão futura de *Fimbrora* e *Psammascidia* pode vir a elucidar melhor a relação entre os gêneros, porém a princípio *Ascidia* é um grupo que precisaria ser revisto em uma análise envolvendo todas as espécies da família para um possível desmembramento da mesma em maior número de gêneros.

Outra família cuja monofilia foi resgatada e suportada na análise morfológica é Hypobythiidae. O grupo monogênico possui duas sinapomorfias (fendas faríngeas circulares e gônadas na região dorsal do corpo) (Figura 2) e infelizmente não pode ser amostrada geneticamente. Seus representantes são todos solitários, de águas profundas e apresentam pedúnculo de sustentação, lâmina dorsal contínua, vísceras na região dorsal do corpo e faringe sem vasos longitudinais ou transversais e nem papilas (Herdman 1882). Devido ao seu habitat, raras vezes foram coletadas e as poucas amostras existentes encontram-se em formol, inviabilizando a extração do material genético. Assim, a única fonte atual de dados para filogenia vem dos caracteres morfológicos.

A análise morfológica também sugere a monofilia de Agneziidae, tendo como única sinapomorfia as vísceras do lado esquerdo do corpo (Figura 2). No entanto essa é uma característica presente também em Ascidiidae, Perophoridae e Plurellidae, além de que não foi encontrado suporte estatístico para o ramo (Figura 1). Como nenhuma amostra de tecido pode ser obtida para estudos genéticos, a família não pode ser incluída nas análises moleculares. Agneziidae é formada pelos gêneros *Adagnesia*, *Agnezia*, *Caenagnesia*, *Proagnesia* e *Pterygascidia*, e suas principais características diagnósticas são os indivíduos solitários, com faringe apresentando vasos longitudinais rudimentares ou ausentes, fendas em espiral e tubo digestivo e gônadas no lado esquerdo do corpo (Ärnback-Christie-Linde 1938; Van Name 1945). As fendas faríngeas em espiral não são exclusivas de Agneziidae, sendo encontradas também na maioria das espécies de Corellidae. A derivação de agneziídeos a partir de corelídeos com fendas em espiral foi resgatada na análise morfológica, ainda que apenas parcialmente.

Corellidae é formada exclusivamente por espécies solitárias, com lâmina dorsal subdividida em linguetas, faringe com fendas retas ou em espiral (conforme o gênero), papilas sustentando os vasos longitudinais e tubo digestório e gônadas do lado direito do corpo (Berrill 1950, Kott 1985). As vísceras no lado direito do corpo constituiriam uma sinapomorfia de (Corellidae + Octacnemidae). Essa posição peculiar do tubo digestório

e gônadas sempre havia sido considerada um caracter marcante e, por isso, a proximidade filogenética encontrada entre Corellidae e Octacnemidae já era esperada. As análises com 18S realmente resgataram o clado (*Corella* + (*Chelyosoma* + Octacnemidae)), corroborando o que havia sido encontrado por Tsagkogeorga *et al.* (2009) para o mesmo gene. Entretanto, Tsagkogeorga *et al.* (2009) não incluíram nenhum corelídeo de fendas retas, o que foi feito no presente estudo. No caso, *Rhodosoma turcicum* não agrupou com os demais Corellidae e sim no clado de Perophoridae (Figura 4). Na análise morfológica nenhum indivíduo de Octacnemidae pode ser incluído, no entanto, diferentemente do resultado encontrado com 18S, o gênero *Corella* encontra-se dividido em dois grupos: um formado por (*C. eumyota* + *Chelyosoma macleayanum*) e outro com as demais *Corella* irmão de Agneziidae. Essa separação do gênero *Corella* pode ter ocorrido pela ausência de algum representante de Octacnemidae que atraísse *Chelyosoma*. Uma análise testada com a exclusão de *C. macleayanum* da matriz aproximou as espécies de *Corella*, ainda que de forma politômica. Por isso é de grande importância uma análise morfológica futura que inclua Octacnemidae para uma possível resolução das relações entre os gêneros de Corellidae. Ainda de acordo com o presente resultado da filogenia morfológica, *Rhodosoma* é considerado irmão de Ascidiidae e as espécies abissais de Corellidae formam um clado a parte. Análises de COI e dados concatenados só foram feitos com uma única espécie de *Corella* como representante da família, não sendo possível inferir sobre os gêneros e nem sobre o relacionamento do táxon em relação aos demais uma vez que em nenhuma dessas análises a posição de Corellidae ficou definida.

Corellidae é dividida por alguns autores em duas subfamílias: a) Rhodosomatinae, caracterizada por indivíduos de fendas retas (*Abyssascidia*, *Dextrogaster* e *Rhodosoma*), e b) Corellinae, formada por espécies de fendas em espiral (*Chelyosoma*, *Corella*, *Corelloides*, *Corellopsis*, *Corynascidia* e *Xenobranchion*) (Kott 1985). Há ainda dois gêneros de posição indefinida (*Clatripes* e *Mysterascidia*), mas que a princípio são considerados como parte de Corellidae. *Abyssascidia*, *Corynascidia*, *Xenobranchion*, *Clatripes* e *Mysterascidia* ocorrem exclusivamente em águas abissais. O clado formado por *Abyssascidia* e *Corynascidia*, cada qual com um tipo de faringe diferente do outro, é sustentado somente pelo formato peculiar do testículo (em uma compacta massa folicular). Soma-se a isso o fato de que todos os demais representantes de Phlebobranchia possuem as fendas retas, a presente topologia morfológica levanta a

hipótese de que as fendas em espiral possam ter surgido mais de uma vez ao longo da história evolutiva. Ainda que a separação das espécies de *Corella* em dois ramos distintos na análise morfológica possa ter ocorrido apenas devido à ausência de representantes de Octacnemidae, isso não invalidaria um segundo evento de espiralização das fendas faríngeas no gênero abissal *Corynascidia*. Além disso, o posicionamento de *Rhodosoma* junto a Perophoridae (18S, com suporte) ou Ascidiidae (morfologia, sem suporte) também sugere que a posição das vísceras no lado direito do corpo também seja um carácter que tenha evoluído independentemente em diferentes clados.

Os representantes de Octacnemidae são todos habitantes de grandes profundidades e possuem como principal apomorfia a faringe reduzida e sem fendas verdadeiras (não ciliadas) (Monniot C. 1978). Apesar da família ser formada por dez gêneros (27 espécies conhecidas atualmente (WoRMS, acesso em 29 de abril de 2016)), infelizmente apenas uma espécie possui sequência de 18S conhecida (*Megalodicopia hians*) não tendo sido possível testar a monofilia da família. No presente estudo, a relação (*Corella* + (*Chelyosoma* + Octacnemidae)) foi reforçada, concordando com os resultados de Kurabayashi *et al.* (2003) e Tsagkogeorga *et al.* (2009). Isso levanta a hipótese de que Octacnemidae – e talvez *Clatripes* também, já que uma das principais características do gênero são as fendas não ciliadas (Monniot F. & Monniot C. 1976) – possa ter derivado de corelídeos com fendas em espiral. A divisão em subfamílias de Corellidae parece não se sustentar em nenhuma análise, uma vez que *Rhodosoma* bem como as espécies abissais de Corellidae parecem não fazer parte da família. A inclusão de espécies de Octacnemidae na análise morfológica, bem como de Agneziidae na análise molecular, pode vir a esclarecer melhor essa questão, bem como as relações entre Corellidae, Octacnemidae e Agneziidae.

Assim como em Corellidae e *Asciidiella*, Perophoridae e Diazonidae também possuem papilas sustentando os vasos longitudinais da faringe. No caso de Perophoridae, as análises morfológicas e de 18S indicam a parafilia do grupo: em uma Aplousobranchia surge como grupo interno, enquanto que em outra é *Rhodosoma* que faz parte da família (Figuras 1 e 4, respectivamente). Apesar de não ter suporte estatístico significativo, a topologia obtida pela filogenia morfológica do presente estudo já havia sido proposta anteriormente por Moreno & Rocha (2008) em um estudo filogenético baseado apenas em caracteres morfológicos sobre Aplousobranchia. Nesse

trabalho, Perophoridae derivaria diretamente de um nó basal de Aplousobranchia, porém apenas Ascidiidae, Cionidae e Diazonidae haviam sido incluídos como representantes de Phlebobranchia (Moreno & Rocha 2008), sendo que em geral as duas últimas famílias citadas costumam ter posição duvidosa entre essas ordens. Trabalhos prévios baseados em marcadores moleculares (COI e 18S) agrupam Perophoridae dentro de Phlebobranchia (Turón & Lopez-Legentil 2004; Tsagkogeorga *et al.* 2009, respectivamente) e Phlebobranchia já surge como grupo parafilético, sendo Aplousobranchia um táxon derivado deste (COI, Turón & Lopez-Legentil 2004). A presente análise, utilizando o gene COI e um maior número de espécies de fleboobrânquios, não recupera essa relação, apesar de considerar a existência de um ancestral comum para (Perophoridae + (Cionidae + Aplousobranchia)), ainda que sem suporte significativo (Figura 3). As análises com 18S e dados concatenados recuperam a relação de Perophoridae como grupo-irmão de Ascidiidae (Figuras 4 e 5) sugerida em trabalhos prévios envolvendo apenas o gene 18S e com um número bem menor de terminais (Kurabayashi *et al.* 2003; Tsagkogeorga *et al.* 2009; Govindarajan *et al.* 2011), porém tampouco foram encontrados suportes válidos para essa hipótese em nenhuma das duas análises. Convém ressaltar que no presente estudo apenas as análises morfológicas e de 18S contaram com representantes dos dois gêneros de Perophoridae (*Ecteinascidia* e *Perophora*).

A combinação de características encontrada em Perophoridae não se assemelha à de nenhuma outra família de Phlebobranchia, justificando o agrupamento de seus representantes encontrado nas análises morfológicas e de 18S. A proximidade entre Perophoridae e Aplousobranchia se deve ao compartilhamento de caracteres, tais como: o hábito de vida colonial, as constrições no intestino, o ovário formado pelo simples agrupamento de ovócitos, e a capacidade de incubação de larvas (Figura 2). O que distingue Aplousobranchia é o aspecto da colônia (incrustante ou pedunculada), a túnica mais espessa, o corpo dos zooides divididos em duas ou três regiões, a ausência de alça intestinal secundária, as gônadas posteriores à faringe e o testículo formando uma massa compacta (Figura 2). Além disso, o estado de oxidação do vanádio é distinto (em Aplousobranchia encontra-se o estado IV e em Phlebobranchia o III) (Hawkins *et al.* 1983) e aplousobrânquios apresentam também a perda de papilas na faringe e a posição do estômago como caracteres apomórficos (Moreno & Rocha 2008). Já a relação entre Perophoridae e Ascidiidae sugerida pelos dados de 18S e concatenados é corroborada

pela fendas faríngeas retas e posição do tubo digestório e gônadas do lado esquerdo do corpo. A inclusão de *Rhodosoma* entre os peroforídeo proposta pelos dados de 18S (Figura 4) é algo inesperado, só sendo suportada morfologicamente pela faringe com fendas retas e papilas sob os vasos longitudinais (ainda que haja exceções em Perophoridae). No entanto, por apresentar um alto valor de suporte estatístico em BI (0.99), esta hipótese pode ser considerada confiável. Infelizmente não foi possível amplificar o gene COI para *Rhodosoma turcicum*, inviabilizando no momento mais análises que poderiam vir a elucidar melhor a questão da posição de *Rhodosoma*, porém novos esforços já tem sido feitos para suprir essa lacuna.

As espécies de Perophoridae são todas coloniais, com zooides unidos por estolão, lâmina dorsal subdividida em linguetas, papilas na faringe sustentando os vasos longitudinais (que podem ser completos ou não), fendas retas, tubo digestório e gônadas do lado esquerdo do corpo e incubação de larvas na cavidade atrial ou no oviduto (Van Name 1945, Berrill 1950, Kott 1985). As diferenças entre *Perophora* e *Ecteinascidia* consistem apenas na redução do tamanho dos zooides (e conseqüente redução no número de fileiras de fendas faríngeas), assim como no número de folículos testiculares e o aumento no tamanho dos mesmos em *Perophora* (Berrill 1950, Kott 1985). Apesar de ambos estarem sempre no mesmo clado, os gêneros não foram resgatados nem nas análises morfológicas (Figura 1) e nem nas de 18S (Figura 4), indicando que aqueles caracteres tradicionalmente utilizados para separar *Ecteinascidia* de *Perophora* possam ter evoluído de forma convergente em diferentes momentos. Portanto, a divisão em dois gêneros seria errônea e apenas *Perophora* seria válido devido à sua precedência (Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, capítulo 6, artigo 23; disponível em <http://iczn.org/iczn/index.jsp#>, acesso em 06 de abril de 2016).

Assim como Cionidae e Perophoridae, a posição de Diazonidae entre Phlebobranchia e Aplousobranchia também é duvidosa. Esta família é formada por organismos solitários (*Rhopalaea* e *Pseudorhopalaea*) e coloniais (*Diazona*, *Pseudodiazona*, *Tylobranchion*), porém apenas espécies solitárias de *Rhopalaea* puderam ser usadas neste trabalho. De acordo com a árvore morfológica, Diazonidae é um flebobrânquio próximo a Hypobythiidae, porém essa hipótese não tem suporte estatístico e as únicas sinapomorfias que unem as famílias são a ausência de alça secundária no intestino e o testículo inserido na alça intestinal primária – ambos caracteres presentes também em Perophoridae e Aplousobranchia.

A única análise molecular que conta com representantes de Diazonidae (*Rhopalaea*) é a de COI, na qual a família é incluída entre os aplousobrânquios, no mesmo ramo de Polyclinidae, com alto valor de suporte em BI (Figura 1). Morfológicamente os caracteres que assemelham Diazonidae a Aplousobranchia são o corpo alongado e dividido por uma constrição, com o tubo digestório e gônadas localizados posteriormente à faringe (Kott 1990, Rocha *et al.* 2012) e a presença de vanádio IV no sangue (Hawkins *et al.* 1983). Por outro lado, Diazonidae divide com Phlebobranchia características como a presença de vasos longitudinais na faringe (completos ou incompletos), papilas faríngeas suportando os vasos longitudinais (como em Perophoridae e Corellidae), e a não-incubação de larvas na maioria das espécies (ainda que Perophoridae, parte de Corellidae e *Ascidia callosa* incubem suas larvas na cavidade atrial) (Rocha *et al.* 2012). A análise prévia baseada também no gene COI já sugeria a inclusão de Diazonidae em Aplousobranchia, ainda que em um ramo politômico (Turón & Lopez-Legentil 2004). A presença de vanádio IV no sangue pode ser uma característica plesiomórfica, uma vez que é encontrado também em Cionidae e Aplousobranchia (Hawkins *et al.* 1983), o que corroboraria a hipótese filogenética apresentada na árvore aqui obtida por COI. No entanto, convém ressaltar que tanto o presente trabalho quanto o de Turón & López-Legentil (2004) só utilizam um gênero de Diazonidae (*Rhopalaea*), sendo adequado que representantes de outros gêneros também sejam incluídos em análises genéticas futuras, pois essa limitação metodológica pode estar induzindo a interpretações inadequadas (por exemplo: apenas parte de Diazonidae seja realmente Aplousobranchia enquanto que outros gêneros possam pertencer a Phlebobranchia). Uma sugestão dessa possibilidade já pode ser encontrada no trabalho morfológico de Moreno & Rocha (2008) no qual a monofilia de Diazonidae não é resgatada nas análises, uma vez que *Tylobranchion* surge como irmão de (Perophoridae + Aplousobranchia) enquanto *Diazona* e *Rhopalaea* não tem posição definida entre Aplousobranchia e Phlebobranchia.

No presente estudo, a matriz de dados morfológicos foi a que conteve um maior número de espécies, gêneros e famílias de Phlebobranchia, e por isso é a que melhor abrange o grupo. Entretanto, não foi possível encontrar suporte estatístico para a maior parte dos ramos, sendo os cladogramas sustentados apenas pelas sinapomorfias. Já as matrizes moleculares, apesar de contarem com menor diversidade de táxons, resultaram em árvores com maior suporte, principalmente em análises de Inferência

Bayesiana (BI). Mais especificamente, as topologias obtidas utilizando somente o gene mitocondrial apresentaram uma ótima resolução e bons suportes, ao contrário dos encontrados com o gene nuclear. Em geral, COI é utilizado em estudos envolvendo gêneros ou espécies, uma vez que sua taxa de mutação é bastante elevada na maior parte dos grupos (Stach & Turbeville 2002). Apesar de exibir diferentes taxas de evolução entre os grupos, o gene 18S tem demonstrado ser bastante conservado em Ascidiacea, sendo, portanto, utilizado mais amplamente ao se investigar relações entre grandes táxons (Zeng *et al.* 2006). Ainda que as presentes análises tenham gerado árvores diferentes entre si (independentemente da baixa resolução obtida com 18S), em alguns casos as informações moleculares corroboraram relações filogenéticas encontradas na morfologia.

Dessa forma, mostra-se a importância de mais trabalhos que abordem tanto informações de origem molecular quanto morfológica de forma integrada para que os grupos de interesse sejam compreendidos em sua totalidade. A formação e a participação de taxonomistas em trabalhos evolutivos ajudaria nesse processo, uma vez que são os profissionais que mais estariam capacitados a abordar a parte morfológica dos táxons estudados. Durante a tese foram encontradas sequências depositadas no GenBank que devem ter sido identificadas equivocadamente e que tiveram que ser retiradas da análise. São sequências usadas em artigos já publicados, o que tornam os resultados desses trabalhos duvidosos, demonstrando o quão importante é uma boa taxonomia também em estudos moleculares.

CONCLUSÕES

- Dentre as famílias testadas, Agneziidae, Ascidiidae, Corellidae, Hypobythiidae e Perophoridae fazem realmente parte de Phlebobranchia.
- Diazonidae e Cionidae não devem ser incluídas em Phlebobranchia.
- Espécies abissais de Corellidae constituem uma família própria.
- Não foi encontrada corroboração para a divisão de Corellidae em subfamílias.
- Dentro de Ascidiidae, *Phallusia* e *Asciella* são gêneros válidos, porém não *Ascidia*, que deve ser subdividido em novos gêneros.
- Perophoridae é uma família monogenérica.
- Os caracteres “fendas em espiral” e “vísceras do lado direito do corpo” podem ter surgido mais de uma vez ao longo da evolução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Appeltans, W., Ahyong, ST., Anderson, G. Angel MV., Artois, T., Bailly, N., Bamber, R. Barber, A., Bartsch, I., Berta, A. Blazewicz-Paszkowycz, M., Bock, P., Boxshall, G., Boyko, CB., Brandão, SN., Bray, RA., Bruce, NL., Cairns, SD., Chan, TY., Cheng, L., Collins, AG., Cribb, T., Curini-Galletti, M., Dahdouh-Guebas, F., Davie, PJ., Dawson, MN., DeClerck, O., Decock, W., De Grave, S., de Voogd, NJ., Domning, DP., Emig, CC., Erséus, C., Eschmeyer, W., Fauchald, K., Fautin, DG., Feist, SW., Fransen, CH., Furuya, H., Garcia-Alvarez, O., Gerken, S., Gibson, D., Gittenberg, A., Gofas, S., Gómez-Daglio, L., Gordon, DP., Guiry, MD., Hernandez, F., Hoeksema, BW., Hopcroft, RR., Jaume, D., Kirk, P., Koedam, N., Koenemann, S., Kolb, JB., Kristensen, RM., Kroh, A., Lambert, G., Lazarus, DB., Lemaitre, R., Longshaw, M., Lowry, J., Macpherson, E., Madin, LP., Mah, C., Mapstone, G., McLaughlin, PA., Mees, J., Meland, K., Messing, CG., Mills, CE., Molodtsova, TN., Mooi, R., Neuhaus, B., Ng, PK., Nielsen, C., Norenburg, J., Opresko, DM., Osawa, M., Paulay, G., Perrin, W., Pilger, JF., Poore, GC., Pugh, P., Read, GB., Reimer, JD., Rius, M., Rocha, RM., Saiz-Salinas, JI., Scarabino, V., Schierwater, B., Schmidt-Rhaesa, A., Schnabel, KE., Schotte, M., Schuchert, P., Schwabe, E., Segers, H., Self-Sullivan, C., Shenkar, N., Siegel, V., Sterrer, W., Stöhr, S., Swalla, B., Tasker, ML., Thuesen, EV., Timm, T., Todaro, MA., Turon, X., Tyler, S., Uetz, P., van der Land, J., Vanhoorne, B., van Ofwegen, LP., van Soest, RW., Vanaverbeke, J., Walker-Smith, G., Walter, TC., Warren, A., Williams, GC., Wilson, SP. Costello, MJ. (2012) The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology*, 22, 1–14.
- Ärnäck-Christie-Linde, A. (1938) Ascidiacea. In: Further zoological results of the Swedish Antarctic expedition 1901-1903, under the direction of Dr. Otto Nordenskjöld. *Stockholm*, III(4), 1–54.
- Barros, RC., Rocha, RM. & Pie, MR. (2009) Human-mediated global dispersion of *Styela plicata* (Tunicata, Ascidiacea). *Aquatic Invasions*, 4(1), 45–57.
- Berrill, NJ. (1950) *The Tunicata with an account of the British species*. London, Ray Society.

- Bonnet, NYK. (2010) *Taxonomia e filogenia de Ascidiidae (Chordata, Tunicata)*.
Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.
- Boore, JL., Daehler, LL. & Brown, WM. (1999) Complete sequence, gene arrangement, and genetic code of mitochondrial DNA of the cephalochordate *Branchiostoma floridae* (Amphioxus). *Molecular Biology Evolution*, 16(3), 410–418.
- Brunetti, R., Gissi, C., Pennati, R., Caicci, F., Gasparini, F. & Manni, L. (2015) Morphological evidence that the molecularly determined *Ciona intestinalis* type A and type B are different species: *Ciona robusta* and *Ciona intestinalis*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53(3), 186–193.
- Cameron, CB., Garey, JR. & Swalla, BJ. (2000) Evolution of the chordate body plan: new insights from phylogenetic analyses of deuterostome phyla. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), 4469–4474.
- Castilla, JC., Collins, AG., Meyer, CP., Guíñez, R. & Lindberg, DR. (2002) Recent introduction of the dominant tunicate, *Pyura praeputialis* (Urochordata, Pyuridae) to Antofagasta, Chile. *Molecular Ecology*, 11, 1579–1584.
- Darriba, D., Taboada, GL., Doallo, R. & Posada, D. (2012) JModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772.
- Delsuc, F., Brinkmann, H., Chourrout, D. & Philippe, H. (2006) Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature*, 439, 965–968.
- Dunn, CW., Hejnol, A., Matus, DQ., Pang, K., Browne, WE., Smith, SA., Seaver, EC., Rouse, GW., Obst, M., Edgecombe, GD., Sørensen, MV., Haddock, SHD., Schmidt-Rhaesa, A., Okusu, A., Kristensen, RM., Wheeler, WC., Martindale, MQ. & Giribet, G. (2008) Broad phylogenetic sampling improves resolution of the animal tree of life. *Nature*, 452, 745–750.
- Dupont, L., Viard, F., Perez-Portela, R., Buser, C., El-Nagar, A. & Bishop, JDD. (unpublished) Paradox revisited: severe cyto-nuclear founder effects in rapidly expanding *Corella eumyota* (Urochordata: Ascidiacea) populations in NW Europe. *Marine Biological Association of United Kingdom*.

- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299.
- Goloboff, PA., Farris, JS. & Nixon, KC. (2008) TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24, 774–786.
- Govindarajan, AF., Bucklin, A. & Madin, LP. (2011) A molecular phylogeny of the Thaliacea. *Journal of Plankton Research*, 33(6), 843–853.
- Guindon, S., Dufayard, JF., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. & Gascuel, O. (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59, 307–321.
- Hadfield, KA., Swalla, BJ. & Jeffery, WR. (1995) Multiple origins of anural development in ascidians inferred from rDNA sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 40(4), 413–427.
- Hawkins, CJ., Kott, P., Parry, DL. & Swienhart, JH. (1983) Vanadium content and oxidation state related to ascidian phylogeny. *Comparative Biochemistry Physiology*, 76B(3), 555–558.
- Haydar, D., Hoaru, G., Olsen, JL., Stam, WT. & Wolff, WJ. (2010) Introduced or glacial relict? Phylogeography of the cryptogenic ascidian *Molgula manhattensis* De Kay, 1843 (Asciacea, Pleurogona). *Diversity and Distributions*, 17, 68–80.
- Hebert, PDN., Ratnasingham, S. & de Waard, JR. (2003) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270, S96–S99.
- Herdman, WA. (1882) Report on the Tunicata collected during the voyage of H.M.S. Challenger during the years 1873-1876, part 1, Ascidiæ simplices. *Report of the Scientific Results of the Voyage of H.M.S. Challenger During the Years 1873-76*, 6(17), 1–296.

- Kanamori, M. & Kawasaki, T. (2014) First occurrence of the invasive ascidian *Molgula manhattensis* (De Kay, 1843) (Urochordata, Ascidiacea) in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Benthology*, 69, 32–39.
- Katoh, K. & Standley, DM. (2013) MAFFT Multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780.
- Kott, P. (1985) The Australian Ascidiacea. Part 1. Phlebobranchia and Stolidobranchia. *Memories of the Queensland Museum*, Brisbane, 23(1), 440 pp.
- Kott, P. (1990) The Australian Ascidiacea. Part 2. Aplousobranchia (1). *Memories of the Queensland Museum*, Brisbane, 29(1), 266 pp.
- Kurabayashi, A., Okuyama, M., Ogawa, M., Takeuchi, A., Jing, Z., Naganuma, T. & Saito, Y. (2003) Phylogenetic position of a deep-sea ascidian, *Megalodicopia hians*, inferred from the molecular data. *Zoological Science*, 20(10), 1243–1247.
- Lahille, F. (1886) Sur la classification des Tuniciers. *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences*, 102, 1573–1575.
- Lambert, G. (2005) Ecology and natural history of the protochordates. *Canadian Journal of Zoology*, 83(1), 34–50.
- López-Legentil, S. & Turón, X. (2006) Population genetics, phylogeography and speciation of *Cystodytes* (Ascidiacea) in the western Mediterranean Sea. *Biological Journal of the Linnean Society*, 88, 203–214.
- López-Legentil, S. & Turón, X. (2007) Lack of genetic variation in the mtDNA sequences over the amphiatlantic distribution range of the ascidian *Ecteinascidia turbinata*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 405–408.
- López-Legentil, S., Legentil, ML., Erwin, PM. & Turón, X. (2015) Harbor networks as introduction gateways: contrasting distribution patterns of native and introduced ascidians. *Biological Invasions*, 17, 1623–1638.
- Maddison, WP. & Maddison, DR. (2015) *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis*. Version 3.04. In: <http://mesquiteproject.org>.

- Mohamed Hussain, S., Basker, B. & Shamsudin, M. (unpublished) An updated 18S rRNA phylogeny of marine ascidians, *Aplidium conicum* (Olivi, 1792).
- Monniot, C. (1978) Recent work on the deep-sea tunicates. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, 16, 181–228.
- Monniot, C., Monniot, F. & Laboute, P. (1991) *Coral reef ascidians of New Caledonia*. Collection Faune Tropicale, 30, l'ORSTOM, Paris, 247 pp.
- Monniot, F. & Monniot, C. (1976) Tuniciers abyssaux du bassin argentin récoltés par l' "Atlantis II". *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, sér. 3, 387(269), 629–662.
- Moreno, TR. & Rocha, RM. (2008) Phylogeny of Aplousobranchia (Tunicata: Ascidiacea). *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(2), 269–298.
- Nydam, ML. & Harrison, RG. (2007) Genealogical relationships within and among shallow-water *Ciona* species (Ascidiacea). *Marine Biology*, 151, 1839–1847.
- Page, R. (2001) *NDE (NEXUS Data Editor for Windows) version 0.5.0*. Glasgow, United Kingdom.
- Pérez-Portela, R. & Turón, X. (2008) Phylogenetic relationships of the Clavelinidae and Pycnoclavellidae (Ascidiacea) inferred from mtDNA data. *Invertebrate Biology*, 127(1), 108–120.
- Pérez-Portela, R., Duran, S., Palacín, C. & Turón, X. (2007) The genus *Pycnoclavella* (Ascidiacea) in the Atlanto-Mediterranean region: a combined molecular and morphological approach. *Invertebrate Systematics*, 21, 187–205.
- Pérez-Portela, R., Bishop, JDD., Davis, AR. & Turón, X. (2009) Phylogeny of the families Pyuridae and Styelidae (Stolidobranchiata, Ascidiacea) inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50, 560–570.
- Pineda, MC., López-Legentil, S. & Turon, X. (2011) The whereabouts of an ancient wanderer: global phylogeography of the solitary ascidian *Styela plicata*. *PLoSOne*, 6(9), E25495.

- Rambaut, A. (2014) *FigTree 1.4.2*. Disponível para download em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rocha, RM., Zanata, TB. & Moreno, TR. (2012) Keys for the identification of families and genera of Atlantic shallow water ascidians. *Biota Neotropica*, 12(1), 1–35.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, DL., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, MA. & Huelsenbeck, JP. (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539–542.
- Sanamyan, KE. (2001) Dimeatidae, a new family of the Ascidiacea, with description of a new species of the genus *Dimeatus*. *Zoosystematica Rossica*, 9(1), 37–41.
- Satou, Y., Yamada, L., Mochizuki, Y., Takatori, N., Kawashima, T., Sasaki, A., Hamaguchi, M., Awazu, S., Yagi, K., Sasakura, Y., Nakayama, A., Ishikawa, H., Inaba, K. & Satoh, N. (2002) A cDNA resource from the basal chordate *Ciona intestinalis*. *Genesis*, 33(4), 153–154.
- Stach, TG. (2009) Anatomy of the trunk mesoderm in tunicates: homology considerations and phylogenetic interpretation. *Zoomorphology*, 128, 97–109.
- Stach, T. & Turbeville, JM. (2002) Phylogeny of Tunicata inferred from molecular and morphological characters. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25, 408–428.
- Stach, T. & Turbeville, JM. (2005) The role of appendicularians in chordate evolution – a phylogenetic analysis of molecular and morphological characters, with remarks on ‘neoteny-scenarios’. In: *Response of Marine Ecosystems to Global Change. Ecological Impact of Appendicularians*. Gorsky, G., Youngbluth, MJ. & Deibel, D. (eds.), Éditions des Archives Contemporaines, França, Paris, 440 pp.
- Stefaniak, L., Zhang, H., Gittenberg, A., Smith, K., Holsinger, K., Lin, S. & Whitlatch, RB. (2012) Determining the native region of the putatively invasive ascidian *Didemnum vexillum* Kott, 2002. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 422-423, 64–71.
- Stock, DW. & Whitt, GS. (1992) Evidence from 18S ribosomal RNA sequences that lampreys and hagfishes form a natural group. *Science*, 257(5071), 787–789.

- Swalla, B.J., Cameron, C.B., Corley, L.S. & Garey, J.R. (2000) Urochordates are monophyletic within the deuterostomes. *Systematic Biology*, 49(1), 52–64.
- Swofford DL. (2002) *PAUP* 4. Beta version 10 for Microsoft Windows*. Smithsonian Institution.
- Tarjuelo, I., Posada, D., Crandall, K.A., Pascual, M. & Turón, X. (2001) Cryptic species of *Clavelina* (Asciacea) in two different habitats: harbours and rocky littoral zones in the northwestern Mediterranean. *Marine Biology*, 139, 455–462.
- Tatián, M., Lagger, C., Demarchi, M. & Mattoni, C. (2011) Molecular phylogeny endorses the relationship between carnivorous and filter-feeding tunicates (Tunicata, Asciacea). *Zoologica Scripta*, 40(6), 603–612.
- Tsagkogeorga, G., Turón, X., Hopcroft, R.R., Tilak, M., Feldstein, T., Shenkar, N., Loya, Y., Huchon, D., Douzery, E.J.P. & Delsuc, F. (2009) An updated 18S rRNA phylogeny of tunicates based on mixture and secondary structure models. *BMC Evolutionary Biology*, 9, 187.
- Turon, X. & López-Legentil, S. (2004) Ascidia molecular phylogeny inferred from mtDNA data with emphasis on the Aplousobranchiata. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33, 309–320.
- Turón, X., Tarjuelo, I., Duran, S. & Pascual, M. (2003) Characterising invasion processes with genetic data: an Atlantic clade of *Clavelina lepadiformis* (Asciacea) introduced into Mediterranean harbours. *Hydrobiologia*, 503, 29–35.
- Vandepas, L.E., Oliveira, L.M., Lee, S.S.C., Hirose, E., Rocha, R.M. & Swalla, B.J. (2015) Biogeography of *Phallusia nigra*: is it really black and white? *The Biological Bulletin*, 228, 52–64.
- Van Name, W.G. (1945) The North and South American Ascidiata. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 84, 1–476.
- Wada, H. (1998) Evolutionary history of free-swimming and sessile lifestyles in urochordates as deduced from 18S rDNA molecular phylogeny. *Molecular Biology and Evolution*, 15(9), 1189–1194.

- Wada, H. & Satoh, N. (1994) Details of the evolutionary history from invertebrates to vertebrates, as deduced from the sequences of 18S rDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(5), 1801–1804.
- Wada, H., Makabe, KW., Nakaushi, M. & Satoh, N. (1992) Phylogenetic relationships between solitary and colonial ascidians, as inferred from the sequence of the central region of their respective 18S rDNAs. *Biological Bulletin*, 183, 448–455.
- WoRMS Editorial Board (2016). World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org> at VLIZ. Acesso em 12 de fevereiro de 2016. doi:10.14284/170
- Xia, X., Xie, Z., Salemi, M., Chen, L. & Wang, Y. (2003) An index of substitution saturation and its application. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26, 1–7.
- Yokobori, S., Ueda, T., Feldmaier-Fuchs, G., Paabo, S., Ueshima, R., Kondow, A., Nishikawa, K. & Watanabe, K. (1999) Complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the ascidian *Halocynthia roretzi* (Chordata, Urochordata). *Genetics*, 153(4), 1851–1862.
- Yokobori, S., Watanabe, Y. & Oshima, T. (2003) Mitochondrial genome of *Ciona savignyi* (Urochordata, Ascidiacea, Enterogona): comparison of gene arrangement and tRNA genes with *Halocynthia roretzi* mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution*, 57(5), 574–587.
- Yokobori, S., Kurabayashi, A., Neilan, BA., Maruyama, T. & Hirose, E. (2006) Multiple origins of the ascidian-*Prochloron* symbiosis: molecular phylogeny of photosymbiotic and non-symbiotic colonial ascidians inferred from 18S rDNA sequences. *Molecular and Phylogenetics Evolution*, 40(1), 8–19.
- Yokobori, S., Kurabayashi, A., Nishikawa, J., Ohsone, Y., Yamagishi, A. & Hirose, E. (unpublished) Molecular phylogeny of Tunicata (Urochordata) based on 18S rRNA genes.
- Zeng, L. & Swalla, BJ. (2005) Molecular phylogeny of the protochordates: chordate evolution. *Canadian Journal of Zoology*, 83, 24–33.

Zeng, L., Jacobs, MW. & Swalla, BJ. (2006) Coloniality has evolved once in stolidobranch ascidians. *Integrative and Comparative Biology*, 46(3), 255–268.

Zhang, DN., Zheng, LM., Lin, YS., Cao, WQ. & Zhang, WJ. (unpublished) DNA barcoding zooplankton of China Seas.

Apêndices

Apêndice 01 – Matriz de dados morfológicos

ESPÉCIE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Styela plicata</i>	0	-	2	0	1	1	2	2	1	0
<i>Aplidium lobatum</i>	1	0	3	?	1	0	1	0	1	1
<i>Clavelina picta</i>	1	2	3	0	0	0	1	0	0	1
<i>Clavelina oblonga</i>	1	2	3	0	0	0	2	0	0	1
<i>Agnezia glaciata</i>	0	-	1/3	?	0	1	2	0	1	0
<i>Caenagnesia bocki</i>	0	-	0	?	0	1	2	0	1	0
<i>Ascidia archaia</i>	0	-	2	1	0	0/1	2	0	0/1	0
<i>Ascidia bocatorensis</i>	0	-	3	1	0	0/1	2	0	?	0
<i>Ascidia ceratodes</i>	0	-	1/2	1	0	0/1	2	0	0	0
<i>Ascidia collini</i>	0	-	2/3	1	0	1	2	0	0/1	0
<i>Ascidia conchilega</i>	0	-	1	1	0	1	2	0	1	0
<i>Ascidia corallicola</i>	0	-	3	1	0	1	2	0/3	0/1	0
<i>Ascidia interrupta</i>	0	-	3	1	0	1	2	0/3	0/1	0
<i>Ascidia cf. liberata</i>	0	-	2/3	1	0	1	2	3	0/1	0
<i>Ascidia mentula</i>	0	-	3	1	0	0/1	2	0	0/1	0
<i>Ascidia monnioti</i>	0	-	3	1	0/1	1	2	0	0	0
<i>Ascidia cf. munda</i>	0	-	3	1	0	1	2	3	1	0
<i>Ascidia nordestina</i>	0	-	3	1	0	1	2	0/3	0/1	0
<i>Ascidia obliqua</i>	0	-	2/3	0/1	0/1	1	2	0/3	0/1	0
<i>Ascidia panamensis</i>	0	-	3	1	?	1	2	0/3	0/1	0
<i>Ascidia cf. papillata</i>	0	-	2	1	0	1	2	0	1	0
<i>Ascidia paulayi</i>	0	-	2/3	1	0	1	2	3	0/1	0
<i>Ascidia sydneyensis</i>	0	-	2/3	1	0	1	2	1/3	0/1	0
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	0	-	2/3	1	0	0/1	2	0	0/1	0
<i>Ascidia virginea</i>	0	-	3	1	0	0	2	0/2	0	0
<i>Ascidia viridina</i>	0	-	2/3	1	0	1	2	0/3	0/1	0
<i>Ascidia sp.</i>	0	-	3	1	0	1	2	3	0/1	0
<i>Ascidiella aspersa</i>	0	-	3	0	0	1	2	3	0/1	0
<i>Ascidiella scabra</i>	0	-	1/2	1	0	1	2	0/3	1	0
<i>Phallusia fragilis</i>	0	-	3	1	0	1	0	0	0/1	0
<i>Phallusia mammillata</i>	0	-	2/3	0/1	1	0	2	3	0	0
<i>Phallusia nigra</i>	0	-	3	1	0/1	0	2	0	0	0
<i>Phallusia philippinensis</i>	0	-	3	0/1	1	0/1	2	0	0/1	0
<i>Ciona robusta</i>	0	-	3	0/1	0	1	1	3	1	0
<i>Ciona cf. savignyi</i>	0	-	3	0	0	0	1	0/3	0	0
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	0	-	1/2	2	0/1	1	3	1	1	0
<i>Corella eumyota</i>	0	-	2	2	1	1	2	0/3	0/1	0
<i>Corella minuta</i>	0	-	1/2	0/2	0	0	2	0	0	0
<i>Corella parallelogramma</i>	0	-	2	0/2	0	0	2	?	0	0
<i>Corynascidia suhmi</i>	0	-	?	0	0	0	1	2	0	0
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	0	-	3	?	0	1	2	0	0	0
<i>Rhodosoma turcicum</i>	0	-	2/3	2	0	1	2	3	1	0
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	-	3	0	1	0	2	1	0	1
<i>Hypobythius calycodes</i>	0	-	2	0	0	0	1	2/3	0	0
<i>Hypobythius moseleyi</i>	0	-	1	0	0	1	2	2	1	0

ESPÉCIE (cont.)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Ecteinascidia conklini</i>	1	1	3	0	0	0	0	0/3	0	0
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	1	?	2	?	?	?	?	?	0	0
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	1	1	1/2	0	0	0	0	2	1	0
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	1	1	1/2	0	0	0	0	2	0	0
<i>Ecteinascidia minuta</i>	1	1	2/3	0	0	0	0	0/2	0	0
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	1	1	3	0	0	0	0	0	1	0
<i>Ecteinascidia styeloides A</i>	1	1	2/3	0	0	0	0	2/3	0/1	0
<i>Ecteinascidia styeloides B</i>	1	1	2/3	0	0	0	0	0/2	1	0
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	1	1	3	0	0	0	0	2	1	0
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	1	1	3	0	0	0	0	2	0/1	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	1	1	2/3	0	0	0	0	0/2	0/1	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	1	1	1	0	0	0	0	2	1	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	1	?	3	?	?	?	?	?	?	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	1	1	1/2	0	0	0	0	?	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	1	1	2/3	?	0	0	0	?	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	1	1	2/3	0	0	0	0	2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	1	?	3	?	?	?	?	?	?	0
<i>Perophora listeri</i>	1	1	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Perophora multiclathrata</i>	1	?	0/1	?	0	?	?	0/2	?	0
<i>Perophora viridis</i>	1	1	1/2	0	0	0	0	0/2	0	0
<i>Perophora</i> sp.	1	1	1/2	0	0	0	0	2	?	0

ESPÉCIE (cont.)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Styela plicata</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	1	2
<i>Aplidium lobatum</i>	-	1	0	0	0	0	0	0	?	1
<i>Clavelina picta</i>	-	?	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Clavelina oblonga</i>	1/2	?	?	0	0	0	0/1	0	?	1
<i>Agnezia glaciata</i>	1	2	1	0	0	0	0	0	1	2
<i>Caenagnesia bocki</i>	0	1/2	1/2	?	0	0	0	0	1	2
<i>Ascidia archaia</i>	0	2	2	0/1	0	0	0/1	0	2	1
<i>Ascidia bocatorensis</i>	0	2	1	1	0	0	0/1	0	2	2
<i>Ascidia ceratodes</i>	1/2	2	1	1/2	0	0	0/1	0	1	1/2
<i>Ascidia collini</i>	1	2	1/2	1	0	0	1	0/2	2	1/2
<i>Ascidia conchilega</i>	0	1	?	1	0	0	0	0	1	2
<i>Ascidia corallicola</i>	0	2	2	1	0	0	1	0/3	1	2
<i>Ascidia interrupta</i>	1/2	2/3	1/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/3	1	2
<i>Ascidia cf. liberata</i>	2	2	1	1	1	1	?	0	2	2
<i>Ascidia mentula</i>	0	2	2	1	0	0	0	0	1	2
<i>Ascidia monnioti</i>	0/1	3	2	1	0	0/1	0/1	0/3	1	2
<i>Ascidia cf. munda</i>	0	2	2	0	1	1	1	0	1	2
<i>Ascidia nordestina</i>	2	2	1	0/1	1	1	1	0	1	2
<i>Ascidia obliqua</i>	2	2	1	0	1	0/1	0/1	0	2	2
<i>Ascidia panamensis</i>	2	3	2	1	0	0/1	1	0/1	1	1/2
<i>Ascidia cf. papillata</i>	0	2	1	0/1	1	1	0/1	0	2	2
<i>Ascidia paulayi</i>	0/2	1/2	1	1	1	1	1	0	2	1
<i>Ascidia sydneyensis</i>	0/1	2	1	0	1	1	0/1	0	2	2
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	1/2	2/3	1	1	0	0	0/1	0	1	1/2
<i>Ascidia virginea</i>	1	2	1	0	0	0	0	0	2	2
<i>Ascidia viridina</i>	2	2/3	2	1	0/1	1	1	0/1	1	1/2
<i>Ascidia sp.</i>	0/2	2	1/2	0/1	0	0	1	0	1	2
<i>Ascidiella aspersa</i>	1/2	2	1	1	1	1	0/1	0	2	1/2
<i>Ascidiella scabra</i>	1/2	2	1	0	1	1	0/1	0	2	2
<i>Phallusia fragilis</i>	2	0	0	1	0	0	0/1	0/4	0	0
<i>Phallusia mammillata</i>	1/2	2	1	1	0	0	1	4	2	2
<i>Phallusia nigra</i>	0	3	2	0	0	0	0	3	1	2
<i>Phallusia philippinensis</i>	0	2/3	2	0/1	0	0	0/1	0/3	2	2
<i>Ciona robusta</i>	1	2	1	0	0	0	0	0	2	2
<i>Ciona cf. savignyi</i>	0/2	2	1	0	0	0	0/1	0/2	2	1
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	0/1	1	1	1	0	0	0	0/4	2	2
<i>Corella eumyota</i>	0	1/2	1	1	0	0	0	0	1	2
<i>Corella minuta</i>	0/2	2	1	1	0	0	0	0	1	2
<i>Corella parallelogramma</i>	2	3	2	0	0	0	1	0	2	2
<i>Corynascidia suhmi</i>	?	?	?	0	0	0	0	0	?	1
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	?	3	2	2	?	?	?	0	1	1
<i>Rhodosoma turcicum</i>	0/2	2/3	1/2	0	0	0	0/1	0/2	1	1/2
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	1/2	1	0	0	0	1	0	1	2
<i>Hypobythius calycodes</i>	?	?	?	?	?	0	0	0	?	?
<i>Hypobythius moseleyi</i>	?	?	?	?	?	?	?	0	1	1
<i>Ecteinascidia conklini</i>	2	2/3	2	0	0	0	0	0	2	2
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	2	3	?	1	0	?	0	0	?	1
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	2	2/3	1/2	0	0	0	0	0	?	1
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	0/1	1	1	0	0	0	0	0	?	?

ESPÉCIE (cont.)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Ecteinascidia minuta</i>	1/2	2/3	1/2	?	0	0	0	0	1	2
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	2	1/2	1/2	0	0	0	0	3	1	?
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	1/2	2/3	1/2	0	0	0	0	0/2	1	2
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	2	2/3	1/2	0	0	0	0/1	0	1	2
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	2	1	1	0	0	0	0	0	1	2
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	1/2	0/1	0/1	0	0	0	0	0	1	1/2
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	1/2	1/2	1	0	0	0	0	0/2	1	1/2
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	1/2	2	2	0	0	0	0	0	1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	2	3	?	0	0	0	0	0	1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	2	2	1/2	0/1	0	0	0	0	1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	2	3	2	1	0	0	0	2	1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	0/2	2/3	1/2	1	0	0	0/1	0	1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	?	2	1	1	0	0	0	0	?	1/2
<i>Perophora listeri</i>	2	1	1	0	0	0	0	0	1	2
<i>Perophora multiclathrata</i>	2	2/3	2	0	0	0	0	0	1	2
<i>Perophora viridis</i>	2	3	1/2	1	0	0	0	0	?	2
<i>Perophora</i> sp.	0/1	1/2	1/2	0	0	0	0	0	1	1/2

ESPÉCIE (cont.)	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<i>Styela plicata</i>	2	2	1	0	3	1	0	0	2	1
<i>Aplidium lobatum</i>	?	2	0	0	0	-	0	0	2	0
<i>Clavelina picta</i>	?	2	0	0	0	-	0	0	2	0
<i>Clavelina oblonga</i>	1	2	0	0	0	-	0	0	2	0
<i>Agnezia glaciata</i>	2	2	0	0	1	0	1	0	2	0
<i>Caenagnesia bocki</i>	1	2	0	0	2	0	1	0	2	0
<i>Ascidia archaia</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Ascidia bocatorensis</i>	1/2	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia ceratodes</i>	1/2	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia collini</i>	1/2	1	0	0	3	1	0	0	1	0
<i>Ascidia conchilega</i>	2	2	1	0	3	1	0	0	1	0
<i>Ascidia corallicola</i>	1/2	2	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia interrupta</i>	2	1/2	1	0	0	1	0	0	2	0
<i>Ascidia cf. liberata</i>	2	1	0	1	2	0	0	0	1	0
<i>Ascidia mentula</i>	1/2	2	1	0	0	1	0	0	2	0
<i>Ascidia monnioti</i>	2	1/2	0	0	3	1	0	0	1	0
<i>Ascidia cf. munda</i>	2	1	0	0	1	1	1	0	1	0
<i>Ascidia nordestina</i>	2	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia obliqua</i>	2	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia panamensis</i>	2	2	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia cf. papillata</i>	2	1	0	0	2	1	0	0	1	0
<i>Ascidia paulayi</i>	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0
<i>Ascidia sydneyensis</i>	2	1	0	0	1	1	1	1	1	0
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	1/2	1/2	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia virginea</i>	2	0	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidia viridina</i>	2	1	1	0	3	1	0	0	1	0
<i>Ascidia sp.</i>	2	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidiella aspersa</i>	1	0/1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Ascidiella scabra</i>	2	1	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>Phallusia fragilis</i>	2	0	0	0	1/3	1	1	0	0	0
<i>Phallusia mammillata</i>	1	2	1	0	0	1	0	0	2	0
<i>Phallusia nigra</i>	2	2	1	0	0	1	0	0	2	0
<i>Phallusia philippinensis</i>	2	2	1	0	3	1	0	0	2	0
<i>Ciona robusta</i>	2	2	1	0	3	1	0	0	2	1
<i>Ciona cf. savignyi</i>	1	2	1	0	3	1	0	0	2	1
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	2	1	0	0	1	1	1	1	1	0
<i>Corella eumyota</i>	2	2	0	0	1	1	1	0	1	1
<i>Corella minuta</i>	2	1	0	1	1	0	0	0	1	0
<i>Corella parallelogramma</i>	2	2	0	0	-	-	0	0	2	0
<i>Corynascidia suhmi</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Rhodosoma turcicum</i>	2	1	0	0	0	-	0	0	1	0
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	1	2	0	0	0	-	0	0	2	0
<i>Hypobythius calycodes</i>	1	2	0	0	0	-	0	0	2	0
<i>Hypobythius moseleyi</i>	?	2	0	0	0	-	0	0	?	?
<i>Ecteinascidia conklini</i>	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	?	0	0	0	3	1	1	0	?	?
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	?	1/2	0	0	0	-	0	0	2	0

ESPÉCIE (cont.)	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<i>Ecteinascidia minuta</i>	2	0/1	0	0	2/3	0	0	0	1	0
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	1/2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	1/2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	2	1	0	0	1	0	0	0	?	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	2	0	0	1	3	1	0	0	1	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	2	0	0	0	3	1	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	1	1	0	0/1	2	1	0	0	1	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	2	?	0	1	3	1	0	0	0	0
<i>Perophora listeri</i>	2	1	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Perophora multiclathrata</i>	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Perophora viridis</i>	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Perophora</i> sp.	1	0	0	0	3	1	0	0	0	0

ESPÉCIE (cont.)	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
<i>Styela plicata</i>	0	1	3	1	0	0	1	1	2	0
<i>Aplidium lobatum</i>	0	0	0	-	0	0	?	?	?	?
<i>Clavelina picta</i>	0	0	0	-	0	0	0	0	0	1
<i>Clavelina oblonga</i>	0	0	0	-	0	0	0	0	0	1
<i>Agnezia glaciata</i>	0	0	1	0	1	0	3	0	0	1
<i>Caenagnesia bocki</i>	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
<i>Ascidia archaia</i>	1	0	1	1	0	0	0/1	0	2	1
<i>Ascidia bocatorensis</i>	0	0	1	1	0	0	2	1	1	1
<i>Ascidia ceratodes</i>	0	0	1	1	0	0	3	0	1	1
<i>Ascidia collini</i>	0	0	1	0/1	0	0	2	1	1	1
<i>Ascidia conchilega</i>	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
<i>Ascidia corallicola</i>	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
<i>Ascidia interrupta</i>	0	0/1	1	0	0	0/1	3	0/1	1/2	1
<i>Ascidia cf. liberata</i>	1	0	1	0	0	0	2	0	1	1
<i>Ascidia mentula</i>	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1
<i>Ascidia monnioti</i>	0	0	1	0	0	0/1	2	0/1	1/2	1
<i>Ascidia cf. munda</i>	0	0	1	1	0	1	2	0	1	1
<i>Ascidia nordestina</i>	0	0	1	0	0	1/2	2	0	1	1
<i>Ascidia obliqua</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1
<i>Ascidia panamensis</i>	0	1	1	1	0	0/1	3	0	2	1
<i>Ascidia cf. papillata</i>	0	0	1	1	0	0/2	3	0/1	1/2	1
<i>Ascidia paulayi</i>	0	0	1	1	0	0/1	2	0/1	1	1
<i>Ascidia sydneyensis</i>	0	0	1	1	0	0	2	0	1	1
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	0	0	1	0	0	0	2	0/1	1	1
<i>Ascidia virginea</i>	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1
<i>Ascidia viridina</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	2	1
<i>Ascidia sp.</i>	0	0	1	1	1	0	1	0/1	1	1
<i>Ascidiella aspersa</i>	0	1	1	1	0	1	2	0	2	1
<i>Ascidiella scabra</i>	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
<i>Phallusia fragilis</i>	0	0	0	-	0	0	1	0	2	1
<i>Phallusia mammillata</i>	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1
<i>Phallusia nigra</i>	0	1	1	1	1	0	2	0/1	1	1
<i>Phallusia philippinensis</i>	0	1	1	0	0	0	1	0/1	1	1
<i>Ciona robusta</i>	0	1	3	1	0	0	3	0	1	1
<i>Ciona cf. savignyi</i>	0	1	3	1	0	0	1	0	1	1
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	0	0	1	1	1	0	3	1	1	1
<i>Corella eumyota</i>	0	0	0	1	0	0	2	1	1	1
<i>Corella minuta</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1
<i>Corella parallelogramma</i>	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1
<i>Corynascidia suhmi</i>	0	0	0	-	1	0	3	0	1	?
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	0	0	3	1	0	0	0	0	1	1
<i>Rhodosoma turcicum</i>	0	0	0	-	0	0	1	0	1	1
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	0	0	-	0	0	1	0	2	0
<i>Hypobythius calycodes</i>	0	0	0	-	0	?	?	?	?	?
<i>Hypobythius moseleyi</i>	?	?	?	?	?	0	1	0	1	1
<i>Ecteinascidia conklini</i>	0	0	2	0	0	3	1	0	1	1
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	?	?	?	?	?	?	0	0/1	?	1
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	0	0	1	0	0	?	0	0	0	1
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	0	0	0	-	0	0	0	0	0/1	1

ESPÉCIE (cont.)	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
<i>Ecteinascidia minuta</i>	0	0/1	2	0	0	0	1	0/1	0/1	1
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	0	0	1	0	0	?	1	0	?	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	0	0	2	0	0	0/3	1	0	0/1	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	0	0	2	0	0	3	1	0/1	0/1	1
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	0	0	2	0	0	3	2	0	1	1
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	0	0	2	0	0	3	2	0/1	1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	0	0	2	0	0	3	2	0/1	0/1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	0	0	2	0	0	0/3	1	1	1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	0	0	2	0	0	0	1	1	0	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	1	0	3	0	0	0/3	0	0	1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	0	0	1	0	0	0	1	0/1	1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	0/1	0	2	1	0	0	0	0	0/1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	1	1	3	0	0	0	0	0	0	1
<i>Perophora listeri</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1
<i>Perophora multiclathrata</i>	0	0	2	0	0	?	0	0	0	1
<i>Perophora viridis</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Perophora</i> sp.	0	0/1	2/3	1	1	0	1	0	0	1

ESPÉCIE (cont.)	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
<i>Styela plicata</i>	0	0	0	1	1	0	0	-	0	0
<i>Aplidium lobatum</i>	?	?	?	?	?	?	0	-	0	3
<i>Clavelina picta</i>	0	0	0	?	?	0	0	-	?	3
<i>Clavelina oblonga</i>	0	0	0	?	?	0	0	-	?	3
<i>Agnezia glaciata</i>	0	2	0	1	0/1	0	0	-	0	3
<i>Caenagnesia bocki</i>	0	2	0	3	?	1	0	-	0	0
<i>Ascidia archaia</i>	0	0/1	0	1/3	0/1	0	0	-	0	1
<i>Ascidia bocatorensis</i>	0	0	0/1	1	0	0	0	-	0	2
<i>Ascidia ceratodes</i>	0/1	1	0/1	1	0/1	0	0	-	0	0/2
<i>Ascidia collini</i>	0	0/1	0/1	1	0	0	0	-	0	2
<i>Ascidia conchilega</i>	0	1	1	1	0	0	0	-	0	2
<i>Ascidia corallicola</i>	1	0	1	1/2	0	0	0	-	0	1/2
<i>Ascidia interrupta</i>	1/2	0	1	1	0	0	0	-	0	2
<i>Ascidia cf. liberata</i>	0	0/1	0/1	1/2	1	0	0	-	0	1/2
<i>Ascidia mentula</i>	0	0/1	1	1	0	0	0	-	1	1
<i>Ascidia monnioti</i>	1	0	0/1	1	0	0	0	-	1	1/2
<i>Ascidia cf. munda</i>	1	0	1	1	1	0	0	-	0	2
<i>Ascidia nordestina</i>	1	1	1	1	0	0	0	-	0	2
<i>Ascidia obliqua</i>	0	1	0	1/3	1/2	0	0	-	0	1
<i>Ascidia panamensis</i>	0/1	0	0/1	1	0	0	0	-	0/1	1
<i>Ascidia cf. papillata</i>	1	0/1	1	1/2	0/2	0	0	-	0	2
<i>Ascidia paulayi</i>	0	0	0	2	0/1	1	0	-	0	0/1
<i>Ascidia sydneyensis</i>	0	0/1	0	1/2	1/2	1	0	-	0	1
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	0/1	1/2	0/1	1	0/1	0	0	-	0	2
<i>Ascidia virginea</i>	0	1	1	1	0	0	0	-	0	1
<i>Ascidia viridina</i>	1	0/1	0/1	1/2	0/1	0	0	-	0/1	2
<i>Ascidia sp.</i>	1	0	1	1	0/1	0	0	-	0	0
<i>Ascidiella aspersa</i>	0	0/1	0	1	1	0	0	-	0	0
<i>Ascidiella scabra</i>	0	0	0	1	1	0	0	-	0	0
<i>Phallusia fragilis</i>	0	?	1	0	-	0	2	2	1	1
<i>Phallusia mammillata</i>	0	0	1	0	-	0	2	1	1	1/2
<i>Phallusia nigra</i>	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1
<i>Phallusia philippinensis</i>	1	0	1	1	0	0/1	1/2	1	1	1
<i>Ciona robusta</i>	0	0	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Ciona cf. savignyi</i>	0	1	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	0	0/1	0	1/3	0/1	1	0	-	0	3
<i>Corella eumyota</i>	0	1	0	?	?	?	0	-	?	3
<i>Corella minuta</i>	0	0/1	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Corella parallelogramma</i>	0	2	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Corynascidia suhmi</i>	?	?	0	?	?	?	0	-	?	3
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	0	1	0	1	0	1	0	-	1	3
<i>Rhodosoma turcicum</i>	0	0/1	0	1/3	0/1	0	0	-	0	3
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	1	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Hypobythius calycodes</i>	?	?	?	?	?	?	0	-	?	?
<i>Hypobythius moseleyi</i>	0	?	0	1	?	?	0	-	0	?
<i>Ecteinascidia conklini</i>	0	0/2	0	1/3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	0	1	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	0	0/2	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	0	0/2	0	1	0	0	0	-	0	3

ESPÉCIE (cont.)	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
<i>Ecteinascidia minuta</i>	0	1/2	0	1/3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	0	2	?	3	?	?	0	-	?	3
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	0	1/2	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	0	0/1	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	0	1	0	3	1	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	0	1/2	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	0	1	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	0	2	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	0	0	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	0	0/1	0	3	1	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	0	0/1	0	3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	0	1/2	0	1/3	0	0	0	-	0	3
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	0	1/2	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Perophora listeri</i>	0	0	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Perophora multiclathrata</i>	0	2	0	?	?	0	0	-	0	3
<i>Perophora viridis</i>	0	2	0	1	0	0	0	-	0	3
<i>Perophora</i> sp.	0	1/2	0	3	0	0	0	-	0	3

ESPÉCIE (cont.)	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
<i>Styela plicata</i>	0	0	0	0	3	2	2	1	1	-
<i>Aplidium lobatum</i>	?	?	0	?	0	?	?	-	0	?
<i>Clavelina picta</i>	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-
<i>Clavelina oblonga</i>	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-
<i>Agnezia glaciata</i>	0	0	0	0	0	2	0	2	0	1
<i>Caenagnesia bocki</i>	0	0	0	0	1	2	1	2	0	0
<i>Ascidia archaia</i>	1	0	1	3	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia bocatorensis</i>	1	0	1	1	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia ceratodes</i>	1	0	1	1	1/2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia collini</i>	1	0/1	1	2	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia conchilega</i>	1	1	1	3	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia corallicola</i>	1	0/1	1	0/1	2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia interrupta</i>	1	0/1	1	2	2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia cf. liberata</i>	1	0	1	3	2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia mentula</i>	1	0	1	3	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia monnioti</i>	1	0	1	2	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia cf. munda</i>	1	1	1	1	0	2	2	0	0	1
<i>Ascidia nordestina</i>	1	1	1	1	1	2	2	1	0	1
<i>Ascidia obliqua</i>	1	0	1	0	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia panamensis</i>	1	0	1	2	1/2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia cf. papillata</i>	1	1	1	2	1/2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia paulayi</i>	1	0	1	2	0	2	2	0	0	1
<i>Ascidia sydneyensis</i>	1	0	1	1/2	1/2	2	2	0	0	1
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	1	0	1	0	0	0/2	2	0	0	1
<i>Ascidia virginea</i>	1	1	1	2	1	2	2	0	1	1
<i>Ascidia viridina</i>	1	0/1	1	2	1	2	2	0	0	1
<i>Ascidia sp.</i>	1	0	1	1	2	2	2	0	0	1
<i>Ascidiella aspersa</i>	1	0	1	2/3	1/2	2	2	0	0	0
<i>Ascidiella scabra</i>	1	0	1	0	2	2	2	0	0	0
<i>Phallusia fragilis</i>	1	0	1	3	1/2	2	2	0	0	1
<i>Phallusia mammillata</i>	1	0	1	3	2	2	2	0	0	1
<i>Phallusia nigra</i>	1	0	1	2	1	2	2	0	0	1
<i>Phallusia philippinensis</i>	1	0	1	3	1	2	2	0	0	1
<i>Ciona robusta</i>	0	0	0	0	0	2	2	0	1	1
<i>Ciona cf. savignyi</i>	0	0	0	0	0	1/2	2	0	1	1
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0
<i>Corella eumyota</i>	?	0	0	3	1	2	2	0	0	0
<i>Corella minuta</i>	1	0	0	0	1	0	2	1	0	0
<i>Corella parallelogramma</i>	0	0	?	?	1	0	2	0	0	0
<i>Corynascidia suhmi</i>	?	?	?	?	0	?	2	1	0	0
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	?	?	?	?	0	?	2	?	0	0
<i>Rhodosoma turcicum</i>	0	0	1	3	0	0/2	2	0	0	0
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	0	0	0	0	0/1	2	0	0	0
<i>Hypobythius calycodes</i>	?	?	?	?	0	-	0	-	0	-
<i>Hypobythius moseleyi</i>	?	?	?	?	0	-	0	-	0	-
<i>Ecteinascidia conklini</i>	1	0	0	0	0	2	1/2	0/1	0	0
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	0	?	?	?	0	?	2	1/2	0	0
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	0	0	0	0	0	2	2	2	0	1
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	0	0	0	0	0	2	0/2	0/1	0	1

ESPÉCIE (cont.)	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
<i>Ecteinascidia minuta</i>	0	0	0	0	0	1/2	1/2	1/2	0	0
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	?	?	?	?	0	?	1/2	1/2	0	?
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	1	0	0	0	0	1/2	2	2	0	0
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	1	0	0	0	0	1/2	2	0/2	0	0
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	1	0	0	0	0	2	2	0/2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	0	0	0	0	0	1/2	2	1/2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	1	0	0	0	0	2	2	2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	0	0	0	0	0	1	2	1/2	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	0	0	0	0	0	1/2	1/2	0/2	0	0
<i>Perophora listeri</i>	0	0	0	0	0	?	0	2	0	1
<i>Perophora multiclathrata</i>	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
<i>Perophora viridis</i>	0	0	0	0	0	2	1/2	2	0	0
<i>Perophora</i> sp.	0	0	0	0	0	1/2	2	2	0	0

ESPÉCIE (cont.)	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
<i>Styela plicata</i>	-	0	0	1	0	0	2	2	1	1
<i>Aplidium lobatum</i>	?	?	0	1	0	3	0/1	-	0	2
<i>Clavelina picta</i>	-	0	0	-	0	3	1	-	1	0
<i>Clavelina oblonga</i>	-	0	0	-	0	3	2	-	0/1	0
<i>Agnezia glaciata</i>	0	0	1	1	0	0	1	0/1	0	0
<i>Caenagnesia bocki</i>	0	0	1	0/1	0	0	0	0	0	3
<i>Ascidia archaia</i>	0	1	0	0/1	1	0	1/2	1/2	0	1
<i>Ascidia bocatorensis</i>	0/2	0	0	1	0/1	0	1/2	1/2	0/1	1
<i>Ascidia ceratodes</i>	0/1	0	0	1	0	0	1/2	1/2	0/1	1
<i>Ascidia collini</i>	0/1	0	0	0/1	0/1	0	0/1	0/1	0	1
<i>Ascidia conchilega</i>	1	1	0	0	1	0	2	2	0	1
<i>Ascidia corallicola</i>	0/2	0	0	1	1	0	1	1	0/1	1
<i>Ascidia interrupta</i>	0/2	0	0	1	1	0	1/2	1/2	1	1
<i>Ascidia cf. liberata</i>	1/2	0	0	1	1	0	2	2	0/1	1
<i>Ascidia mentula</i>	0/1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
<i>Ascidia monnioti</i>	0/1	0	0	1	0/1	0	1	1	1	1
<i>Ascidia cf. munda</i>	2	0	0	1	0	0	1	1	1	1
<i>Ascidia nordestina</i>	1	1	0	0/1	1	0	2	2	0	1
<i>Ascidia obliqua</i>	0	0	0	0/1	0/1	0	2	2	0/1	1
<i>Ascidia panamensis</i>	0/1	0	0	1	0/1	0	1/2	1/2	0/1	1
<i>Ascidia cf. papillata</i>	1	1	0	1	1	0	2	2	0/1	1
<i>Ascidia paulayi</i>	0/1	0	0	0/1	0	0	1	1	1	1
<i>Ascidia sydneyensis</i>	1	0	0	1	0/1	0	2	2	1	1
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2	0/1	1
<i>Ascidia virginea</i>	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1
<i>Ascidia viridina</i>	0	0	0	0/1	0/1	0	1	1	?	1
<i>Ascidia sp.</i>	0/2	0	0	1	1	0	1	1	0/1	1
<i>Ascidiella aspersa</i>	0	0	0	1	0/1	0	1	1	0	1
<i>Ascidiella scabra</i>	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1
<i>Phallusia fragilis</i>	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
<i>Phallusia mammillata</i>	0/1	1	0	1	0	0	2	2	0	1
<i>Phallusia nigra</i>	0	0	0	1	1	0	2	2	1	?
<i>Phallusia philippinensis</i>	1	0/1	0	1	1	0	2	2	0/1	1
<i>Ciona robusta</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Ciona cf. savignyi</i>	1	0/1	0	1	0	0	0	0	0/1	1
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	0	0	1	0	0	1	2	2	0	3
<i>Corella eumyota</i>	0	0	1	0	2	1	2	2	0	1
<i>Corella minuta</i>	0	0	1	0	2	1	0/1	0/1	0	1
<i>Corella parallelogramma</i>	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1
<i>Corynascidia suhmi</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Rhodosoma turcicum</i>	0	0	0	0	0/1	1	1/2	1/2	0	1
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	0	0	0/1	0	3	1	1	0	1
<i>Hypobythius calycodes</i>	-	0	2	-	?	2	0	0	1	1
<i>Hypobythius moseleyi</i>	-	0	2	-	0	2	0	0	1	1
<i>Ecteinascidia conklini</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	0	0	0	0	?	0	0	0	?	0
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	0	0	0	0	0	0	0/1	0/1	0	0
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0

ESPÉCIE (cont.)	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
<i>Ecteinascidia minuta</i>	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2	0	0
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	0	?	0	0	?	0	0	0	1	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2	0	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2	0/1	1
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0/1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	0	0	0	0	0	0	1	1	0/1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0/1	2
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	0	0	0	0	0	0	1	1	0/1	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Perophora listeri</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Perophora multiclathrata</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Perophora viridis</i>	0	0	0	0	0	0	1/2	1/2	0	0
<i>Perophora</i> sp.	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0

ESPÉCIE (cont.)	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
<i>Styela plicata</i>	3	1	2	0	-	0	2	0	-	0
<i>Aplidium lobatum</i>	1/2	1	0	0	-	1	2	0	-	4
<i>Clavelina picta</i>	0	1	0	0	-	0	0	0	-	4
<i>Clavelina oblonga</i>	0	1	0	0	-	2	2	0	-	4
<i>Agnezia glaciata</i>	0	1	1	0	-	0	2	0	-	1
<i>Caenagnesia bocki</i>	?	1	1	0	-	0	2	0	-	1
<i>Ascidia archaia</i>	1	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidia bocatorensis</i>	3	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidia ceratodes</i>	2/3	1	2	0	-	0	0/1	1	1	1
<i>Ascidia collini</i>	1/2	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidia conchilega</i>	?	1	1	0	-	0	0	1	1	1
<i>Ascidia corallicola</i>	2	1	2	2	1	0	0/1	1	1	1
<i>Ascidia interrupta</i>	2/3	1	2	2	0/1	0	0	1	1	1
<i>Ascidia cf. liberata</i>	1/2	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidia mentula</i>	2	1	2	0	-	0	0	1	1	1
<i>Ascidia monnioti</i>	3	1	2	2	1	0	0/1	1	1	1
<i>Ascidia cf. munda</i>	2	1	2	2	0	0	0	?	?	1
<i>Ascidia nordestina</i>	1	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidia obliqua</i>	3	1	2	0	-	0	1	0	-	1
<i>Ascidia panamensis</i>	3	1	2	2	0	0	0	1	1	1
<i>Ascidia cf. papillata</i>	1/2	1	2	0	-	0	1	0	-	1
<i>Ascidia paulayi</i>	2	1	2	1	0	0	2	0	-	1
<i>Ascidia sydneyensis</i>	2	1	2	2	0	0	2	0/1	1	1
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	1/2	1	2	2	1	0	0/1	0	-	1
<i>Ascidia virginea</i>	1	1	2	0	-	0	1	0	-	1
<i>Ascidia viridina</i>	2	1	2	2	0	0	0/1	1	0/1	1
<i>Ascidia sp.</i>	2	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidiella aspersa</i>	2	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Ascidiella scabra</i>	2	1	2	0	-	0	1	1	1	1
<i>Phallusia fragilis</i>	1	1	1/2	2	1	0	0	0/1	0	1
<i>Phallusia mammillata</i>	3	1	2	0	-	0	0	1	1	1
<i>Phallusia nigra</i>	?	1	2	0	-	0	1/2	1	1	1
<i>Phallusia philippinensis</i>	3	1	2	0	-	0	1/2	?	?	1
<i>Ciona robusta</i>	3	1	2	0	-	0	2	0	-	1
<i>Ciona cf. savignyi</i>	3	1	1	0	-	0	2	0	-	1
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	?	1	2	0	-	0	2	0	-	2
<i>Corella eumyota</i>	3	1	2	0	-	0	0/2	0	-	2
<i>Corella minuta</i>	3	1	1	0	-	0	1	0	-	2
<i>Corella parallelogramma</i>	3	1	1	0	-	0	2	0	-	2
<i>Corynascidia suhmi</i>	?	1	1	0	-	0	2	0	-	2
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	3	1	1	0	-	0	2	0	-	2
<i>Rhodosoma turcicum</i>	3	1	2	0	-	0	2	0	-	2
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	3	1	0	0	-	0	2	0	-	4
<i>Hypobythius calycodes</i>	?	1	0	0	-	0	0	0	-	3
<i>Hypobythius moseleyi</i>	2	1	0	0	-	0	0	0	-	3
<i>Ecteinascidia conklini</i>	0	1	1	0	-	2	1	0	-	1
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	0	1	2	0	-	2	0	0	-	1
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	0	1	1	0	-	2	1	0	-	1
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	0	1	2	0	-	2	0	0	-	1

ESPÉCIE (cont.)	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
<i>Ecteinascidia minuta</i>	0	1	2	0	-	2	0	0	-	1
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	1	1	1	0	-	2	0	0	-	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	1	1	2	0	-	2	0/1	0	-	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	1	1	2	0	-	2	1	0	-	1
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	?	0	1	0	-	2	1	0	-	1
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	1	0	0	0	-	1	1	0	-	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	1	0	1	0	-	1	0/1	0	-	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	1	1	1	0	-	2	0	0	-	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	0	1	1	0	-	1	?	0	-	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	0	1	1	0	-	2	0	0	-	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	0	1	2	0	-	2	0	0	-	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	0	1	1	0	-	2	0	0	-	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	0	1	1	0	-	2	0	0	-	1
<i>Perophora listeri</i>	0	1	1	0	-	1	1	0	-	1
<i>Perophora multiclathrata</i>	1	1	1	0	-	1	?	0	-	1
<i>Perophora viridis</i>	0	1	1	0	-	2	1	0	-	1
<i>Perophora</i> sp.	0	1	0	0	-	2	0/1	0	-	1

ESPÉCIE (cont.)	81	82	83	84	85	86	87
<i>Styela plicata</i>	0	0	-	1	0	0	0
<i>Aplidium lobatum</i>	3	5	-	2	3	3	?
<i>Clavelina picta</i>	?	1	-	?	3	1	1
<i>Clavelina oblonga</i>	3	1	-	?	3	1	1
<i>Agnezia glaciata</i>	?	?	?	1	0	1/2	?
<i>Caenagnesia bocki</i>	?	1	?	0	0	1/2	?
<i>Ascidia archaia</i>	0	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia bocatorensis</i>	1	3	1	1	0	2	0
<i>Ascidia ceratodes</i>	1	3	0	1	0	2	0
<i>Ascidia collini</i>	2	4	0	0	0	2	0
<i>Ascidia conchilega</i>	2	4	0	0	0	2	0
<i>Ascidia corallicola</i>	1	1	0	1	0	2	-
<i>Ascidia interrupta</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia cf. liberata</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia mentula</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia monnioti</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia cf. munda</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia nordestina</i>	2	3	1	1	?	?	?
<i>Ascidia obliqua</i>	2	?	?	0	0	2	0
<i>Ascidia panamensis</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia cf. papillata</i>	2	3	1	1	0	2	0
<i>Ascidia paulayi</i>	2	3	0	2	?	?	?
<i>Ascidia sydneyensis</i>	2	4	0	2	0	2	0
<i>Ascidia cf. tapuni</i>	2	4	1	1	?	?	?
<i>Ascidia virginea</i>	1	4	1	2	0	2	0
<i>Ascidia viridina</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ascidia sp.</i>	1	1	1	1	0	2	0
<i>Ascidiella aspersa</i>	2	4	0	1	0	2	0
<i>Ascidiella scabra</i>	2	4	0	1	?	?	?
<i>Phallusia fragilis</i>	1	3	0/1	1	0	2	0
<i>Phallusia mammillata</i>	2	4	0	1	?	?	0
<i>Phallusia nigra</i>	2	3	1	1	0	2	0
<i>Phallusia philippinensis</i>	1	1	0	1	0	2	0
<i>Ciona robusta</i>	0	1	0	1	0	2	0
<i>Ciona cf. savignyi</i>	0	1	0	2	0	2	0
<i>Chelyosoma macleayanum</i>	2	4	0	1	0	2	0
<i>Corella eumyota</i>	?	?	?	?	0	2	1
<i>Corella minuta</i>	2	4	0	1	0	2	?
<i>Corella parallelogramma</i>	2	2	0	1	0	2	0
<i>Corynascidia suhmi</i>	?	1	0	2	3	2	?
<i>Abyssascidia wyvilli</i>	0	1	0	1	3	1/2	?
<i>Rhodosoma turcicum</i>	2	4	0	2	0	2	0
<i>Rhopalaea abdominalis</i>	0	1	-	?	0	?	?
<i>Hypobythius calycodes</i>	0	1	0	?	0	1	?
<i>Hypobythius moseleyi</i>	0	1	0	1	?	?	?
<i>Ecteinascidia conklini</i>	?	1	0	2	1	2	1
<i>Ecteinascidia faaopa</i>	3	1	0	?	3	1	2
<i>Ecteinascidia herdmani</i>	3	1	0	0	2	1/2	?
<i>Ecteinascidia longiducta</i>	3	1	0	0	1	1	1

ESPÉCIE (cont.)	81	82	83	84	85	86	87
<i>Ecteinascidia minuta</i>	?	?	?	?	1	1/2	?
<i>Ecteinascidia sluiteri</i>	3	1	0	?	?	1	?
<i>Ecteinascidia styeloides</i> A	3	1	0	2	1	2	1
<i>Ecteinascidia styeloides</i> B	3	1	0	2	2	1/2	?
<i>Ecteinascidia thurstoni</i>	3	1	0	?	?	1	?
<i>Ecteinascidia turbinata</i>	3	1	0	2	1	1	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	3	1	0	1	1	1	1
<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	?	?	?	?	?	?	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	?	?	?	?	?	?	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	?	?	?	?	?	?	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	3	1	0	0	3	1	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	3	1	0	0	?	1	?
<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	3	1	0	1	2	1	?
<i>Perophora listeri</i>	3	1	0	0	?	1	2
<i>Perophora multiclathrata</i>	3	1	0	?	3	1	1
<i>Perophora viridis</i>	3	1	0	0	1	1	1
<i>Perophora</i> sp.	3	1	0	2	3	1	?

Apêndice 02 – Caracteres morfológicos avaliados

DESCRIÇÃO DO CARACTER	ESTADOS
1. Hábito de vida	0. Solitário; 1. Colonial
2. Aspecto da colônia	0. Incrustante; 1. Em estolão; 2. Pedunculada
3. Proporção corporal comprimento/largura do indivíduo/zooide	0. > 1.0; 1. 1.0 - 1.5; 2. 1.51 - 2.0; 3. > 2.0
4. Local de fixação	0. Região posterior do corpo; 1. Lado esquerdo do corpo; 2. Lado direito do corpo
5. Transparência da túnica	0. Translúcida; 1. Opaca
6. Superfície da túnica	0. Lisa; 1. Rugosa
7. Consistência da túnica	0. Pergaminosa; 1. Gelatinosa; 2. Cartilaginosa; 3. Coriácea
8. Projeções na túnica	0. Ausência; 1. Projeções alongadas múltiplas (rizoidais ou espessas); 2. Pedúnculo; 3. Verrugas (arredondadas ou triangulares)
9. Incrustações na túnica	0. Ausência; 1. Presença
10. Divisões do corpo	0. Ausência (único); 1. Presença (tórax + abdome ou tórax + abdome + pós abdome)
11. Proporção comprimento sifão oral/sifão atrial	0. < 0.9; 1. entre 0.9 e 1.1; 2. > 1.1
12. Número de lobos no sifão oral	0. 0; 1. 4 – 6; 2. 7 – 9; 3. > 9
13. Número de lobos no sifão atrial	0. 0; 1. 4 – 7; 2. > 7
14. Posição do sifão atrial em relação ao comprimento do corpo	0. 1/3 anterior; 1. central; 2. 1/3 posterior
15. Projeções filiformes na margem do lobo do sifão oral	0. Ausência; 1. Presença
16. Projeções filiformes na margem do lobo do sifão atrial	0. Ausência; 1. Presença
17. Ocelos entre os lobos dos sifões	0. Ausência; 1. Presença
18. Pigmentação na parede do corpo após fixação	0. Ausente; 1. Só no sifão oral; 2. Em ambos os sifões; 3. Nos sifões e na parede do corpo; 4. Na parede do corpo
19. Musculatura longitudinal do sifão oral	0. Ausente; 1. Não organizada em feixes; 2. Organizada em feixes
20. Musculatura circular do sifão oral	0. Ausente; 1. Frouxa; 2. Densa
21. Musculatura circular do sifão atrial	0. Ausente; 1. Frouxa; 2. Densa
22. Prolongamento das fibras musculares longitudinais do sifão oral pela parede do corpo no lado direito	0. Ausência; 1. Curtas ($\leq 1/4$ do comprimento do corpo); 2. Longas ($> 1/4$ do comprimento do corpo)

DESCRIÇÃO DO CARACTER	ESTADOS (cont.)
23. Fibras musculares formando uma rede do lado direito do corpo	0. Ausência; 1. Presença
24. Fibras musculares oblíquas partir da margem dorsal do lado direito do corpo	0. Ausência; 1. Presença
25. Comprimento das fibras musculares oblíquas ou perpendiculares à margem dorsal no lado direito do corpo	0. Ausência; 1. Curtas ($\leq 1/3$ da largura corporal); 2. Longas ($> 1/3$ da largura corporal, mas sem alcançar o endóstilo); 3. Transversais completas (alcançam o endóstilo)
26. Distribuição das fibras musculares oblíquas ou perpendiculares ao longo da margem dorsal, no lado direito do corpo	0. Incompleta (ausente em parte do corpo); 1. Completa (ao longo de toda a margem dorsal)
27. Fibras musculares curtas ($< \text{ou} = 1/3$ da largura do corpo) perpendiculares à margem ventral do lado direito do corpo	0. Ausência; 1. Presença
28. Fibras musculares curtas ($< \text{ou} = 1/3$ da largura do corpo) perpendiculares à margem posterior do lado direito do corpo	0. Ausência; 1. Presença
29. Comprimento máximo das fibras longitudinais do lado esquerdo do corpo	0. Ausência; 1. Curtas ($\leq 1/4$ anterior do corpo); 2. Longas ($> 1/4$ anterior do corpo)
30. Fibras musculares formando uma rede do lado esquerdo do corpo	0. Ausência; 1. Presença
31. Fibras musculares oblíquas partir da margem dorsal do lado esquerdo do corpo	0. Ausência; 1. Presença
32. Fibras musculares transversais completas entre a margem dorsal e ventral, na região anterior do lado esquerdo do corpo	0. Ausência; 1. Presença
33. Comprimento das fibras musculares dorsais no lado esquerdo do corpo	0. Ausência; 1. Curtas ($\leq 1/3$ da largura corporal); 2. Longas ($> 1/3$ da largura corporal, mas sem alcançar o endóstilo); 3. Transversais completas (alcançam o endóstilo)
34. Distribuição das fibras musculares ao longo da margem dorsal, no lado esquerdo do corpo	0. Incompleta (ausente em parte do corpo); 1. Completa (ao longo de toda a margem dorsal)
35. Fibras musculares curtas ($< \text{ou} = 1/3$ da largura do corpo) perpendiculares à margem ventral do lado esquerdo do corpo	0. Ausência; 1. Presença
36. Parede interna do sifão oral	0. Lisa; 1. Com papilas arredondadas; 2. Com projeções aculiformes; 3. Com membrana
37. Número máximo de tentáculos orais	0. ≤ 30 ; 1. > 30 e ≤ 70 ; 2. > 70 e ≤ 100 ; 3. > 100

DESCRIÇÃO DO CARACTER	ESTADOS (cont.)
38. Número de ordens de tamanho de tentáculos orais	0. 2 – 3; 1. 4 – 5
39. Inserção dos tentáculos orais	0. Diretamente na parede do corpo; 1. Em anel muscular; 2. Em uma membrana
40. Anel ciliado	0. Simples; 1. Duplo
41. Projeções no anel ciliado	0. Ausência; 1. Presença
42. Proporção distância entre o anel ciliado e o anel de tentáculos/comprimento do corpo	0. < 0.03; 1. ≥ 0.03 e < 0.06; 2. ≥ 0.06
43. Papilas entre anel ciliado e anel de tentáculos orais	0. Ausência; 1. Presença
44. Abertura do tubérculo dorsal	0. Ausência; 1. Em ferradura (com ou sem pontas enroladas); 2. Meandriforme; 3. Em fenda (horizontal ou vertical)
45. Proporção comprimento ântero-posterior do tubérculo dorsal/comprimento do corpo	0. ≤ 0.02 ; 1. entre 0.02 e 0.05; 2. ≥ 0.05
46. Área peritubercular	0. Curta; 1. Longa
47. Aberturas acessórias	0. Ausência; 1. Poucas (menos que 50); 2. Muitas (mais que 50)
48. Posição das aberturas acessórias	0. Agrupadas próximo ao tubérculo dorsal; 1. Ao longo da região entre o tubérculo dorsal e o gânglio nervoso; 2. Agrupadas próximo ao gânglio nervoso
49. Posição do gânglio nervoso	0. Anterior à metade da distância entre os sífões; 1. Posterior à metade da distância entre os sífões
50. Aparência da lâmina dorsal	0. Lisa; 1. Serrilhada, apenas pelo prolongamentos dos vasos transversais; 2. Serrilhada, pelo prolongamento dos vasos transversais e próprio; 3. Subdividida em linguetas
51. Lâmina dorsal dupla anteriormente	0. Ausência; 1. Presença
52. Papilas na face direita da lâmina dorsal, próximo à abertura esofágica	0. Ausência; 1. Presença
53. Local onde a lâmina dorsal termina	0. Anterior ou na altura da abertura do esôfago; 1. Posterior à abertura do esôfago
54. Projeção à direita da abertura esofágica	0. Ausência; 1. Lâmina lisa; 2. Lâmina serrilhada; 3. Linguetas
55. Aparência da faringe	0. Lisa; 1. Pouco plicada (1/2 a 1 dobra por malha); 2. Muito plicada (1 1/2 a 2 dobras por malha); 3. Com pregas
56. Proporção entre as distâncias da 1º papila e a lâmina dorsal (direito/esquerdo)	0. < 1; 1. = 1; 2. > 1

DESCRIÇÃO DO CARACTER	ESTADOS (cont.)
57. Vasos longitudinais	0. Ausência; 1. Incompletos; 2. Completos
58. Proporção número de vasos longitudinais/papilas do lado direito / número de vasos transversais	0. < 0.9; 1. entre 0.9 e 1.1; 2. > 1.1
59. Vasos parastigmáticos	0. Ausência; 1. Presença
60. Posição das papilas primárias	0. Sob os vasos longitudinais; 1. Projetando-se no lúmen da faringe
61. Formato das papilas primárias	0. Simples; 1. Bilobadas; 2. Trilobadas
62. Papilas intermediárias	0. Ausência; 1. Presença
63. Fendas faríngeas	0. Retas; 1. Em espiral; 2. Em círculo
64. Número de fendas retas por malha ou número de voltas da espiral	0. ≤ 5; 1. > 5
65. Margem do endóstilo	0. Lisa; 1. Com papilas; 2. Com projeções filiformes
66. Localização do tubo digestivo	0. Lado esquerdo do corpo; 1. Lado direito do corpo; 2. Região dorsal do corpo; 3. Posterior ao tórax
67. Posição do tubo digestivo em relação ao comprimento do corpo	0. Até 1/3 do corpo; 1. Metade; 2. Cerca de 2/3 ou mais
68. Tamanho relativo do tubo digestivo	0. Menor que a metade da área da parede do corpo; 1. Aproximadamente metade da área da parede do corpo; 2. Maior que a metade da área da parede do corpo
69. Proporção comprimento/largura do estômago	0. ≤ 1.5; 1. > 1.5
70. Parede do estômago	0. Lisa; 1. Com pregas internas; 2. Com pregas externas; 3. Areolada
71. Número de pregas no estômago	0. 0; 1. > 0 e ≤ 5; 2. > 5 e ≤ 10; 3. > 10
72. Alça intestinal primária	0. Aberta; 1. Fechada
73. Alça intestinal secundária	0. Ausente; 1. Aberta; 2. Fechada
74. Dilatação no intestino	0. Ausência; 1. Só na porção descendente; 2. Na porção descendente e na alça secundária
75. Formato da dilatação	0. Saculiforme; 1. Não saculiforme
76. Número de constrições no intestino	0. 0; 1. 1; 2. 2
77. Margem do ânus	0. Lisa; 1. Bilobada; 2. Multilobada
78. Vesículas renais	0. Ausência; 1. Presença
79. Posição das vesículas renais	0. Sobre o intestino; 1. Sobre estômago e intestino

DESCRIÇÃO DO CARACTER	ESTADOS (cont.)
80. Posição das gônadas	0. Em ambos os lados do corpo; 1. Lado esquerdo do corpo; 2. Lado direito do corpo; 3. Região dorsal do corpo; 4. Posterior à faringe
81. Formato do ovário	0. Saculiforme único; 1. Lobado; 2. Ramificado; 3. Ovócitos agrupados
82. Posição do ovário	0. Associadas à parede do corpo e não ao tubo digestivo; 1. Inserido na alça intestinal primária; 2. Inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre a porção ascendente do intestino; 3. Inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre a porção descendente do intestino; 4. Inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre as porções ascendente e descendente do intestino; 5. Posterior ao tubo digestivo
83. Ovário inserido na alça intestinal secundária	0. Ausência; 1. Presença
84. Diâmetro dos maiores ovócitos	0. ≤ 0.1 mm; 1. entre 0.1 mm e 0.2 mm; 2. > 0.2 mm
85. Formato do testículo	0. Ramificado; 1. Folículos em C; 2. Folículos em círculo; 3. Massa compacta
86. Posição do testículo	0. Associado a parede do corpo e não ao tubo digestivo; 1. Inserido na alça intestinal primária; 2. Recobrimdo o tubo digestivo; 3. Posterior ao tubo digestivo
87. Incubação de larvas	0. Ausência; 1. Na cavidade atrial; 2. No oviduto

Apêndice 03 – Protocolos de Amplificação de DNA

Gene: COI	Primer: LCO-HCO	Protocolo ASCCOI
Kit de PCR: GoTaq e Beads	Volume da amostra: 25µL	Número de ciclos: 35
Passo	Temperatura	Tempo
Desnaturação Inicial	94°C	120 segundos
Desnaturação	94°C	60 segundos
Anelamento	39°C	60 segundos
Extensão	72°C	90 segundos
Extensão Final	72°C	420 segundos

Gene: COI	Primer: LCO-HCO	Protocolo ASCCOIAM
Kit de PCR: AmpliTaq Gold	Volume da amostra: 25µL	Número de ciclos: 35
Passo	Temperatura	Tempo
Desnaturação Inicial	95°C	600 segundos
Desnaturação	95°C	30 segundos
Anelamento	40°C	30 segundos
Extensão	72°C	60 segundos
Extensão Final	72°C	420 segundos

Gene: 18S, fragmento S1-S4	Primer: 18S1-18S4	Protocolo 18S1S4
Kit de PCR: GoTaq	Volume da amostra: 25µL	Número de ciclos: 35
Passo	Temperatura	Tempo
Desnaturação Inicial	94°C	60 segundos
Desnaturação	94°C	30 segundos
Anelamento	52°C	30 segundos
Extensão	72°C	120 segundos
Extensão Final	72°C	300 segundos

Gene: 18S, fragmento S1-S4	Primer: 18S1-18S4	Protocolo 18S1S4AM
Kit de PCR: AmpliTaq	Volume da amostra: 25µL	Número de ciclos: 35
Passo	Temperatura	Tempo
Desnaturação Inicial	95°C	600 segundos
Desnaturação	95°C	30 segundos
Anelamento	52°C	30 segundos
Extensão	72°C	120 segundos
Extensão Final	72°C	420 segundos

CAPÍTULO II

TAXONOMIA DE PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA, ASCIDIACEA)

Resumo

Phlebobranchia é uma das três ordens de Ascidiacea, sendo caracterizada pela presença de tentáculos orais simples, faringe sem pregas e gônadas associadas ao trato digestório. Presente ao redor do mundo inteiro e nas mais variadas profundidades, é a ordem com menor número de espécies descritas, porém é também a que apresenta maior variabilidade morfológica. Para muitas espécies as descrições existentes são muito sucintas o que frequentemente ocasiona equívocos taxonômicos. Assim, com o objetivo de revisar a taxonomia do grupo foram redescritas 62 espécies de cinco famílias de Phlebobranchia. Foram encontradas cinco espécies novas (uma de Ascidiidae, já publicada, e quatro de Perophoridae, com o manuscrito em preparação), além de cinco morfotipos que não puderam ainda ser identificados.

Palavras chave: Agneziidae, Ascidiidae, Corellidae, Hypobythiidae, Perophoridae, morfologia, revisão taxonômica

CHAPTER II

TAXONOMY OF PHLEBOBRANCHIA (TUNICATA, ASCIDIACEA)

Abstract

Phlebobranchia, one of the three orders of Ascidiacea, is characterized by its simple oral tentacles, pharynx not folded, and gonads associated with the digestory tube. Despite being the less speciose order, species of Phlebobranchia can be found all around the world, from shallow water to the deep-sea, and it has the largest morphological variability among ascidians. The brief and inadequate descriptions available for many species have led to many taxonomic mistakes. In order to clarify the taxonomy of the group, 62 species of five phlebobranch families were dissected and redescribed. Five new species were detected (one of Ascidiidae, published in the last year, and four of Perophoridae, manuscript in progress), and there are five morphotypes unidentified.

Key words: Agneziidae, Ascidiidae, Corellidae, Hypobythiidae, Perophoridae, morphology, taxonomic revision

INTRODUÇÃO

A classe Ascidiacea (Chordata: Tunicata) é a maior e mais diversa dentre os tunicados, com aproximadamente 2874 espécies descritas (Appeltans *et al.* 2012), porém esse número vem aumentando ano a ano. As ascídias são animais marinhos sésseis, de hábito solitário ou colonial, filtradores e hermafroditas. Seu tempo de vida larval é relativamente curto (de poucos minutos a algumas horas), sendo esta a única fase livre-natante, o que torna sua capacidade de dispersão natural bastante limitada. Apesar disso, espécies de ascídias podem ser encontradas em todas as partes do mundo: do Ártico a Antártida, desde zonas entremarés a profundidades abissais.

A classificação mais usual de Ascidiacea foi proposta por Lahille no século XIX, baseada na estrutura da faringe uma vez que esta havia sido considerada o órgão mais importante das ascídias por M. Lacaze-Duthiers, um importante ascidiólogo da época (Lahille 1886). Lahille propôs três ordens: Aplousobranchia (faringe simples, sem vasos ou pregas), Phlebobranchia (faringe lisa, com vasos longitudinais completos ou incompletos) e Stolidobranchia (faringe com vasos longitudinais completos e pregas) (Lahille 1886).

Dentre os três táxons, Phlebobranchia é o que apresenta menor número de espécies (372) (<http://www.marinespecies.org/>), porém seus representantes encontram-se distribuídos por todos os mares e oceanos, nas mais variadas profundidades. Apesar de se tratar de um táxon com menor número de espécies, Phlebobranchia é o que possui maior variação morfológica entre seus gêneros e famílias. Todos são caracterizados pela presença de tentáculos orais simples, faringe sem pregas e gônadas associadas ao tubo digestório (Van Name 1945; Berrill 1950). No entanto há espécies solitárias e coloniais, com corpo único ou dividido por uma constrição em tórax e abdome, com fendas faríngeas retas ou em espiral, e variado no posicionamento das vísceras (à esquerda, direita, dorsal ou posterior) (Van Name 1945; Berrill 1950).

Essa grande variação morfológica resulta em dúvidas quanto a classificação das famílias, se são ou não pertencentes a Phlebobranchia. Inicialmente o grupo foi dividido em sete famílias: Agneziidae, Ascidiidae, Cionidae, Corellidae, Diazonidae, Hypobythiidae e Perophoridae (Berrill 1950). Posteriormente, três novas famílias foram criadas e acrescentadas: Dimeatidae, Octacnemidae e Plurellidae (Kott 1985; Sanamyan 2001). Entretanto, a permanência de Cionidae e Diazonidae dentro de Phlebobranchia é

bastante controversa, sendo questionada por Kott (1990) e por dados de filogenia (ver capítulo I desta mesma tese). Apesar das espécies de ambas as famílias possuírem faringe com vasos longitudinais completos, tanto Cionidae quanto Diazonidae apresentam epicárdio com função regenerativa de órgãos ou tecidos (no caso de Diazonidae, o epicárdio também é o responsável pela reprodução assexuada das espécies coloniais) e vanádio em estado de oxidação IV (em Phlebobranchia o vanádio está em estado de oxidação III), características de Aplousobranchia (Hawkins *et al.* 1983; Kott 1990). O fato de Diazonidae ser o único grupo de Phlebobranchia que apresenta o corpo dividido em tórax e abdome, também comum em Aplousobranchia, reforça ainda mais a hipótese de que o grupo está mal alocado.

Além dessa grande diversidade de formas encontrada, a própria taxonomia do grupo apresenta problemas. Muitas descrições são bastante incompletas, sendo baseadas apenas em poucos caracteres, como no caso de *Ecteinascidia conklini* Berrill, 1932 (Berrill 1932). Em outros casos, caracteres muito específicos acabam sendo usados como únicas fontes de identificação, criando complexos de espécies ou identificações equivocadas. Esse tipo de engano foi reconhecido recentemente para *Phallusia nigra* Savigny, 1816, cuja túnica escura e lisa considerada tão característica na realidade encobria três espécies: *P. nigra*, *P. fumigata* (Grube, 1864) e *P. philippinensis* Millar, 1975 (Vandepas *et al.* 2015). E há ainda casos em que a falta de registros históricos de uma determinada espécie para o local leva à criação de uma nova espécie sem que seja feita uma revisão detalhada da bibliografia já existente para o gênero ao redor do mundo. Esse foi o caso de *Ascidia corelloides* (Van Name, 1924), descrita como uma espécie caribenha que, ao ser comparada com espécimes provenientes do Japão e da Austrália, foi reconhecida como sinônimo menor de *Ascidia archaia* Sluiter, 1890 (Kott 1985). Essa grande dificuldade em identificar corretamente as espécies de Phlebobranchia pode ser facilmente notada pelo grande número de sinonimizações registradas ao longo dos tempos (<http://www.marinespecies.org/>).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo principal a revisão e redescrição do maior número de espécies de Phlebobranchia possível a fim de tornar mais clara a identificação das mesmas. A observação de tipos (sempre que possível), de amostras de diferentes localidades e a comparação com a literatura pertinente ajudaram a resolver as dúvidas sobre possíveis variações intraespecíficas. Secundariamente, a descrição de

novas espécies passou a ser também um objetivo, a medida em que as mesmas foram sendo reconhecidas.

MATERIAL & MÉTODOS

Foram analisados espécimes coletados entre 1866 e 2013, desde a zona entremarés até grandes profundidades, abrangendo os oceanos Atlântico, Índico, Pacífico, Antártico e Ártico, além do Mar Báltico e Mar Mediterrâneo. As amostras correspondem a cinco das oito famílias de Phlebobranchia (Agneziidae, Ascidiidae, Corellidae, Hypobythiidae e Perophoridae). Além dessas, espécies de Cionidae e Diazonidae também foram avaliadas por serem tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia, apesar de que tal hipótese não foi corroborada por análises filogenéticas (ver capítulo I desta mesma tese). As espécies estudadas bem como os países de onde os exemplares são provenientes podem ser observadas na Tabela 1.

As amostras dissecadas pertencem às seguintes instituições:

ColBIO: Coleção Biológica Prof. Edmundo Nonato, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo

MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

DZUP: Coleção de Ascidiacea da Universidade Federal do Paraná

FMNH: Florida Museum of Natural History (EUA)

NHM: Natural History Museum of London (Reino Unido)

MNHN: Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris, França)

Cada espécime foi estudado em microscópio estereoscópio, tendo sido analisados caracteres externos e internos; estes últimos foram evidenciados com corante hematoxilina de Harris. As dissecações seguiram o procedimento sugerido por Monniot C. & Monniot F. (1972). No caso de espécies coloniais, foram feitas lâminas permanentes dos zooides e levadas ao microscópio ótico a fim de facilitar a observação dos caracteres. Informações a respeito de cor em vida e tipo de substrato onde vivem foram obtidas a partir das próprias etiquetas de coleta (no caso de amostras ainda não identificadas) ou de tombo (para aquelas que já fazem parte de alguma coleção), ou ainda de bibliografia. Medições de estruturas foram feitas sob microscópio, com auxílio de um retículo micrométrico acoplado na ocular. Sempre que possível, as principais estruturas de cada animal foram fotografadas.

Tabela 1. Lista de espécies analisadas. Os números entre parênteses correspondem ao número de gêneros reconhecidos em cada família e ao número de espécies conhecidas dentro de cada gênero analisado.

*Famílias tradicionalmente parte de Phlebobranchia, porém cuja validade é duvidosa.

FAMÍLIA	GÊNERO	ESPÉCIE	CÓDIGO DA COLEÇÃO	ÁREA DE COLETA
Agneziidae (05)	<i>Agnezia</i> (13)	<i>A. glaciata</i> Michaelsen, 1898	NHM 1960.10.13.52	Argentina
	<i>Caenagnesia</i> (03)	<i>C. bocki</i> Ärnback-Christie-Linde, 1938	NHM 1960.10.13.518	Palmer Archipelago
Asciidiidae (05)	<i>Ascidia</i> (129)	<i>A. archaia</i> Sluiter, 1890	DZUP ASC 58; DZUP ASC 185	Panamá (Atlântico e Pacífico)
		<i>A. bocatorensis</i> Bonnet & Rocha, 2011	DZUP ASC 144; DZUP ASC 145; DZUP ASC 146	Panamá (Atlântico)
		<i>A. ceratodes</i> (Huntsman, 1912)	DZUP ASC 51; DZUP ASC 52; DZUP ASC 53; DZUP ASC 54; DZUP ASC 184; DZUP ASC 187	Panamá (Pacífico)
		<i>A. collini</i> Bonnet & Rocha, 2011	MZUSP 00014; DZUP ASC 140; DZUP ASC 141; DZUP ASC 139	Panamá (Atlântico)
		<i>A. conchilega</i> Müller, 1776	DZUP ASC 172	Suécia
		<i>A. corallicola</i> Bonnet & Rocha, 2011	MZUSP 00017; MZUSP 00018; DZUP ASC 126; DZUP ASC 128; DZUP ASC 130; DZUP ASC 127; DZUP ASC 129	Panamá (Atlântico)
		<i>A. interrupta</i> Heller, 1878	DZUP ASC 75; DZUP ASC 70; DZUP ASC 26; DZUP ASC 76; DZUP ASC 69	Panamá (Atlântico)
		<i>A. cf. liberata</i>	DZUP ASC 55; DZUP ASC 56; DZUP ASC 57	Panamá (Pacífico)
	<i>A. mentula</i> Müller, 1776	NHM 1898.5.7.283; DZUP ASC 20	Escócia, Espanha	

Tabela 1. Lista de espécies analisadas. Os números entre parênteses correspondem ao número de gêneros reconhecidos em cada família e ao número de espécies conhecidas dentro de cada gênero analisado. (cont.)

<i>A. monnioti</i> Bonnet & Rocha, 2011	MZUSP 00019; MZUSP 00020; DZUP ASC 136; DZUP ASC 137; DZUP ASC 133; DZUP ASC 132; DZUP ASC 135; DZUP ASC 134; DZUP ASC 138	Panamá (Atlântico)
<i>A. cf. munda</i>	DZUP ASC 158	Panamá (Atlântico)
<i>A. nordestina</i> Bonnet & Rocha, 2011	DZUP ASC 176	Brasil
<i>A. obliqua</i> Alder, 1863	DZUP ASC 168; DZUP ASC 169; DZUP ASC 170	Suécia
<i>A. panamensis</i> Bonnet & Rocha, 2011	MZUSP 00021; DZUP ASC 91; DZUP ASC 32; MZUSP 00023; DZUP ASC 33; DZUP ASC 34; MZUSP 00022; DZUP ASC 90	Panamá (Atlântico)
<i>A. cf. papillata</i>	ColBIO-TUN 224; DZUP ASC 196	Brasil
<i>A. paulayi</i> Bonnet & Lotufo, 2015	FLMNH UF 787; FLMNH UF 788; FLMNH UF 802	Polinésia Francesa
<i>A. sydneyensis</i> Stimpson, 1855	ColBIO-TUN 54-55-6-11-17; ColBIO-TUN 12-093	Brasil
<i>A. cf. tapuni</i>	DZUP ASC 49; DZUP ASC 182; DZUP ASC 186	Brasil
<i>A. virginea</i> Müller, 1776	DZUP ASC 166	Suécia

Tabela 1. Lista de espécies analisadas. Os números entre parênteses correspondem ao número de gêneros reconhecidos em cada família e ao número de espécies conhecidas dentro de cada gênero analisado. (cont.)

		<i>A. viridina</i> Paiva <i>et al.</i> , 2015	ColBIO-TUN 519; ColBIO-TUN 472; ColBIO-TUN 485; MZUSP 00119; MZUSP 00116; ColBIO-TUN 1076; ColBIO-TUN 1307	Brasil
		<i>Ascidia</i> sp.	DZUP ASC 193; DZUP ASC 194	Panamá (Pacífico)
	<i>Ascidella</i> (03)	<i>A. aspersa</i> (Müller, 1776)	DZUP ASCD 01; DZUP ASCD 04	França, Suécia
		<i>A. scabra</i> (Müller, 1776)	DZUP ASCD 02; DZUP ASCD 03	Suécia
	<i>Phallusia</i> (19)	<i>P. fragilis</i> Bonnet & Rocha, 2011	DZUP PHA 17; DZUP PHA 18; DZUP PHA 22; DZUP PHA 20	Panamá (Atlântico)
		<i>P. mammillata</i> (Cuvier, 1815)	DZUP PHA 08	França
		<i>P. nigra</i> Savigny, 1816	ColBIO-TUN 24-57	Brasil
		<i>P. philippinensis</i> Millar, 1975	DZUP PHA 30; DZUP PHA 31; DZUP PHA 32; DZUP PHA 39	Taiwan, Japão, Singapura, EUA
*Cionidae (03)	<i>Ciona</i> (15)	<i>Ciona robusta</i> Hoshino & Tokioka, 1967	DZUP CIO 04	Brasil
		<i>Ciona</i> cf. <i>savignyi</i>	DZUP CIO 03; DZUP CIO 05	Canadá, França
Corellidae (11)	<i>Abyssascidia</i> (03)	<i>A. wyvilli</i> Herdman, 1880	NHM 1887.2.4.136	Austrália
	<i>Chelyosoma</i> (09)	<i>C. macleayanum</i> Broderip & Sowerby, 1830	NHM 1965.8.19.2-8	Noruega
	<i>Corella</i> (11)	<i>C. eumyota</i> Traustedt, 1882	NHM 1910.6.17.16	Ilhas Malvinas
		<i>C. minuta</i> Traustedt, 1882	DZUP COR 04	Panamá (Atlântico)

Tabela 1. Lista de espécies analisadas. Os números entre parênteses correspondem ao número de gêneros reconhecidos em cada família e ao número de espécies conhecidas dentro de cada gênero analisado. (cont.)

		<i>C. parallelogramma</i> (Müller, 1776)	DZUP COR 01	Suécia
	<i>Corynascidia</i> (10)	<i>C. suhmi</i> Herdman, 1882	NHM 1887.2.4.129-30	Oceano Índico
	<i>Rhodosoma</i> (02)	<i>R. turcicum</i> (Savigny, 1816)	DZUP RHO 01; DZUP RHO 03; DZUP RHO 04; DZUP RHO 05; DZUP RHO 07; UF 845; AC 01; CIDRO 153-297	Panamá (Atlântico), Brasil, Mariana Islands
*Diazonidae (05)	<i>Rhopalaea</i> (20)	<i>R. abdominalis</i> (Sluiter, 1898)	DZUP RHOP 07; DZUP RHOP 11	Panamá (Atlântico)
	<i>Tylobranchion</i> (03)	<i>T. speciosum</i> Herdman, 1886	DZUP DIAZ 03	Expedição PROANTAR XVI
Hypobythiidae (01)	<i>Hypobythius</i> (02)	<i>H. calycodes</i> Moseley, 1876	NHM 1887.2.4.180	Oceano Pacífico
		<i>H. moseleyi</i> Herdman, 1882	NHM 1887.2.4.181	Argentina
Perophoridae (01)	<i>Ecteinascidia</i> (29)	<i>E. conklini</i> Berrill, 1932	NHM 1932.2.9.2; MNHN P2 ECT 47; MNHN P2 47	Bermudas, Antilhas Francesas
		<i>E. faaopa</i> Monniot & Monniot, 1987	MNHN P2 ECT 37	Polinésia Francesa
		<i>E. herdmani</i> (Lahille, 1887)	MNHN P2 76; MNHN P2 78; MNHN P2 ECT 04	Açores
		<i>E. longiducta</i> Monniot, 1978	MNHN P2 114; MNHN P2 126; MNHN P2 ECT 08	Ilê de Saint-Paul
		<i>E. minuta</i> Berrill, 1932	DZUP ECT (11); MNHN P2 ECT 28; MNHN P2 161	Guadalupe, Panamá (Atlântico)
		<i>E. sluiteri</i> Herdman, 1906	NHM 1907.8.30.2	Sri Lanka

Tabela 1. Lista de espécies analisadas. Os números entre parênteses correspondem ao número de gêneros reconhecidos em cada família e ao número de espécies conhecidas dentro de cada gênero analisado. (cont.)

	<i>E. cf. styeloides</i> A	ColBIO-TUN 36; ColBIO-TUN 37; DZUP ECT 09; DZUP ECT (157); MNHN P2 169; MNHN P2 170; MNHN P2 172	Porto Rico, Guadalupe, Panamá (Atlântico), Brasil
	<i>E. cf. styeloides</i> B	ColBIO-TUN CE-19; ColBIO-TUN CE-118; ColBIO-TUN 165; ColBIO-TUN 271; MNHN P2 ECT 27; MNHN P2 174	Guadalupe, Brasil
	<i>E. thurstoni</i> Herdman, 1890	NHM 1956.10.17.5	Índia
	<i>E. turbinata</i> Herdman, 1880	NHM 1887.2.4.188-200; DZUP ECT 10; DZUP ECT 11; UF 1379	Bermudas, Cuba, Antilhas Francesas, Panamá (Atlântico)
	<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 1	ColBIO-TUN 433; ColBIO-TUN 01; DZUP ECT 12; DZUP ECT 13; DZUP ECT 15; DZUP ECT 16; UFPB TUN 200	Brasil
	<i>Ecteinascidia</i> sp. 2	ColBIO-TUN 586	Brasil
	<i>Ecteinascidia</i> sp. 3	ColBIO-TUN 62B	Brasil
	<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 4	122; DZUP ECT 14	Brasil
	<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 5	DZUP ECT (39); DZUP ECT (18)	Panamá (Atlântico)
	<i>Ecteinascidia</i> sp. nov. 6	15, 22, 35, 37	Brasil
	<i>Ecteinascidia</i> sp. 7	MNHN P2 49; MNHN P2 50; MNHN P2 103; MNHN P2 104; MNHN P2 106	Bermudas
<i>Perophora</i> (22)	<i>P. listeri</i> Wiegman, 1835	NHM 1898.5.7.306	Inglaterra

Tabela 1. Lista de espécies analisadas. Os números entre parênteses correspondem ao número de gêneros reconhecidos em cada família e ao número de espécies conhecidas dentro de cada gênero analisado. (cont.)

<i>P. multiclathrata</i> (Sluiter, 1904)	DZUP PER 1.2; DZUP PEROPH 1.4	Brasil
<i>P. viridis</i> Verrill, 1871	DZUP PERO (48); DZUP PERO 24; DZUP PEROPH 07	Panamá (Atlântico), Brasil
<i>Perophora</i> sp.	DZUP PERO 16; DZUP PEROPH 13; DZUP PERO 18; DZUP PEROPH 11	Brasil

A ausência de chaves específicas para cada gênero dificulta a identificação de espécies. Por isso elaborou-se previamente uma ficha de caracteres que foi preenchida individualmente para cada exemplar dissecado, facilitando a comparação com as descrições já publicadas. Essa ficha foi criada a partir de informações obtidas na literatura e completada conforme se notou a necessidade durante as pesquisas. A lista completa de caracteres avaliados pode ser observada na Tabela 02. Pranchas ilustrativas de alguns dos caracteres estão disponíveis a seguir (Figuras 01-08). Sempre que possível as estruturas foram medidas, sendo apresentados nas descrições os menores e maiores valores, refletindo os menores e maiores indivíduos analisados respectivamente; indivíduos intermediários estão contemplados entre aqueles valores. Nas figuras 09-10 estão representadas algumas das medidas realizadas.

Todas as espécies estudadas foram descritas somente com base no que foi possível observar nas amostras. Comparações com a bibliografia e a distribuição geográfica conhecida para a espécie encontram-se ao final de cada descrição. As espécies novas encontradas estão sendo devidamente preparadas para publicação.

Tabela 2. Lista de caracteres estudados.

1. Aspectos em vida	Hábito; coloração; formato do corpo; local de fixação
2. Túnica	Opacidade; textura; espessura, consistência; presença de incrustações e/ou epibiontes; projeções
3. Animal sem a túnica	Comprimento (da linha dos tentáculos orais até a margem posterior do corpo) e largura do corpo
4. Sifões	Comprimento e posição de cada sifão; número e aparência dos lobos; ocelos
5. Musculatura	Padrão de musculatura do lado direito e esquerdo do corpo; musculatura longitudinal e circular dos sifões; espessura das fibras musculares corporais
6. Região anterior	Parede interna do sifão oral; quantidade de tentáculos orais; número de ordens de tentáculos orais; comprimento dos maiores tentáculos; inserção dos tentáculos orais; aparência do anel ciliado; distância do anel ciliado para o anel de tentáculos; presença de papilas na área entre anéis; formato da área peritubercular; diâmetro ântero-posterior e formato da abertura do tubérculo dorsal; distância entre tubérculo dorsal e gânglio neural; aberturas acessórias
7. Lâmina dorsal	Margem da lâmina dorsal; presença de papilas; local onde a lâmina dorsal termina; projeção oposta à lâmina dorsal na altura do esôfago; distância para a primeira papila de cada lado da faringe

Tabela 2. Lista de caracteres estudados. (cont.)

8. Faringe	Faringe lisa ou plicada; presença de vasos longitudinais e/ou transversais; número de vasos longitudinais de cada lado da faringe; número de vasos transversais; presença de vasos parastigmáticos, papilas principais e intermediárias; formato, tamanho e posição das papilas principais; número, aparência e comprimento das fendas
9. Endóstilo	Margem do endóstilo
10. Tubo digestório	Posição do tubo digestório; área total ocupada; formato do estômago; aspecto da parede do estômago; presença de alça intestinal secundária; formato do intestino; presença de constrições no intestino; margem do ânus; distância do ânus à linha de tentáculos orais
11. Vesículas renais	Presença de vesículas renais; diâmetro e posição
12. Ovário	Formato; posição em relação ao tubo digestório; distância do oviduto ao ânus; diâmetro dos maiores ovócitos
13. Testículo	Quantidade de folículos testiculares; formato e disposição dos folículos; local onde o espermiduto se abre
14. Larvas	Local de incubação; diâmetro ântero-posterior; aparência e posição das papilas adesivas; comprimento da cauda

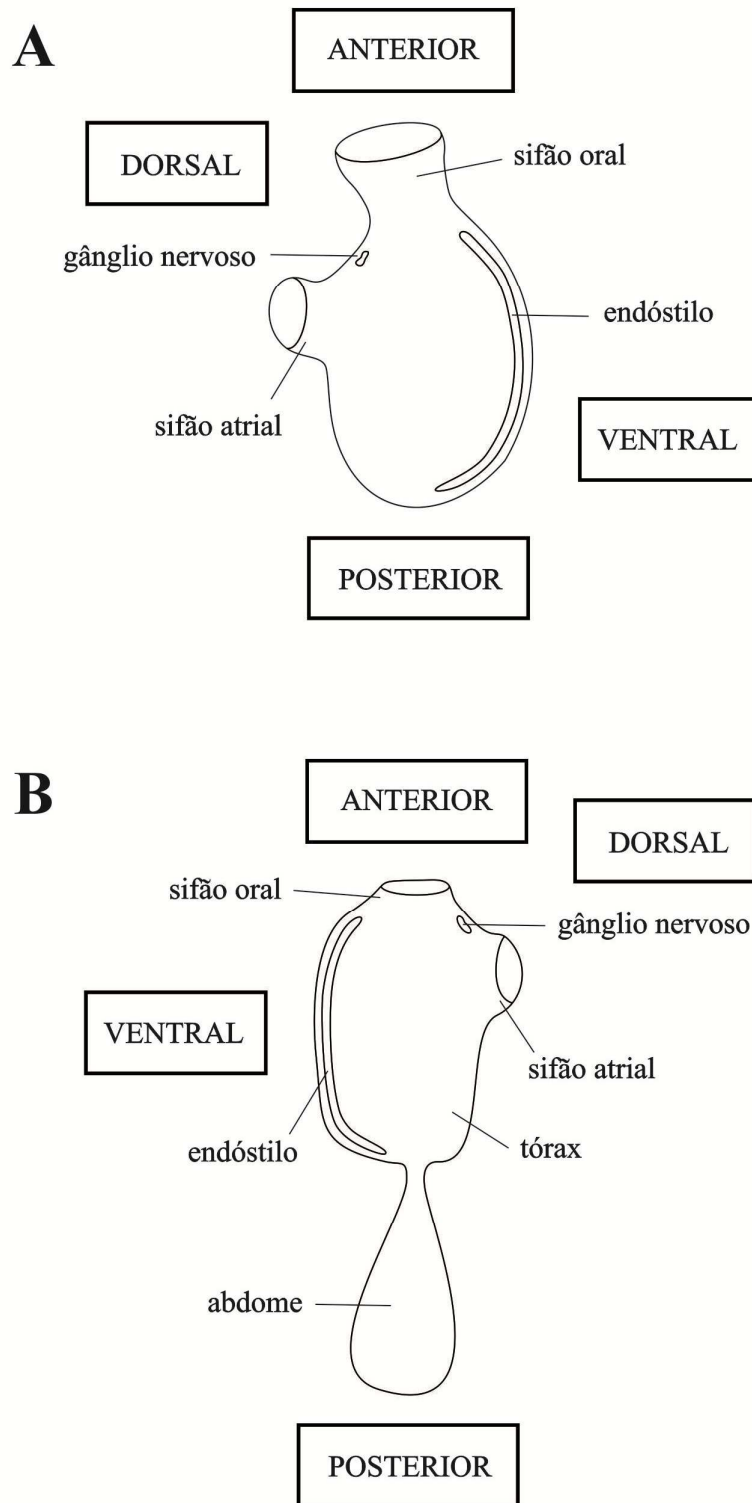


Figura 01. Desenhos esquemáticos indicando a orientação dos animais. A. Phlebobranchia com corpo não dividido. B. Phlebobranchia com corpo dividido em tórax + abdome.

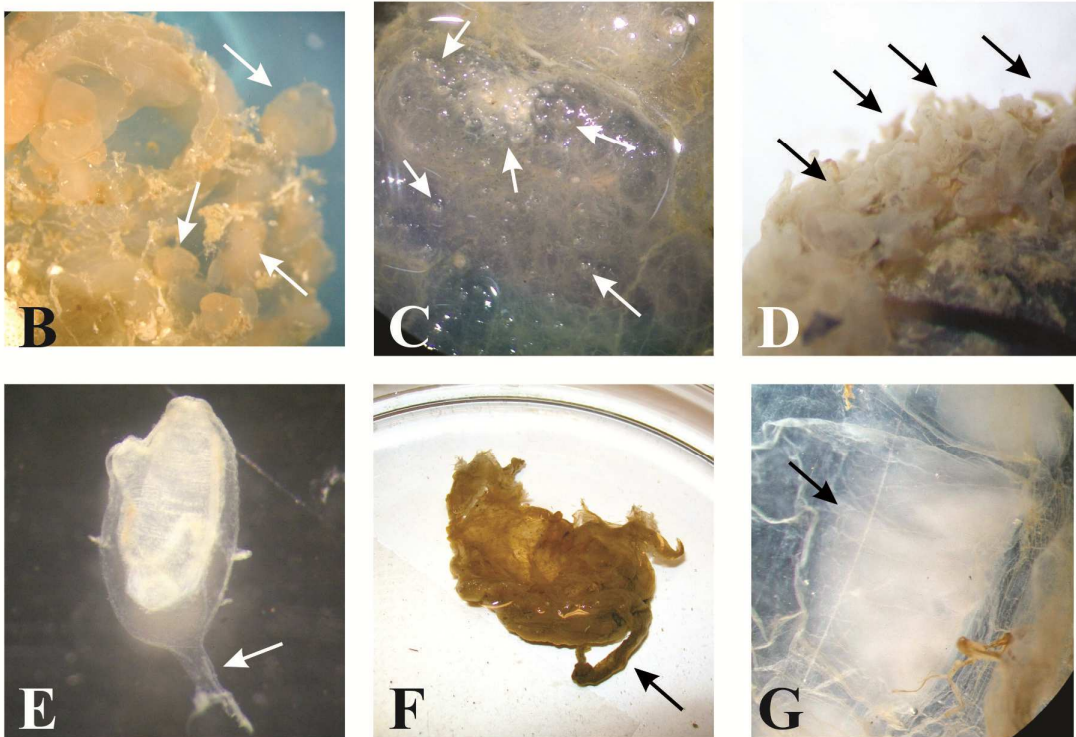
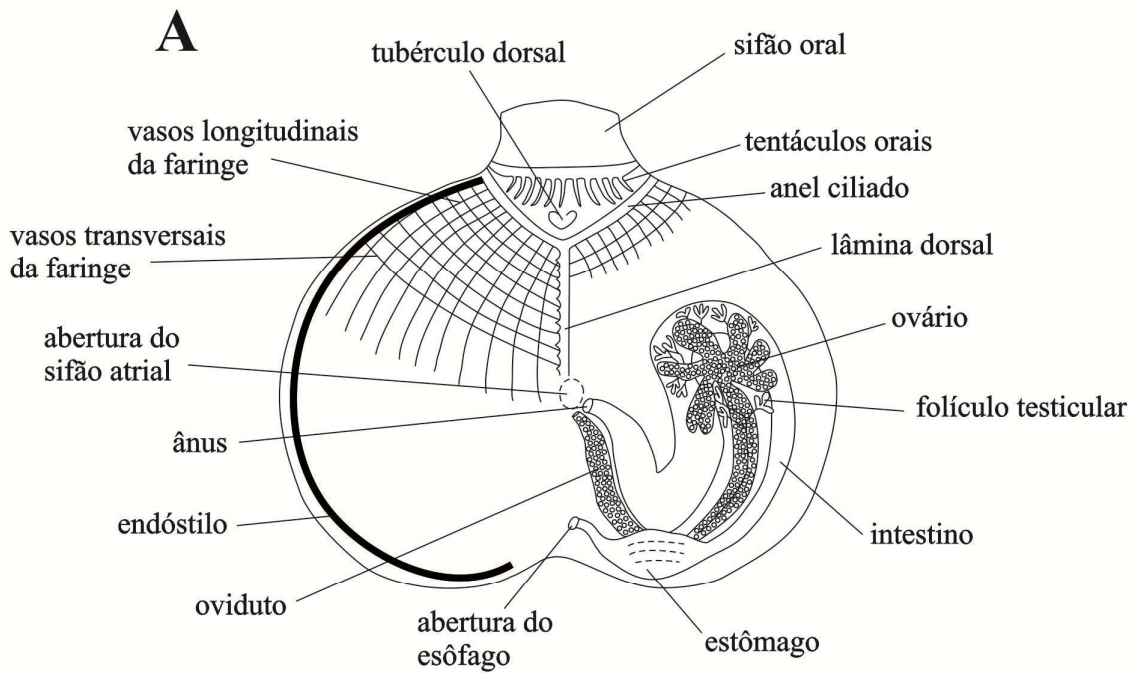


Figura 02. A. Desenho esquemático de um Phlebobranchia com corpo não dividido, indicando a localização das principais estruturas (tubo digestivo e gônadas estão do lado esquerdo do animal apenas como exemplo) (adaptado de Bonnet 2010). B-G. Projeções na túnica. B. Projeções esféricas. C. Papilas cônicas. D. Projeções digitiformes. E-F. Pedúnculo. G. “Almofadas”.

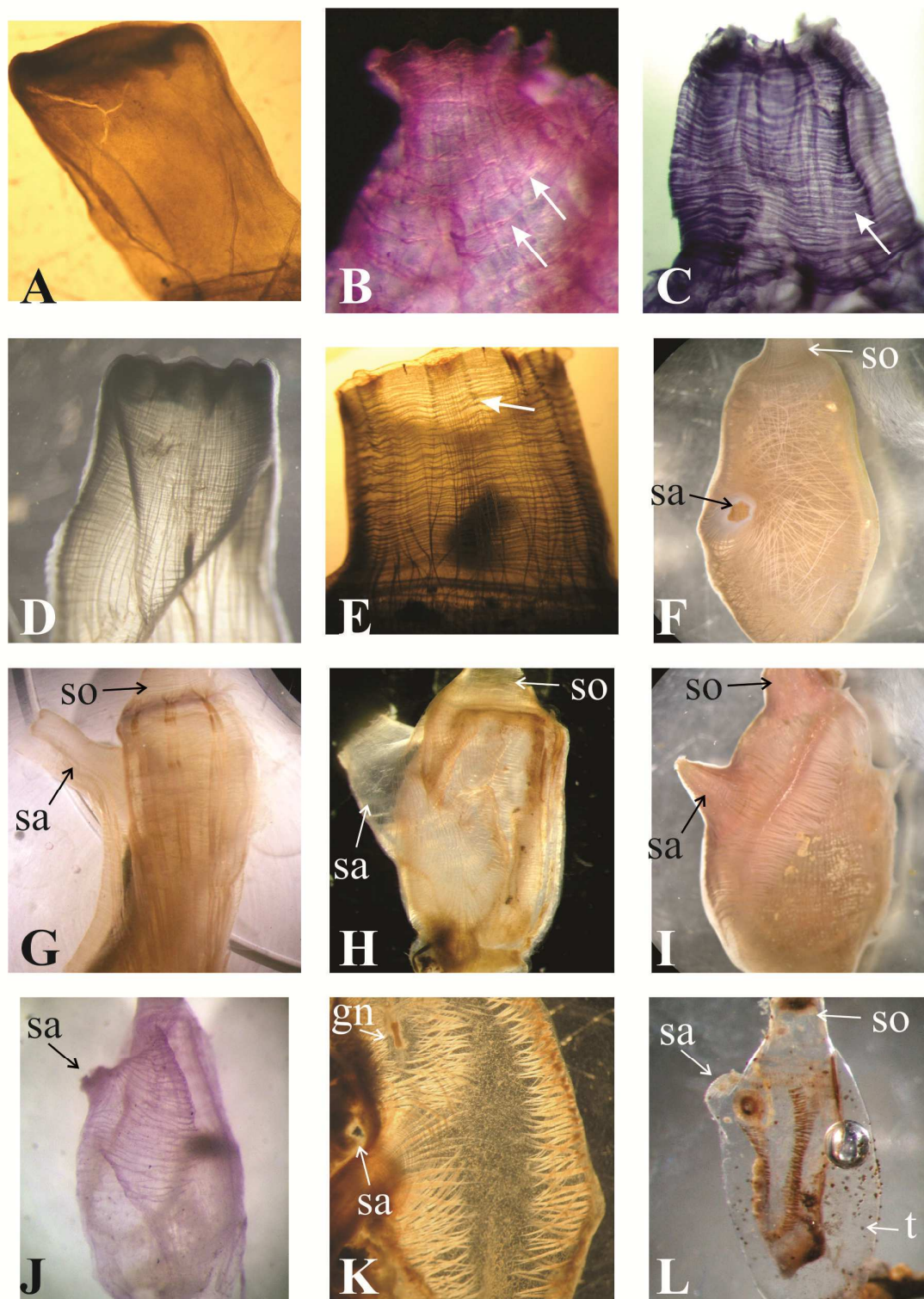


Figura 03. Padrões de musculatura. A-E. Sifões. A. Ausência de fibras musculares. B. Fibras circulares em baixa densidade. C. Fibras circulares em alta densidade. D. Fibras longitudinais não organizadas em feixes. E. Fibras longitudinais organizadas em feixes. F-L. Musculatura corporal. F. Em rede. G. Feixes longitudinais cruzados por fibras transversais completas. H. Fibras oblíquas longas. I. Fibras oblíquas curtas. J. Fibras perpendiculares à margem dorsal. K. Fibras perpendiculares às margens dorsal e ventral. L. Coluna de fibras transversais no meio da parede do corpo. Legenda: gn: gânglio nervoso; sa: sifão atrial; so: sifão oral; t: túnica.

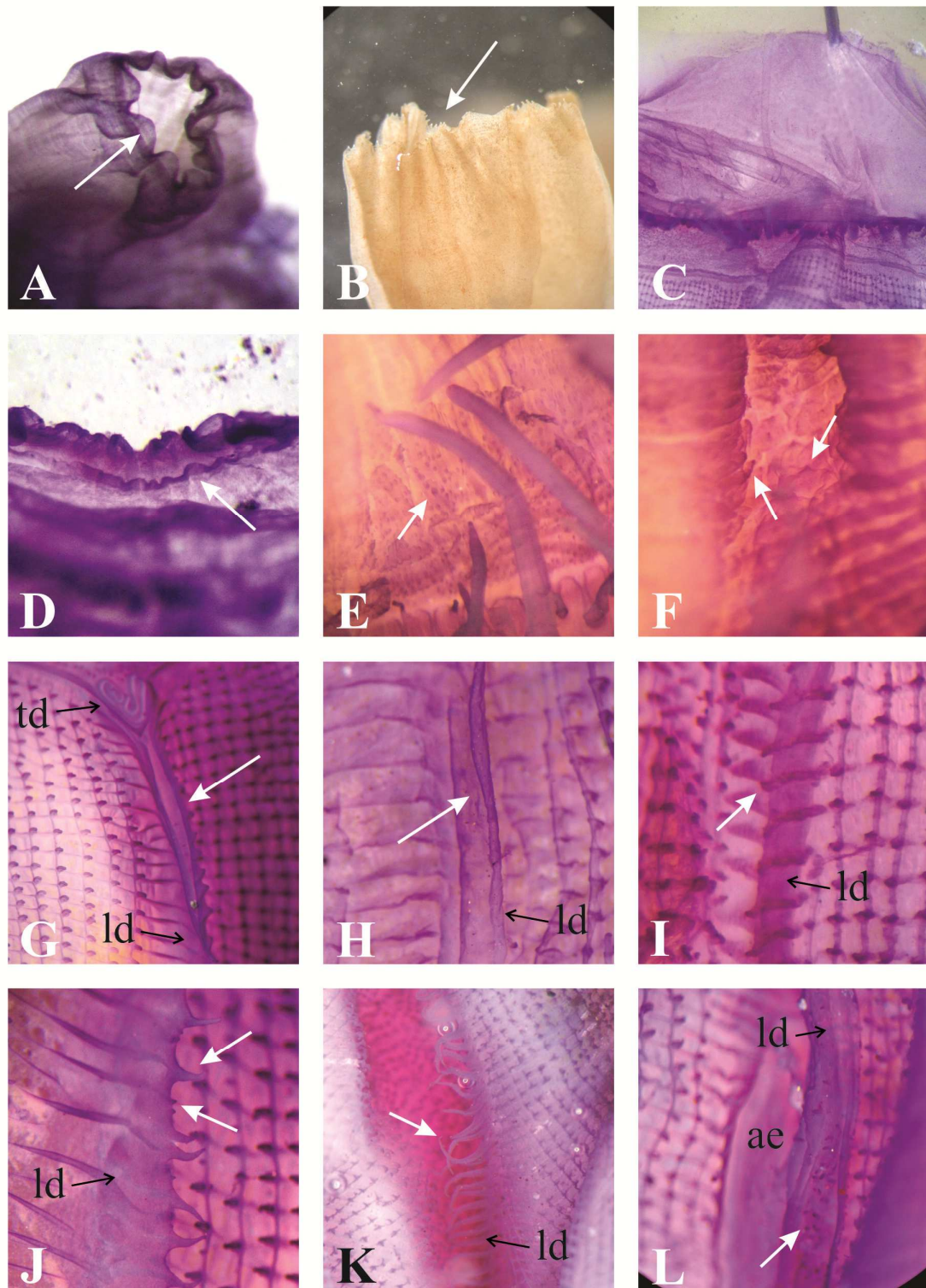


Figura 04. A-B. Margem dos lobos do sifão. A. Lisos. B. Com projeções. C-F. Parede interna do sifão oral. C. Lisa. D. Com membrana. E. Com papilas arredondadas. F. Com projeções aculeares. G-L. Lâmina dorsal. G. Dupla anteriormente. H. Margem lisa. I. Margem serrilhada por projeções dos vasos transversais da faringe. J. Margem serrilhada por projeções próprias e dos vasos transversais da faringe. K. Em linguetas. L. Papilas na lateral da lâmina dorsal, próximo à abertura do esôfago. Legenda: ae: abertura do esôfago; ld: lâmina dorsal; td: tubérculo dorsal.

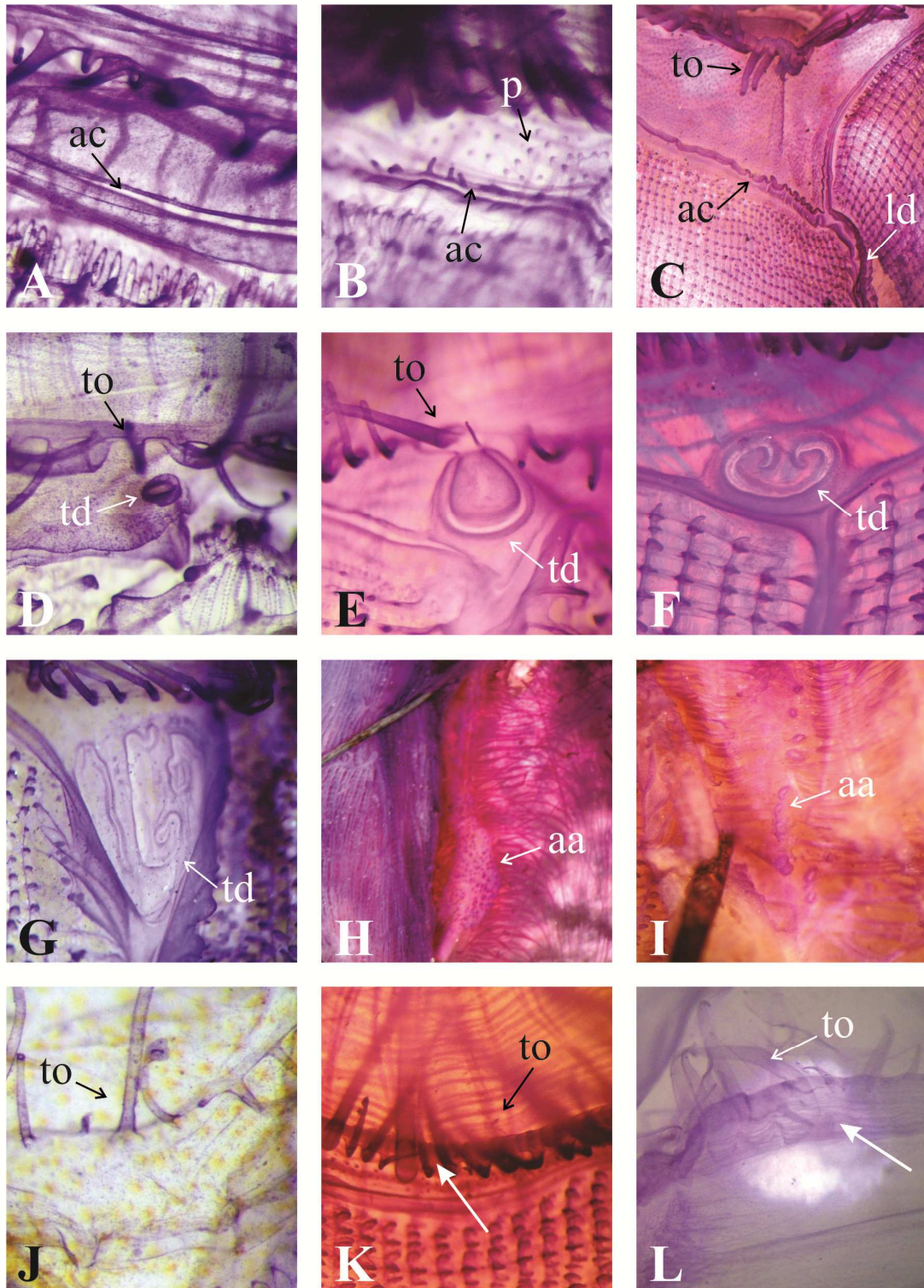


Figura 05. A. Anel ciliado liso. B. Anel ciliado com projeções e papilas na área entre anel ciliado e tentáculos orais. C-G. Tubérculo dorsal. C. Ausente. D. Em fenda. E. Em U, sem pontas enroladas. F. Em U, com pontas enroladas. G. Meandriforme. H-I. Aberturas acessórias. H. Agrupadas. I. Em linha. J-L. Inserção dos tentáculos orais. J. Diretamente na parede do corpo. K. Em anel muscular. L. Em membrana. Legenda: aa: aberturas acessórias; ac: anel ciliado; ld: lâmina dorsal; p: papila; td: tubérculo dorsal; to: tentáculos orais.

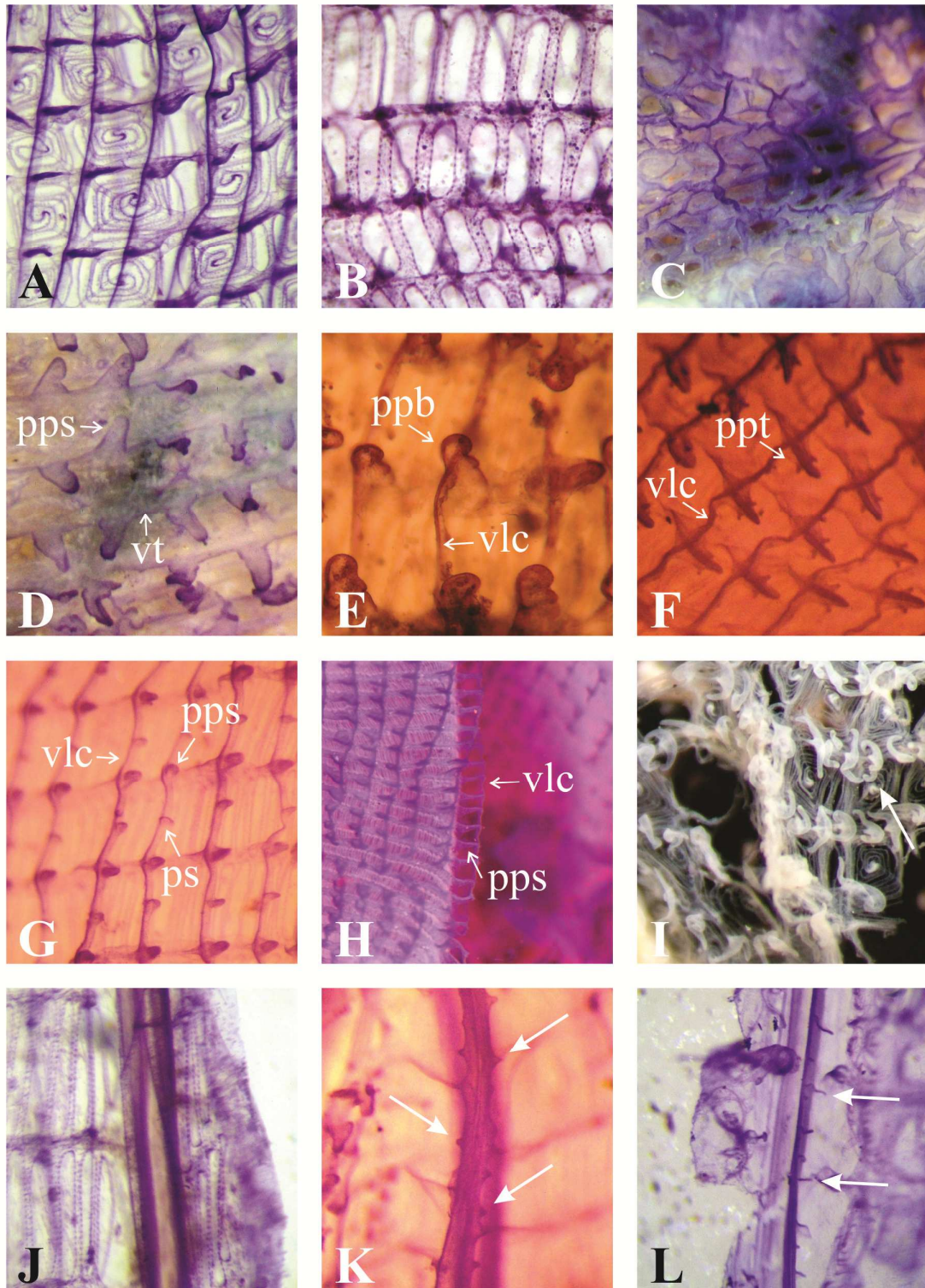


Figura 06. A-C. Fendas na faringe. A. Em espiral. B. Retas. C. Circular. D-G. Faringe com papilas exposta ao lúmen. D. Papilas simples. E. Papilas bilobadas. F. Papilas triplas. G. Papilas primárias e secundárias. H-I. Papilas primárias da faringe não expostas ao lúmen. H. Papilas sob vasos longitudinais completos. I. Papilas sob vasos longitudinais incompletos. J-L. Margem do endóstilo. J. Liso. K. Com papilas. L. Com projeções filiformes. Legenda: ppb: papila primária bilobada; pps: papila primária simples; ppt: papila primária tripla; ps: papila secundária; vlc: vaso longitudinal completo; vt: vaso transversal.

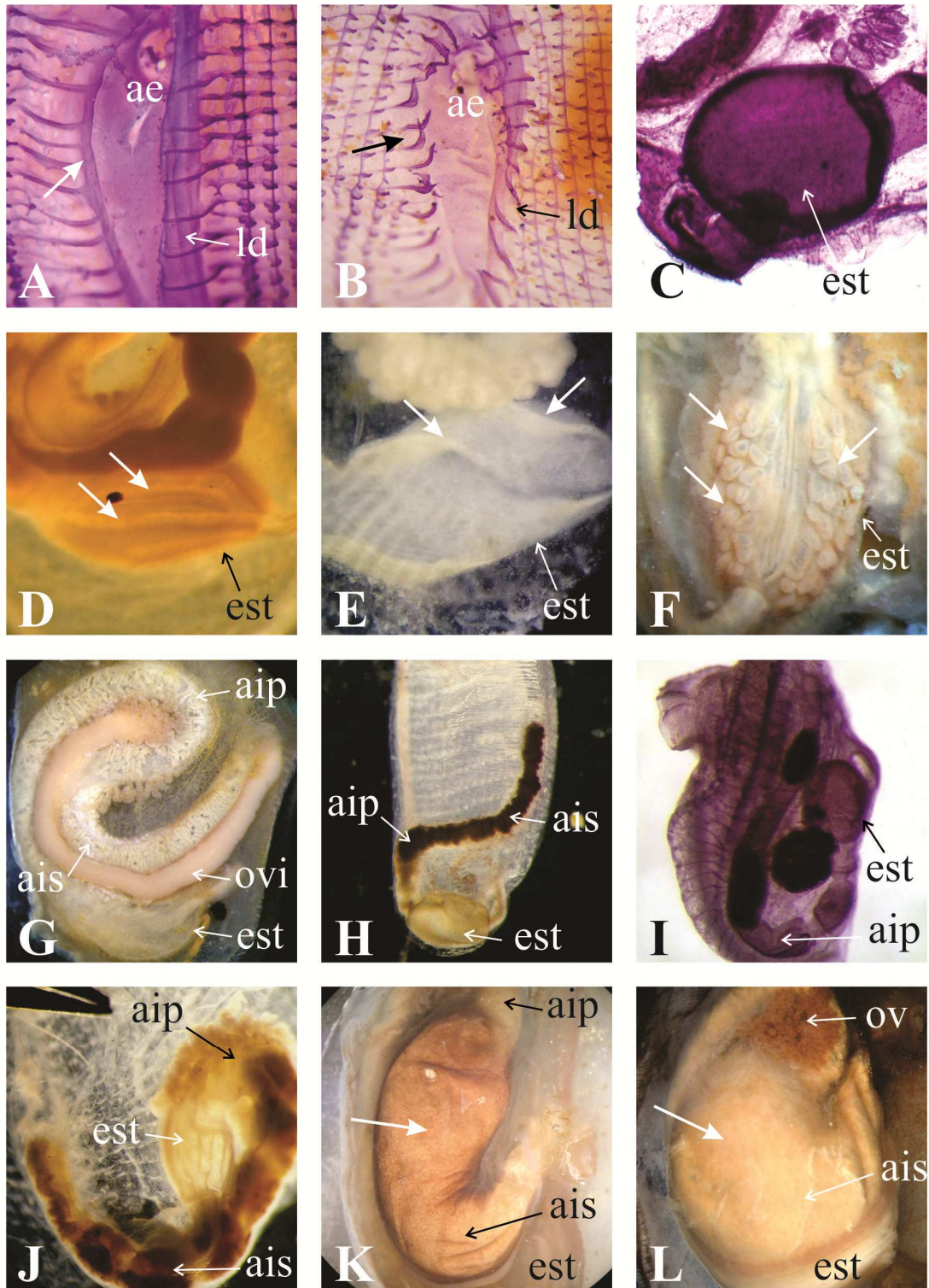


Figura 07. A-B. Abertura do esôfago. A. Margeada por uma lâmina. B. Margeada por linguetas. C-F. Parede do estômago. C. Liso. D. Com pregas longitudinais. E. Com pregas helicoidais. F. Areolada. G-L. Intestino. G. Com alça primária e secundária fechadas. H. Com alça secundária aberta. I. Alça secundária ausente. J. Com alça secundária posterior ao estômago. K. Com dilatação não saculiforme. L. Com dilatação saculiforme. Legenda: ae: abertura do esôfago; aip: alça intestinal primária; ais: alça intestinal secundária; est: estômago; ld: lâmina dorsal; ov: ovário; ovi: oviduto.

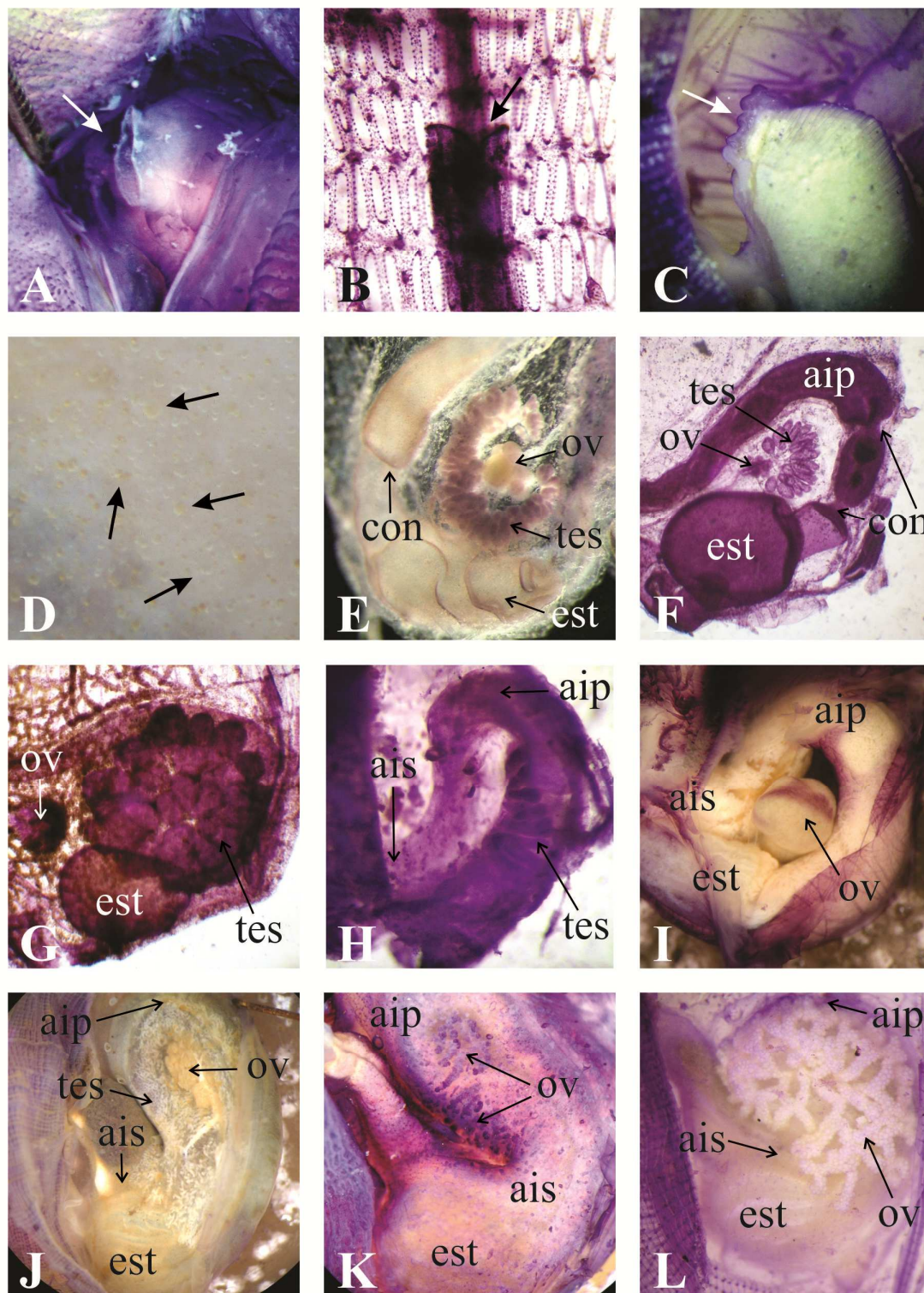


Figura 08. A-C. Abertura do ânus. A. Liso. B. Bilobado. C. Multilobado. D. Vesículas renais. E-F. Condições no intestino. G-L. Gônadas. G. Ovócitos agrupados e testículo circular. H. Testículo recobrendo o tubo digestivo. I. Ovário saculiforme. J. Ovário lobado, restrito à alça intestinal primária. K. Ovário lobado, no interior da alças intestinais primária e secundária. L. Ovário ramificado. Legenda: aip: alça intestinal primária; ais: alça intestinal secundária; con: constrição no intestino; est: estômago; ov: ovário; tes: testículo.

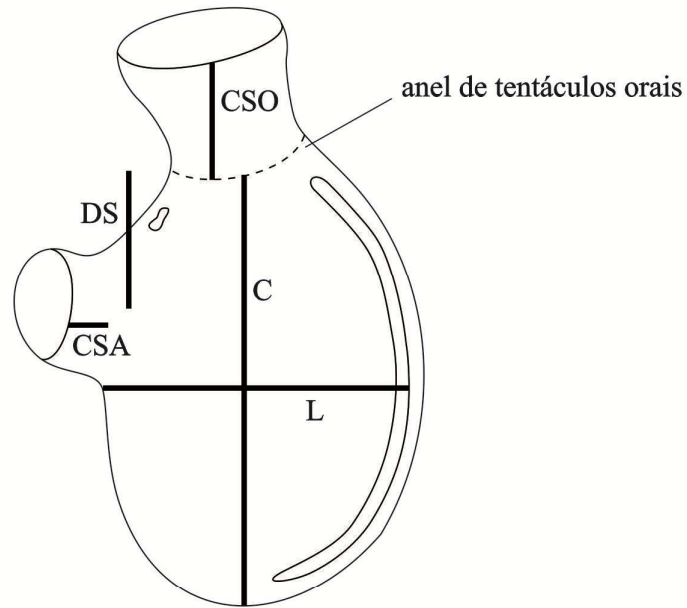
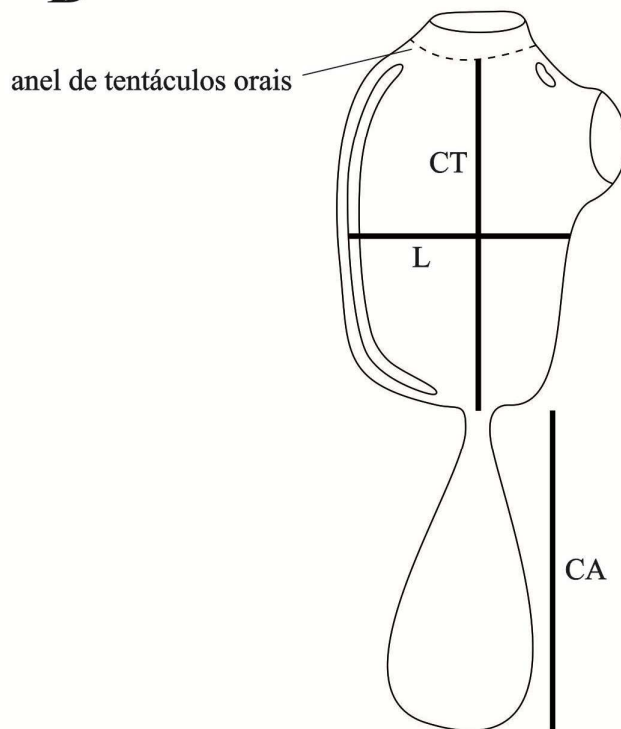
A**B**

Figura 09. A-B. Desenhos esquemáticos indicando algumas medições externas feitas nos espécimes. A. Phlebobranchia com corpo não dividido. B. Phlebobranchia com corpo dividido em tórax + abdome. Legenda: C: comprimento corporal; CA: comprimento do abdome; CSO: comprimento do sifão oral; CSA: comprimento do sifão atrial; CT: comprimento do tórax; DS: distância entre sifão atrial e sifão oral; L: largura corporal.

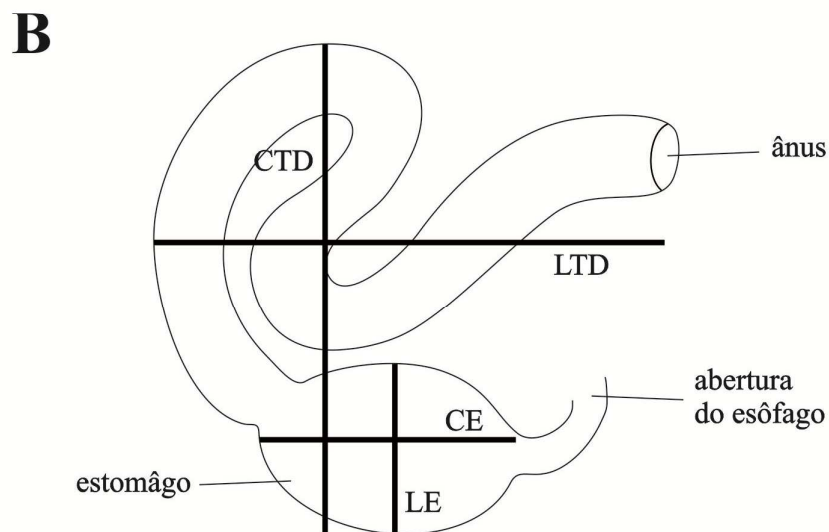
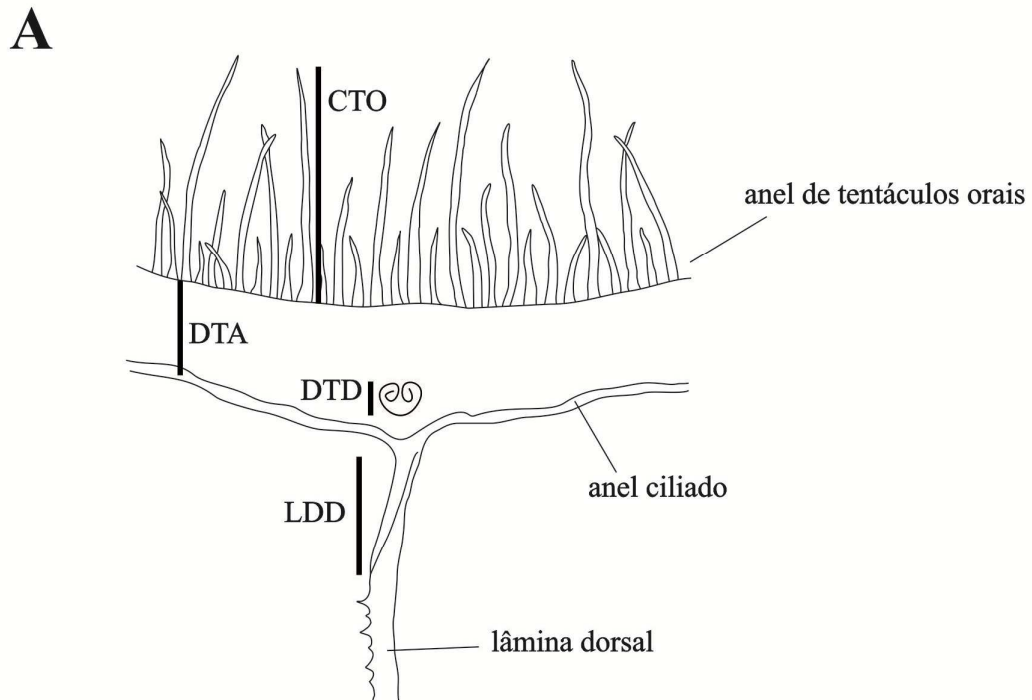


Figura 10. Desenho esquemático de estruturas internas indicando algumas das medições feitas. A. Região anterior. B. Tubo digestório. Legendas: CE: comprimento do estômago; CTD: comprimento do tubo digestório; CTO: comprimento dos tentáculos orais; DTA: distância entre os tentáculos orais e o anel ciliado; DTD: diâmetro ântero-posterior do tubérculo dorsal; LDD: distância da lâmina dorsal dupla; LE: largura do estômago; LTD: largura do tubo digestório.

RESULTADOS

No total foram dissecados 246 indivíduos, correspondendo a 62 espécies, das quais 58 correspondem ao táxon Phlebobranchia e quatro a espécies provavelmente de Aplousobranchia. Entre os flebobrânquios, foram identificadas quatro prováveis espécies novas para o gênero *Ecteinascidia*, além de uma nova espécie de Ascidiidae para a Polinésia Francesa (*Ascidia paulayi* Bonnet & Lotufo, 2015; ver artigo em anexo). Cinco espécies não puderam ser identificadas, permanecendo apenas em nível de gênero (Tabela 01).

Agneziidae Huntsman, 1912

Formada por 32 espécies divididas entre cinco gêneros (*Adagnesia*, *Agnezia*, *Caenagnesia*, *Proagnesia* e *Pterygascidia*) (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016), é caracterizada principalmente pela faringe com vasos longitudinais rudimentares ou ausentes, fendas em espiral e tubo digestivo e gônadas no lado esquerdo do corpo (Ärnback-Christie-Linde 1938; Van Name 1945). Todas as espécies são de indivíduos solitários.

Agnezia Monniot & Monniot, 1991

Espécie-tipo: *Agnezia glaciata* (Michaelsen, 1898)

O gênero apresenta lâmina dorsal dividida em linguetas e total ausência de vasos longitudinais na faringe, apesar de manter as papilas simples sobre os vasos transversais (Van Name 1945). Fendas faríngeas são comumente cruzadas por vasos radiais (Van Name 1945). Inicialmente o gênero foi denominado como *Agnesia* Michaelsen, 1898, porém já existia *Agnesia* Konink, 1883 como um grupo de Gastropoda (Mollusca), levando Monniot C. & Monniot F. a redenominaram o gênero de Ascidiacea para *Agnezia* (Sanamyan 1998). São reconhecidas 13 espécies de Agneziidae (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Agnezia glaciata (Michaelsen, 1898)

Material examinado: NHM 1960.10.13.52 – 2 ind.; Station W.S. 775 (42°42'S; 134°10'E); 110-115 m; 02.XI.1931; col.: Discovery Expedition

Morfologia externa: Presença de grãos de areia na região posterior e dorsal dos espécimes. Maior indivíduo com até 10,6 mm de comprimento total. Após fixação, túnica translúcida, sem projeções, de superfície rugosa e consistência cartilaginosa, apesar de fina (até 0,6 mm de espessura).

Animal sem túnica: corpo oblongo, com até 10,3 mm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 4,2-5,2 mm de largura. Sifão oral com 1,2-1,5 mm de comprimento e sete lobos na margem; sifão atrial apical com seis lobos na margem; lobos de ambas as aberturas pequenos, triangulares e de margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso quase junto com o tubérculo dorsal, a 0,4 mm de distância da base do sifão oral.

Musculatura: ambos os lados do corpo com longas fibras longitudinais que se estendem a partir dos sifões até a metade do comprimento do corpo, além de espessas fibras perpendiculares que vão desde a margem dorsal até um pouco menos de $\frac{1}{3}$ da largura do corpo e fibras mais delicadas perpendiculares à margem ventral, desde a base do sifão oral até a região da média do corpo (no lado esquerdo corresponde aproximadamente à altura da alça intestinal primária). Fibras mais espessas com 0,12-0,13 mm. Tubo digestivo livre de musculatura, com exceção do reto e ânus. Fibras longitudinais dos sifões não organizadas em feixes. Ambos os sifões com densa musculatura circular.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de mais de 100 tentáculos orais longos e finos, divididos em 2-3 círculos, e inseridos diretamente na parede do corpo; tentáculos de 2-3 tamanhos diferentes, os maiores com aproximadamente 1,5 mm de comprimento e localizados no círculo mais próximo do anel ciliado. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a aproximadamente 0,64 mm de distância do anel de tentáculos (distância similar em ambos os lados do corpo); área entre os anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas; área peritubercular formando um curto V. Lâmina dorsal única desde a região anterior, segue posteriormente dividida em curtas linguetas triangulares; lâmina dorsal termina antes da abertura do esôfago. Ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago e de projeções à direita desta (opostas à lâmina dorsal). Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 1,0 mm do lado direito do corpo e de 0,53 mm do lado

esquerdo. Faringe lisa. Ausência de vasos longitudinais, apenas papilas primárias simples sobre os vasos transversais; presença de 16-17 papilas à direita, 16 papilas à esquerda e 12-13 vasos transversais. Fendas da faringe formando uma espiral, com 13-17 curtas fendas curvas completando 5-6 voltas e ocupando o espaço entre três papilas e dois vasos transversais; papilas com 0,17-0,21 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe termina na altura do estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: volumoso, ocupa aproximadamente metade do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago arredondado, de parede lisa. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária em ângulo de 90°; ânus de margem multilobada abrindo-se quase na metade do comprimento do corpo (4,5-4,7 mm de distância do anel de tentáculos).

Gônadas: ovário restrito à região interna da alça intestinal primária, recoberto pela gônada masculina; ovário observado apenas externamente. Maiores ovócitos com 0,13 mm de diâmetro. Testículo composto por folículos alongados, distribuídos sobre o ovário e o estômago. Testículo visível externa e internamente. Gonodutos abrem-se um pouco posteriores ao ânus.

Distribuição Geográfica: EUA (Califórnia), Patagônia, Península Antártida, South Shetland Islands, Knox Coast, África do Sul, Nova Zelândia (Millar 1960; Kott 1968, 1969).

Comentários: a espécie parece apresentar um alto grau de polimorfismo, especialmente no que diz respeito à musculatura corporal (comprimento e número de fibras longitudinais), número de voltas das fendas faríngeas e a presença ou não de interrupções nas espirais. Somado à ampla distribuição geográfica, inicialmente os espécimes foram divididos em diferentes espécies: *A. capensis* (Millar, 1955), *A. krausei* (Michaelsen, 1912) e *A. glaciata*. No entanto, revisões destas espécies propõem que se tratam de uma única espécie em diferentes estágios de maturação e/ou com diferentes graus de rigidez de túnica, sendo que espécimes com túnica mais rígida apresentavam musculatura corporal mais desenvolvida e os menos maduros tem espirais contínuas e com menor número de voltas (Van Name 1945; Millar 1960; Kott 1968). As espécies descritas para o Japão, *A. sabulosa* (Oka, 1929) e *A. himeboja* (Oka, 1915), foram sinonimizadas a *A. glaciata* por Kott (1968), porém tal hipótese foi refutada

posteriormente, apesar de terem sido consideradas como uma única espécie (*A. himeboja*), também em diferentes estágios de desenvolvimento (Nishikawa 1991; Sanamyan 1998).

A literatura indica que *Agnezia glaciata* pode atingir até 18 mm de comprimento total; possui sífões apicais e sésseis, a túnica é comumente incrustada com areia e pode apresentar também projeções filiformes, principalmente na região posterior do corpo (Millar 1960; Kott 1968, 1969). O padrão muscular é o mesmo que o descrito acima, mas as bandas de fibras transversais nas margens dorsal e ventral podem ser quase inconspícuas quando o animal está muito contraído (Millar 1960); o número de fibras longitudinais pode variar entre 11-18 para o sífão oral e entre 6-15 para o atrial (Kott 1968). A abertura do tubérculo dorsal pode ser em fenda simples (Kott 1968), e as fendas da faringe formam 7-10 voltas (Michaelsen 1898; Kott 1968, 1969). De acordo com a descrição original, *A. glaciata* possui apenas 35 tentáculos orais em dois círculos e o intestino médio apresenta tiflossole (Michaelsen 1898). Não foi possível encontrar nenhum outro registro a respeito desses caracteres. No entanto, como os demais caracteres coincidiam com as descrições e as amostras estudadas encontravam-se extremamente contraídas (o que dificultaria a observação do tiflossole, por exemplo), preferiu-se manter a identificação de *A. glaciata*. Há ainda um único relato de que a espécie incuba suas larvas na cavidade atrial (Kott 1969).

Caenagnesia Ärnäck-Christie-Linde, 1938

Espécie-tipo: *Caenagnesia bocki* Ärnäck-Christie-Linde, 1938

Apresenta lâmina dorsal contínua e papilas na faringe com projeções que podem corresponder a rudimentos de vasos longitudinais (Van Name 1945). Gênero confinado ao oceano Antártico (Kott 1969), com apenas três espécies reconhecidas (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Caenagnesia bocki Ärnäck-Christie-Linde, 1938

Material examinado: NHM 1960.10.13.518 – 1 ind.; Station 181, Schollaert Channel, Palmer Archipelago, Antártida (64°20'S; 63°01'W); lama, 160-335 m; 12.III.1927; Discovery Expedition

Morfologia externa: túnica recoberta por areia, principalmente na região posterior do corpo. Espécime com 10,2 mm de comprimento total. Túnica translúcida, de consistência cartilaginosa e superfície rugosa após fixação, com até 0,18 mm de espessura, sem projeções.

Animal sem túnica: corpo quadrangular, com 6,5 mm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 6,8 mm de largura. Sifões apicais com 1,0-1,2 mm de comprimento cada; sifão atrial com oito lobos arredondados de margem lisa (devido ao estado de contração não foi possível contar os lobos do sifão oral). Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado sob o tubérculo dorsal.

Musculatura: lado direito com longas fibras longitudinais que se estendem a partir dos sifões e quase alcançam a margem posterior do corpo. Longas fibras transversais se estendem desde a margem dorsal até aproximadamente a metade da largura do corpo, desde a base do sifão atrial até $\frac{2}{3}$ do comprimento corporal; na margem ventral também há algumas fibras transversais, porém mais curtas e em menor quantidade. Fibras mais espessas com aproximadamente 0,13 mm. Lado esquerdo com os prolongamentos das fibras longitudinais dos sifões até a altura do intestino e fibras perpendiculares que vão desde a margem dorsal até $\frac{1}{3}$ da largura do corpo; toda a região do tubo digestório está livre de musculatura. Fibras longitudinais dos sifões não estão organizadas em feixes. Sifão oral com densa musculatura circular; sifão atrial com menor quantidade de fibras circulares.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de dois anéis de tentáculos orais, sendo que no anterior há 40 tentáculos curtos, de três tamanhos diferentes, e no anel posterior há 25 longos tentáculos (os maiores medindo até 2,4 mm de comprimento); ambos estão em um mesmo anel muscular do sifão. Anel ciliado duplo, sem projeções, a cerca de 0,4 mm de distância dos tentáculos orais no lado direito do corpo (mais amplo que o esquerdo); área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Área peritubercular em V profundo, com abertura do tubérculo dorsal em fenda vertical (não foi possível medir o diâmetro do tubérculo dorsal). Lâmina dorsal única desde a região anterior, com margem lisa, terminando antes da

abertura do esôfago. Ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago e de projeções à direita desta (opostas à lâmina dorsal). Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,28 mm do lado direito do corpo e de 0,12 mm do lado esquerdo. Faringe plicada, com uma pequena depressão entre as espirais; vasos longitudinais incompletos, formados apenas por papilas primárias simples sobre os vasos transversais, com duas projeções opostas entre si no ápice de cada papila, no sentido longitudinal do corpo. Presença de 36 papilas à direita, 39 papilas à esquerda e 11 vasos transversais. Fendas da faringe em espiral, com uma ou duas longas fendas completando 5-7 voltas e ocupando o espaço entre 3-4 papilas e dois vasos transversais; cada espira é cruzada por dois vasos radiais que formam um X com o centro coincidindo com o centro da espira; papilas primárias com até 0,16 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe termina na altura do estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: pequeno, ocupa cerca de $\frac{1}{3}$ do comprimento do corpo, na região posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado; parede estomacal muito danificada. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária aberta. Ânus com margem multilobada.

Gônadas: ovário restrito ao interior da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,08 mm de diâmetro. Testículo ao redor e sobre o ovário, estendendo-se ainda sobre a alça intestinal primária. Testículo formado por numerosos folículos alongados, de coloração esbranquiçada. Gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Graham Land, Weddell Sea, Palmer Archipelago, South Shetland Islands, South Georgia, Bellingshausen Sea, Knox Coast (Van Name 1945; Millar 1960; Kott 1969).

Comentários: de acordo com a descrição original, *C. bocki* apresenta projeções rizoidais na região posterior da túnica (Ärnäck-Christie-Linde 1938), o que foi encontrado em apenas um espécime coletado durante a Discovery Expedition (Millar 1960). A espécie pode alcançar até 3,0 cm de comprimento, possui 6-7 lobos no sifão oral e seis no atrial, região posterior do corpo livre de musculatura, fendas da faringe completando 3-6 voltas, 12-24 fileiras de fendas, parede do estômago irregularmente aerolada, alça secundária quase em 90° e reto longo (Ärnäck-Christie-Linde 1938; Kott 1969). Ärnäck-Christie-Linde (1938) não determina quantos círculos de tentáculos orais há,

apenas comenta que são vários e que os tentáculos mais longos encontram-se no anel mais interno enquanto que os mais curtos estão mais externos. Millar (1960) descreve os tentáculos orais distribuídos em cinco anéis, enquanto Kott (1969) cita quatro. Apesar de só terem sido observados dois círculos de tentáculos no presente material, isso pode ter sido um erro de análise, já que o círculo mais externo possui tentáculos em diferentes alturas, porém não sendo possível identificar como diferentes anéis devido ao fato de estarem muito próximos entre si (diferentemente do círculo interno, que é bem conspícuo).

Ascidiidae Herdman, 1880

Maior família de Phlebobranchia, possui 153 espécies divididas em cinco gêneros: *Ascidia*, *Ascidiella*, *Fimbrora*, *Phallusia* e *Psammascidia* (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016). São todos indivíduos solitários, com lâmina dorsal contínua, vasos longitudinais completos com papilas associadas a eles, fendas retas, tubo digestório e gônadas no lado esquerdo do corpo (Van Name 1945; Berrill 1950). É a única família em que as espécies podem apresentar vesículas renais (Van Name 1945; Berrill 1950).

Ascidia Linnaeus, 1767

Espécie-tipo: *Ascidia mentula* Müller, 1776

O táxon é caracterizado pelas papilas que ultrapassam os vasos longitudinais, o que as expõe ao lúmen da faringe (Van Name 1945; Berrill 1950). Pode apresentar também papilas intermediárias (Berrill 1950) e papilas na região entre o círculo de tentáculos orais e o anel ciliado (Ärnback-Christie-Linde 1934). Tanto a lâmina dorsal quanto a faringe se estendem além da abertura do esôfago (Ärnback-Christie-Linde 1934).

O gênero foi descrito primeiramente por Linnaeus em 1767 com três espécies: *Ascidia intestinalis*, *A. echinata* e *A. rustica* – posteriormente reclassificadas nos gêneros *Ciona*, *Boltenia* e *Styela*, respectivamente (WoRMS, acesso em 13 de maio de 2016). Não foi possível acessar o trabalho original e por isso não há como saber se

havia sido designada uma espécie-tipo. De acordo com o International Code of Zoological Nomenclature (ICZN), se não é designada uma espécie-tipo para um gênero no momento de sua proposição, o primeiro autor a descrever uma espécie para aquele gênero passa a corresponder à espécie-tipo. Assim o gênero permanece válido, porém a espécie que o identifica passa a ser de outro autor. Müller foi o seguinte pesquisador a descrever espécies novas de ascídias, incluindo *A. mentula* (Müller 1776). Várias de suas proposições foram posteriormente classificadas em outros gêneros e a primeira espécie na sequência do trabalho que permaneceu como *Ascidia* é *A. mentula*, sendo por isso considerada esta a espécie-tipo do gênero. Atualmente são reconhecidas 129 espécies de *Ascidia* no mundo (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Ascidia archaia Sluiter, 1890

Material examinado: DZUP ASC 58 – 1 ind.; Cidade, Bocas del Toro, Panamá (09°20'08"N; 82°14'32"W); placas recrutamento; 12.VII.2009; col.: R.M. Rocha

DZUP ASC 185 – 2 ind.; Ilha Canales de Afuera, Panamá (07°42'12"N; 81°37'29"W); 13,0 m, sob pedra; 13.I.2009; col.: S. Bullard

Morfologia externa: animal pequeno, com 1,6-1,9 cm de comprimento total, fixado ao substrato por toda a região esquerda do corpo. Quando vivo apresenta túnica translúcida, de coloração avermelhada (DZUP ASC 58) ou arroxeada (DZUP ASC 185), com estreitas faixas brancas formadas por pontuações em forma de disco na região ventral do corpo. Não apresenta incrustações, mas pode ter pequenas colônias de ascídia sobre a superfície. Após fixação, a túnica é incolor, macia, tem 0,5-0,8 mm de espessura, superfície lisa ou ligeiramente rugosa, com numerosas veias incolores, alaranjadas ou avermelhadas.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,2-1,5 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 0,7-0,9 cm de largura. Sifão oral com 0,1-0,3 cm de comprimento, com oito lobos na margem; atrial deslocado posteriormente a $\frac{1}{3}$ do comprimento do corpo (0,4-0,6 cm do anel de tentáculos), com oito lobos na margem; margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Presença de ocelos vermelhos entre os lobos. Gânglio nervoso localizado na região mediana entre os dois sifões, a 0,8-2,4 mm de distância da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito com fibras oblíquas longas e finas (0,06-0,08 mm de espessura), que partem da região dorsal do corpo, mas não alcançam a margem ventral. Lado esquerdo com fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo. As poucas fibras musculares longitudinais dos sifões formam pequenos feixes. Musculatura circular pouco densa em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 15 tentáculos orais, de quatro tamanhos diferentes, unidos por uma pequena lâmina de tecido. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 0,24-0,62 mm de distância do anel de tentáculos (similar em ambos os lados do corpo; distância não proporcional ao comprimento do corpo); área entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal formando uma pequena fenda horizontal ou em U, sem pontas enroladas; área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal com linguetas na margem, formadas pelos prolongamentos dos vasos transversais da faringe. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 1,4-2,0 mm, seguindo até o final da faringe. Ausência de papilas próximo à abertura do esôfago. Uma fileira de longas linguetas margeia o lado direito da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,5-0,7 mm no lado direito e de 0,2-0,5 mm no lado esquerdo. Faringe fracamente plicada (aproximadamente ½ dobra por malha), com 32 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 28-30 vasos no esquerdo; 40-63 vasos transversais; 3-8 fendas por malha; papilas primárias simples, com 0,10-0,15 mm de altura. Presença de pequenas papilas intermediárias. Ausência de vasos parastigmáticos. Faringe se prolonga além do estômago por uma curta distância (0,4-2,9 mm). Margem do endóstilo com pequenas papilas.

Tubo digestório: ocupa metade ou mais do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago arredondado e com forte pigmentação laranja mesmo após fixação, com 4-5 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária amplas; ânus de margem bilobada abrindo-se quase junto à abertura do sifão atrial (5,0-6,0 mm de distância dos tentáculos orais). Vesículas renais com 0,06-0,12 mm de diâmetro, recobrimdo todo o tubo digestório. Presença de projeções sobre o estômago e intestino.

Gônadas: ovário ocupando toda a região interna da alça intestinal primária, formando grandes e poucos lobos, visíveis tanto externa quanto internamente. Ovócitos com até

0,137 mm de diâmetro. Testículo ramificado, sobre parte do estômago e alça ascendente do intestino. Gonodutos abrindo-se posteriormente ao ânus; oviduto bastante conspícuo, em posição horizontal, formando um ângulo reto com o ovário vertical; espermiduto com coloração alaranjada.

Distribuição Geográfica: Haiti, Guadalupe, Belize, Curaçao, Panamá (Atlântico), Moçambique, Japão, Filipinas, Indonésia, Austrália, Nova Caledônia, Palau, Polinésia, Ilhas Marshall, Truk, Ponape, Majuro, Ilha Nauru, Ilhas Gilbert, Ilhas Salomão, Ilhas Fiji, Panamá (Pacífico) (Van Name 1945; Kott 1981, 1985; Nishikawa 1986; Monniot C. & Monniot F. 1987; Monniot C. 1987, 1997; Monniot F. & Monniot C. 2001; Bonnet & Rocha 2011a; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: a coloração em vida arroxeadada e a musculatura corporal presente nos espécimes dissecados é um pouco mais robusta na amostra proveniente da costa panamenha do Pacífico em relação à observada em espécimes do lado Atlântico do Panamá (Bonnet & Rocha 2011a), diferem do padrão comumente descrito para a espécie. No entanto, o reduzido número de tentáculos orais, a lâmina dorsal serrilhada, as linguetas do lado direito da abertura esofágica, o número de vasos longitudinais, a presença de papilas intermediárias na faringe e a aparência do tubo digestório e do ovário, são caracteres suficientes para corroborar a identificação do espécime.

Variações intraespecíficas registradas na literatura podem ser encontradas em Bonnet & Rocha (2011a).

Ascidia bocatorensis Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: DZUP ASC 144 – 1 ind.; Marina, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°20'08"N; 82°14'48"W); 1,0 m, placas de polietileno; 05.III.2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 145 – 2 ind.; Cidade, Bocas del Toro, Panamá (09°20'08"N; 82°14'32"W); 0,5 m, placas de polietileno; 29.III.2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 146 – 1 ind.; Cidade, Bocas del Toro, Panamá (09°20'08"N; 82°14'32"W); 21.V.2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

Morfologia externa: Em vida fica aderido ao substrato por toda a região esquerda do corpo, apresenta numerosas veias finas de cor laranja na túnica. Em geral não apresenta incrustações, mas hidróides e pequenas colônias de ascídia podem ser encontradas sobre os maiores indivíduos, que alcançam até 4,5 cm de comprimento total. Túnica translúcida, apesar da espessura (0,3-1,6 mm de espessura), com consistência cartilaginosa. Após fixação, a túnica é ligeiramente enrugada, incolor, e os vasos podem manter a coloração laranja ou se tornarem incolores.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 2,3-3,6 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,1-1,5 cm de largura. A parede do corpo mantém uma coloração alaranjada após dois meses de fixação, mas indivíduos há mais tempo em formol perdem a cor. Sifão oral com 0,3-0,5 cm de comprimento e 8-9 lobos; atrial com 0,3-0,6 cm de comprimento, localizado aproximadamente na metade do comprimento do corporal (a 0,9-1,7 cm do anel de tentáculos), com 6-7 lobos; lobos arredondados e de margem lisa em ambos os sifões. Presença de ocelos de coloração laranja entre os lobos. Gânglio nervoso próximo ao sifão oral, a 2,0-5,0 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito com uma delicada rede de finas fibras musculares em várias direções, com 0,04-0,08 mm de espessura. Lado esquerdo com fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo. Fibras musculares longitudinais dos sifões organizadas em feixes largos, um para cada lobo, melhor visualizadas quando o animal está bem relaxado. Musculatura circular do sifão oral densa, mas a do sifão atrial é mais frouxa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 59-70 tentáculos orais, de quatro tamanhos diferentes, os maiores com 1,6-3,0 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em um anel muscular curto e espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 0,4-0,9 mm de distância do anel de tentáculos no lado direito (lado esquerdo é mais amplo próximo à região ventral, porém não há relação com o comprimento total do animal); área entre anéis em geral lisa, mas pode ter papilas esparsas (0,02-0,04 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com 0,37-0,70 mm de diâmetro ântero-posterior, comumente em forma de U, com as pontas enroladas para dentro (em um indivíduo as pontas eram retas); área peritubercular arredondada e pequena. Lâmina dorsal em geral ligeiramente serrilhada (tanto devido às extensões dos

vasos transversais quanto por projeções próprias), dupla nos primeiros 1,6-3,0 mm; ausência de papilas próximo à abertura do esôfago. Presença de lâmina estreita de margem lisa contornando a abertura do esôfago à direita. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,60-1,25 mm no lado direito e de 0,4-0,6 mm no lado esquerdo. Faringe com aproximadamente uma dobra por malha, com 35-42 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 34-39 vasos no esquerdo; 87-178 vasos transversais; 7-10 fendas por malha; papilas primárias com 0,14-0,20 mm, em geral trilobadas, mas podem ser simples. Ausência de vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias. Faringe se estende além do estômago (3,7-7,5 mm), sendo que quanto maior o indivíduo, maior é o prolongamento. Endóstilo pode apresentar pequenas papilas em sua margem.

Tube digestório: ocupa aproximadamente metade do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago arredondado, com 9-17 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; ânus de margem bilobada abrindo-se posteriormente ao sifão atrial (a 4,4-14,5 mm de distância dos tentáculos orais). Vesículas renais pequenas (0,06-0,10 mm de diâmetro) recobrimo estômago e intestino, mais facilmente visíveis pela face externa do corpo. Presença de pequenas papilas sobre o estômago e intestino.

Gônadas: ovário lobado, inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre a porção descendente do intestino, com uma pequena porção no interior da alça secundária. Ovário conspicuo tanto interna quanto externamente; ovócitos com até 0,15 mm de diâmetro. Folículos testiculares alongados localizados sobre estômago e quase todo o intestino (na região da alça primária e do reto não há folículos). Gonodutos abrindo-se posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica: Panamá (Atlântico) (Bonnet & Rocha 2011a).

Comentários: descrita recentemente, as respectivas comparações com espécies próximas podem ser encontradas no trabalho original (ver Bonnet & Rocha 2011a). Os espécimes analisados correspondem a parte das amostras da descrição original, tendo sido apenas complementado com caracteres não observados na época, tais como a parede interna do sifão oral, a musculatura circular dos sifões e a margem do endóstilo.

Ascidia ceratodes (Huntsman, 1912)

Material examinado: DZUP ASC 52 – 2 ind.; STRI dock, Panamá City, Panamá (08°55'04"N; 79°31'58"W); 1,5 m, dentro de tijolos; 07.XII.2008; col.: R.M. Rocha. DZUP ASC 187 – 1 ind.; 04.I.2009; col.: R.M. Rocha

DZUP ASC 51 – 3 ind.; Marina Flamenco, Panamá City, Panamá (08°54'45"N; 79°31'20"W); 1,5 m, dentro de tijolos; 06.XII.2008; col.: R.M. Rocha. DZUP ASC 53 – 3 ind.; 1,5m, dentro tijolos; 04.I.2009; col.: R.M. Rocha

DZUP ASC 54 – 1 ind.; Pluto, Ilha Canales de Tierra, Panamá (07°44'20"N; 81°34'46"W); 13,0 m, sob rochas; 10.I.2009; R.M. Rocha

DZUP ASC 184 – 2 ind.; Playa Venados, Veracruz, Panamá (08°53'34"N; 79°35'58"W); entremarés, sob rochas; 30.IX.2011; N.Y.K. Bonnet

Morfologia externa: ascídia pequena (até 3,4 cm de comprimento total). Quando viva possui coloração levemente amarelada, podendo apresentar os sifões alaranjados. Fixa-se ao substrato pelo lado esquerdo do corpo. Geralmente sem incrustações, mas pode apresentar tubos de poliquetas e hidrozoários na superfície. Túnica transparente ou semi-transparente, de superfície um pouco enrugada após fixação, consistência cartilaginosa (0,2-2,4 mm de espessura), sendo mais rígida do lado direito do corpo do que do lado esquerdo. Numerosas veias incolores podem ser vistas na túnica, em indivíduos já fixados.

Animal sem túnica: corpo ovalado, com comprimento variando entre 0,6-2,0 cm da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo (mais comumente entre 1,2-2,0 cm) e largura de 0,3-1,2 cm. Sifões em geral de tamanhos semelhantes (0,1-0,6 cm de comprimento cada), porém o oral pode ser maior, alcançando 0,9-1,2 cm de comprimento. Sifão oral com 8-9 lobos triangulares; atrial com a abertura voltada para a região posterior, localizado entre $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$ do comprimento do corpo (a 0,40-1,25 cm do anel de tentáculos), com seis lobos triangulares; margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Presença de ocelos de coloração amarela ou laranja entre os lobos. Gânglio nervoso localizado bastante próximo ao sifão oral, a 0,6-3,1 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito com uma rede de fibras musculares, com 0,03-0,16 mm de espessura. Lado esquerdo com fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral e fibras

igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo. Sifões com fibras musculares longitudinais não ordenadas em feixes e fibras circulares em maior concentração no sifão oral.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 83-217 tentáculos orais (normalmente entre 100-180), de três tamanhos, os maiores com 1,1-3,4 mm de comprimento; tentáculos orais sobre anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, em geral com projeções na margem anterior (apenas um indivíduo de DZUP ASC 53 apresenta o anel ciliado liso), localizado a 0,25-1,10 mm de distância do anel de tentáculos medidos do lado direito do corpo (lado esquerdo mais amplo, podendo chegar a ter quase o dobro de largura; em geral a maior distância entre anéis está nos maiores indivíduos); área entre anéis geralmente com papilas (0,02-0,05 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com 0,2-0,8 mm de diâmetro ântero-posterior, em forma de U, com ou sem as pontas enroladas (em um espécime de DZUP ASC 52 a abertura do tubérculo dorsal meandriforme); área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal lisa ou ligeiramente serrilhada (sem relação com os vasos transversais da faringe); dupla nos primeiros 0,75-3,00 mm, seguindo até o final da faringe; ausência de papilas próximo à abertura do esôfago. Uma lâmina estreita e de margem lisa contorna a abertura do esôfago à direita. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,9 mm no lado direito e de 0,2-0,5 mm no lado esquerdo. Faringe com $\frac{1}{2}$ a $1\frac{1}{2}$ dobra por malha, 24-38 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 23-37 vasos no esquerdo; 41-88 vasos transversais; 5-8 fendas por malha; papilas primárias simples, bi ou trilobadas, com 0,07-0,19 mm de altura. Pode apresentar papilas intermediárias simples em algumas regiões da faringe. Ausência de vasos parastigmáticos. Faringe termina junto à margem posterior do estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: ocupa cerca de $\frac{3}{4}$ da parede do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago globoso, com 7-11 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico com alças primária e secundária fechadas; ânus de margem lisa ou bilobada abrindo-se a 3,0-8,9 mm de distância dos tentáculos orais, próximo da abertura atrial. Vesículas renais bem conspícuas tanto externa quanto internamente, com 0,08-0,25 mm de diâmetro, recobrimdo estômago e porção ascendente do intestino.

Gônadas: ovário lobado, inserido alça intestinal primária e estendendo-se um pouco sobre a porção descendente do intestino, visível em sua totalidade pela face interna;

maiores ovócitos com 0,14 mm de diâmetro. Folículos testiculares localizados sobre parte do estômago e intestino. Abertura dos gonodutos logo após o ânus.

Distribuição Geográfica: Estados Unidos (de British Columbia até Califórnia), Costa Rica, Panamá (Pacífico), Equador, Chile (Van Name 1945; Tokioka 1972; Carman *et al.* 2011).

Comentários: apesar da ampla distribuição pela costa leste americana, não se sabe ao certo se a presença de *A. ceratodes* na América Central e do Sul é natural ou resultado de introduções humanas (Bonnet *et al.* 2013). A dúvida se deve ao fato de que tanto os espécimes provenientes do Panamá, quanto os do Equador e do Chile são de locais com portos; apenas o material da Costa Rica vem de uma praia natural. A falta de registros históricos dificulta uma maior definição a respeito.

Ascidia collini Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: MZUSP 00014 – 1 ind.; Casa Blanca, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°21'42"N; 82°16'29"W); placa de polietileno; 05.VII.2009; col.: R.M. Rocha (HOLÓTIPO)

DZUP ASC 139 – 2 ind.; STRI Bay, Bocas del Toro, Panamá (09°21'09"N; 82°15'32"W); 0,5 m, placa de polietileno; 09/03/2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO). DZUP ASC 140 – 1 ind.; 0,5 m, placa de polietileno; 25/03/2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO). DZUP ASC 141 – 2 ind.; 0,5 m, placa de polietileno; 09/04/2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

Morfologia externa: Em vida adere-se ao substrato pela região esquerda do corpo, possui túnica incolor com sífões de coloração castanha e pontos amarelos entre os lobos, sem incrustações, mas ligeiramente recoberto por finos sedimentos. Pode apresentar alguns filamentos de algas e hidrozoários. De pequeno porte, o maior exemplar encontrado chega a 2,1 cm de comprimento total. Túnica translúcida e fina (0,1-0,2 mm de espessura), com consistência cartilaginosa. Após fixação, túnica lisa ou levemente enrugada, incolor, com vasos transparentes.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 0,7-1,7 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo (geralmente ao redor de 1,0 cm) e 0,3-0,7

cm de largura. Sifões curtos (cada um com 1,0-4,0 mm de comprimento); oral com oito lobos; atrial com 7-10 lobos, localizado na região média do corpo (a 0,4-0,7 cm do anel de tentáculos). Lobos grandes e triangulares, de margem lisa. Presença de ocelos de coloração amarela entre os lobos de ambos os sifões (mais conspícuos no sifão oral). Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,9-2,5 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito com finas fibras transversais completas entre as margens (as mais espessas com 0,02-0,05 mm de diâmetro). Lado esquerdo com fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo. Fibras musculares longitudinais dos sifões em pequena quantidade, organizadas em feixes largos, um para cada lobo. Musculatura circular não muito densa, em ainda menor quantidade no sifão atrial.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 62-82 tentáculos orais, de quatro tamanhos diferentes, os maiores com 0,7-2,0 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em anel muscular curto e espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 0,24-0,80 mm de distância do anel de tentáculos no lado direito do corpo (lado esquerdo mais amplo; distância não relacionada ao comprimento total do indivíduo); área entre anéis com papilas (0,02-0,04 mm de diâmetro), não muito numerosas. Abertura do tubérculo dorsal com 0,10-0,25 mm de diâmetro ântero-posterior, em forma de U, sem pontas enroladas; área peritubercular arredondada e pequena. Lâmina dorsal serrilhada (devido tanto às extensões dos vasos transversais quanto a projeções próprias menores), dupla nos primeiros 0,5-1,4 mm, seguindo até o final da faringe. Em geral, não apresenta papilas na lâmina na região próxima à abertura do esôfago – apenas em DZUP ASC 140 foram encontradas quatro pequenas papilas. Presença de uma estreita lâmina de margem serrilhada pelos vasos transversais contorna o lado direito da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,5 mm no lado direito e de 0,1-0,4 mm no lado esquerdo. Faringe pouco plicada (de ½ a 1 dobra por malha), com 27-31 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 24-28 vasos no esquerdo; 37-67 vasos transversais; 4-6 fendas por malha; papilas primárias simples ou bilobadas, com 0,07-0,14 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias. Faringe se prolonga além do estômago, por até 3,6 mm (maior o indivíduo, maior a distância). Endóstilo pode apresentar papilas pequenas e esparsas na margem.

Tubo digestório: pequeno, ocupando aproximadamente $\frac{1}{3}$ da parede do lado esquerdo do corpo, na região média do mesmo. Estômago arredondado, com 5-7 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária bem acentuadas; ânus de margem bilobada abrindo-se próximo ao sifão atrial (3,0-7,1 mm de distância dos tentáculos orais). Vesículas renais pouco conspícuas recobrimdo o estômago e a alça primária do intestino, com 0,04-0,09 mm de diâmetro. Presença de pequenas papilas irregulares sobre o tubo digestivo.

Gônadas: ovário ramificado, com eixo central inserido na alça intestinal primária e extensões tanto sobre a porção ascendente quanto descendente do intestino. Ovário visível principalmente pela face interna; pela face externa, é visível apenas no interior e ao redor da alça intestinal primária. Diâmetro dos maiores ovócitos de 0,1 mm. Folículos testiculares alongados localizados sobre o tubo digestivo, com exceção do estômago e do reto. Gonodutos abrem-se posteriormente ao ânus, próximo ao mesmo.

Distribuição Geográfica: Panamá (Atlântico) (Bonnet & Rocha 2011a).

Comentários: os espécimes observados são os mesmos da descrição original, tendo sido apenas acrescentados alguns caracteres, como no caso de *A. bocatorensis*. Para comparações com espécies similares, ver Bonnet & Rocha (2011a).

Ascidia conchilega Müller, 1776

Material examinado: DZUP ASC 172 – 1 ind.; Estação 19, Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°53'02"N; 11°05'36"W); 09.IX.2010; 160 m, em pequena pedra; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: indivíduo com 1,7 cm de comprimento total. Quando vivo adere-se ao substrato por todo o lado esquerdo do corpo. Túnica recoberta por grãos de areia, fragmentos calcários, foraminíferos e juvenis de ascídias simples. Túnica translúcida, de consistência cartilaginosa e 1,0 mm de espessura. Após fixação, a túnica apresenta superfície rugosa.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,6 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,1 cm de largura. Sifão oral com 2,85 mm de comprimento e seis lobos triangulares de margem lisa; atrial com 4,75 mm de comprimento, um pouco posterior à metade do comprimento do corpo (a 9,5 mm do

anel de tentáculos); lobos do sifão atrial não observados por danos no espécime. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado aproximadamente na metade da distância entre os dois sifões, a 4,3 mm de distância da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito formada por uma rede de malha ampla, com fibras musculares transversais completas no terço anterior do corpo e fibras em várias direções no restante do corpo. Fibras musculares com aproximadamente 0,06 mm de espessura. Lado esquerdo com fibras longitudinais partindo do sifão oral e fibras curtas perpendiculares a toda margem dorsal do corpo. Fibras musculares longitudinais dos sifões não organizadas em feixes; do lado direito se estendem até a altura do sifão atrial. Fibras circulares dos sifões em alta densidade.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 38 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores com 1,5 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em um anel muscular. Anel ciliado duplo e liso, localizado a 0,77 mm de distância do anel de tentáculos; área entre anéis completamente recoberta por numerosas pequenas papilas (0,019 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com 0,286 mm de diâmetro ântero-posterior, em forma de U, com uma das pontas levemente curvada para fora; área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal serrilhada, com projeções maiores na margem derivadas dos prolongamentos dos vasos transversais, entremeadas por projeções mais curtas próprias; lâmina dorsal dupla nos primeiros 3,1 mm, seguindo até o final da faringe. Apresenta grandes papilas ao longo de quase toda a face direita da lâmina dorsal, em maior quantidade próximo à abertura do esôfago. Uma fileira de longas linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe margeia o lado direito da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 1,1 mm no lado direito e de 0,44 mm no lado esquerdo. Faringe levemente plicada ($\frac{1}{2}$ dobra por malha), com 41 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 34 vasos no esquerdo; 87 vasos transversais; papilas primárias bilobadas, com 0,15 mm; papilas intermediárias simples e longas; 4-5 fendas por malha. Vasos parastigmáticos ausentes. Faringe se estende ligeiramente após a margem posterior do estômago (cerca de 2,4 mm). Endóstilo com papilas na margem.

Tubo digestório: ocupa cerca de $\frac{2}{3}$ do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago arredondado e grande; intestino isodiamétrico com alça primária fechada e secundária formando quase um ângulo de 90°; reto em posição quase

horizontal; ânus de margem lisa, abrindo-se a 9,3 mm de distância dos tentáculos orais, junto da abertura do sifão atrial; presença de tiflossole. Vesículas renais não observadas, mas há pequenas projeções triangulares recobrimdo todo o tubo digestivo, além de projeções maiores e irregulares sobre parte do intestino.

Gônadas: ovário ramificado, com ramificações tanto sobre a porção ascendente quanto descendente do intestino, visível externamente ao redor da alça intestinal primária e internamente sobre todo o intestino. Ovócitos com até 0,1 mm de diâmetro. Folículos testiculares alongados localizados sobre a região ascendente e descendente do intestino. Gonodutos abrindo-se posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica: Suécia, Shetlands, Noruega, Faroe Islands, British Isles, English Channel (França e Inglaterra), Espanha, França, Marselha, Córsega, Itália, Argélia, Mar Adriático (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950).

Comentários: de acordo com Ärnback-Christie-Linde (1934), a grande distância entre os sifões, o gânglio neural posicionado mais ou menos na metade da distância entre o tubérculo dorsal e a região da alça intestinal secundária, a lâmina dorsal irregularmente denteada e com numerosas papilas na face direita (principalmente na região posterior do corpo), a presença de uma fileira de linguetas margeando a abertura do esôfago, estômago com numerosas pregas internas, intestino com tiflossole, vesículas renais com até 2,0 mm de diâmetro recobrimdo o tubo digestório e ovário ramificado são características que identificam a espécie. O exemplar observado concorda com essa descrição, com exceção das pregas no estômago e das vesículas renais, que não puderam ser visualizadas. Tal fato não foi considerado suficiente para a separação em outra espécie, uma vez que o estômago do espécime em questão encontrava-se danificado.

Ascidia corallicola Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: MZUSP 00017 – 1 ind.; Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°16'38"N; 82°12'24"W); 07.VI.2009; 0,5 m; recife de coral; col.: G. Lambert (HOLÓTIPO)

DZUP ASC 130 – 1 ind.; Casablanca, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°21'41"N; 82°16'28"W); 05.VII.2009; 0,5 m, placa de polietileno; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 128 – 1 ind.; STRI Bay, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°21'09"N; 82°15'32"W); em abraçadeira de plástico; 06.VI.2009; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 127 – 1 ind.; Ilha Bastimento, Bocas del Toro, Panamá (09°16'49"N; 82°10'20"W); 18.V.2009; 0,5 m, placa de polietileno; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

MZUSP 00018 – 1 ind.; Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°16'38"N; 82°12'24"W); 07.VI.2009; 0,5 m; recife de coral; col.: G. Lambert (PARÁTIPO)

DZUP ASC 129 – 2 ind.; Ilha Pastores, Bocas del Toro, Panamá (09°14'15"N; 82°19'47"W); 13.VI.2009; 1,0-2,0 m, recife de coral; col.: R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 126 – 1 ind.; Almirante Bay, Bocas del Toro, Panamá (09°14'N; 82°14'W); 0,5 m, raízes de mangue; 25.III.2009; col.: G. Giribet (PARÁTIPO)

Morfologia externa: indivíduos com até 6,5 cm de comprimento total, de coloração laranja ou vermelha quando vivos, fixada ao substrato pela região esquerda, principalmente na porção posterior do corpo. Não costuma apresentar incrustações, porém em um espécime havia pequenas anêmonas fixadas à túnica. Em dois indivíduos foram encontradas algumas projeções cônicas curtas do lado esquerdo do corpo. Túnica translúcida, de espessura variável (0,4-2,5 mm de espessura) e consistência cartilaginosa. Após fixação, a túnica apresenta superfície rugosa e coloração bege claro com vasos alaranjados, mais conspícuos nos sifões.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 2,1-5,1 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo (mais comumente entre 3,0-4,0 cm), e 0,9-1,9 cm de largura. Apresenta forte coloração laranja mesmo após a fixação, principalmente na região anterior do corpo. Sifão oral com 0,30-1,25 cm de comprimento e 8-9 lobos; atrial com 0,5-1,1 cm de comprimento, localizado na metade ou no terço posterior do corpo (a 1,0-2,5 cm do anel de tentáculos); normalmente possui 10 lobos, mas em um indivíduo havia apenas oito e em outro, seis lobos; lobos de ambos os sifões em geral longos, de extremidade arredondada e margem lisa. Presença

de ocelos de coloração laranja entre os lobos de ambos os sifões. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 4,3-13,0 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito com uma densa rede de fibras musculares em várias direções, com 0,06-0,15 mm de espessura. Presença também de fibras longitudinais longas (prolongamento das fibras do sifão oral) que alcançam aproximadamente a metade da distância entre os sifões (em um indivíduo chegavam quase até a base do sifão atrial). Lado esquerdo com fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo. Fibras musculares longitudinais dos sifões não organizadas em feixes. Fibras circulares dos sifões em alta densidade, porém no sifão atrial pode haver uma menor quantidade das mesmas.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 49-71 tentáculos orais (mais frequentemente entre 50-60), de três tamanhos, os maiores com 1,8-3,1 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em um anel muscular curto e espesso. Anel ciliado duplo, com a margem anterior formando uma larga membrana com longas projeções na borda, localizado a 0,37-1,40 mm de distância do anel de tentáculos no lado direito do corpo (ambos os lados com distância similar, não relacionada com o comprimento do indivíduo); área entre anéis recoberta por grandes papilas (0,03-0,07 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com 0,3-0,9 mm de diâmetro ântero-posterior, em forma de U, com ou sem pontas curvadas; área peritubercular arredondada e pequena. Lâmina dorsal serrilhada, com projeções maiores na margem derivadas dos prolongamentos dos vasos transversais, mas com serrilhado próprio também; lâmina dorsal dupla nos primeiros 1,4-4,1 mm, seguindo até o final da faringe; pode apresentar algumas pequenas papilas próximo à abertura do esôfago. Uma lâmina estreita e de margem lisa margeia o lado direito da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,22-0,63 mm no lado direito e de 0,16-0,47 mm no lado esquerdo. Faringe fortemente plicada (em geral com 1½ dobra por malha), com 49-58 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 40-53 vasos no esquerdo; 88-248 vasos transversais; papilas primárias com 0,1-0,2 mm, de formato em geral trilobado, mas podem ser simples; 5-7 fendas por malha. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe se estende por 2,5-6,8 mm além do estômago, distância esta não relacionada ao comprimento do espécime. Endóstilo de margem ondulada, às vezes com papilas em sua margem.

Tube digestório: ocupa cerca de metade ou pouco mais da parede do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago alongado e grande, com 8-11 pregas longitudinais internas; intestino com alças primária e secundária fechadas, presença de dilatação não saculiforme na região descendente do intestino, alça secundária e em parte do reto; ânus de margem lisa ou bilobada abrindo em posição ligeiramente posterior à abertura do sifão atrial (8,7-28,6 mm de distância dos tentáculos orais). Vesículas renais nem sempre conspícuas; quando observadas, vesículas renais com 0,08-0,21 mm de diâmetro, recobrando estômago e parte do intestino. Sobre o estômago e intestino pode haver pequenas papilas irregulares.

Gônadas: ovário lobado, inserido totalmente no interior da alça intestinal primária, visível tanto interna quanto externamente; maiores ovócitos com até 0,15 mm de diâmetro. Folículos testiculares alongados localizados sobre estômago e quase todo o intestino (apenas na região do reto não há folículos). Gonodutos abrindo-se posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica: Panamá (Bonnet & Rocha 2011a).

Comentários: o material analisado corresponde a parte das amostras presentes na descrição original, tendo apenas sido complementado com novos caracteres. Uma discussão sobre a espécie pode ser encontrada em Bonnet & Rocha (2011a).

Ascidia interrupta Heller, 1878

Material examinado: DZUP ASC 75 – 1 ind.; Baía Honda, Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°18'23"N; 82°10'24"W); 0.5 m, em raízes de mangue; 23/08/2006; col. R.M. Rocha

DZUP ASC 70 – 1 ind.; Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°16'38"N; 82°12'24"W); 0.5 m, em raízes de mangue; 15/08/2006; col. R.M. Rocha. DZUP ASC 26 – 1 ind.; 0.5 m, em raízes de mangue; 04/08/2003; col. R.M. Rocha

DZUP ASC 76 – 2 ind.; Crawl Cay, Ilha Bastimentos, Bocas del Toro, Panamá (09°15'16"N; 82°08'10"W); 25/06/2006; col. R.M. Rocha

DZUP ASC 69 – 1 ind.; Ilha Pastores, Bocas del Toro, Panamá (09°14'15"N; 82°19'47"W); 0.5 m, em recifes de corais; 10/08/2003; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: animal aderido ao substrato pelo lado esquerdo do corpo, pode apresentar filamentos de algas e fragmentos calcários sobre a superfície livre. Apresenta coloração vermelha ou laranja em vida; em alguns indivíduos foram encontrados vasos escuros na túnica. Maior indivíduo com 6,5 cm de comprimento total. Túnica cartilaginosa, com 0,3-3,1 mm de espessura, translúcida e de superfície rugosa após a fixação. Apresenta pequenas papilas cônicas na região posterior do corpo; podem ser encontradas também projeções arredondadas maiores na metade anterior do corpo.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,2-5,0 cm de comprimento da linha de tentáculos à margem posterior do corpo (geralmente entre 4,6-5,0 cm), e 1,1-2,3 cm de largura; parede do corpo incolor ou pigmentada de marrom, principalmente nos sifões. Sifão oral apical, com 0,4-1,2 cm de comprimento e margem com 8-16 lobos triangulares. Sifão atrial bem afastado do oral, a 1,2-3,1 cm de distância do anel de tentáculos, com 0,3-0,7 cm de comprimento, margem 6-16 lobos triangulares. Lobos de ambos os sifões lisos ou com projeções filiformes discretas na margem. Presença de ocelos escuros entre os lobos de ambos os sifões. Gânglio nervoso localizado entre o $\frac{1}{3}$ anterior e a metade da distância entre os sifões, a 0,5-1,2 cm da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito com uma rede de fibras (0,05-0,20 mm de diâmetro), além de longas fibras longitudinais que partem do sifão oral até próximo ao sifão atrial. Lado esquerdo com fibras curtas perpendiculares à margem dorsal e fibras longitudinais não tão longas quanto as do lado direito. Do lado esquerdo há ainda um feixe de fibras transversais completas na região anterior, logo posterior ao sifão oral, nem sempre fácil de ser observado. Sifões com musculatura longitudinal não organizada em feixes e forte musculatura circular em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa ou com papilas cônicas abundantes recobrendo toda a área, principalmente próximo à base do sifão (papilas com 0,03-0,06 mm de diâmetro). Presença de 47-117 tentáculos orais (em geral entre 75-100), de três tamanhos distintos, os maiores medindo 2,0-3,4 mm de comprimento; tentáculos inseridos em anel muscular bem espesso. Anel ciliado duplo, em geral com projeções na margem anterior; área entre a linha dos tentáculos e anel ciliado com 0,7-1,0 mm de distância no lado direito do corpo (não relacionada ao comprimento total do

indivíduo); um dos lados costuma ser mais amplo, porém varia conforme o indivíduo. Presença de papilas na área entre os tentáculos orais e anel ciliado (0,03-0,04 mm de diâmetro), em densidade variável. Área peritubercular arredondada ou em um curto V. Abertura do tubérculo dorsal em U com as pontas enroladas para dentro (apenas em DZUP ASC 75 a abertura é formada por várias fendas), com 0,2-0,8 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal de margem serrilhada tanto por projeções dos vasos transversais quanto por denteado próprio; dupla nos primeiros 1,7-5,0 mm. Pode haver papilas próximo à entrada do esôfago, mas não em grande quantidade. Lâmina dorsal passa à esquerda do esôfago e estende-se juntamente com a faringe posteriormente ao estômago. Presença de uma lâmina estreita contornando a margem direita da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,12-1,10 mm no lado direito e de 0,18-0,25 mm no lado esquerdo. Faringe fortemente plicada (1-1½ dobra por malha, em geral bem acentuadas), com 43-64 vasos longitudinais do lado direito e 37-56 vasos do lado esquerdo; 131-249 vasos transversais; papilas primárias simples ou triplas, com 0,09-0,15 mm de altura; 5-7 fendas por malha. Ausência de papilas intermediárias ou vasos parastigmáticos. Faringe se prolonga além da margem posterior do estômago em até 6,0 mm de distância (distância variável conforme o indivíduo, porém não relacionado ao tamanho do mesmo). Endóstilo com pequenas papilas em suas margens.

Tubo digestório: volumoso, ocupa cerca de metade da área da parede do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago alongado, com 8-16 pregas longitudinais internas. Intestino com alças primária e secundária fechadas; presença de dilatação em geral saculiforme na porção descendente do intestino, alça secundária e no curto reto. Abertura anal com margem lisa ou bilobada, a 1,3-2,8 cm do anel de tentáculos, pouco posterior ao sifão atrial. Vesículas renais com até 0,2 mm de diâmetro podem estar presentes sobre o tubo digestório.

Gônadas: ovário lobado, restrito à alça intestinal primária, visível tanto pela face externa quanto interna do corpo. Ovócitos com até 0,16 mm de diâmetro. Testículo formado por numerosos folículos, principalmente sobre o estômago e alça ascendente do intestino. Abertura dos gonodutos junto ao ânus.

Distribuição Geográfica: EUA (Carolina do Norte, Flórida), Bahamas, Cuba, Jamaica, Porto Rico, St. Thomas, Guadalupe, Belize, Panamá (Atlântico), Aruba, Curaçao,

Bonaire, Venezuela, Brasil (BA), Açores, Congo (Van Name 1945; Monniot C. 1983; Bonnet & Rocha 2011a; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: espécie bastante comum no Caribe, pode apresentar até 15,0 cm de comprimento, coloração verde escuro, cinza ou preta em vida, projeções arredondadas na túnica, 50-140 tentáculos orais, faringe com até 80 vasos longitudinais de cada lado e 6-10 fendas por malha (Van Name 1945; Monniot C. 1983; Bonnet & Rocha 2011a). *Ascidia interrupta* foi descrita para o litoral paulista (Van Name 1945; Costa 1969), porém são registros pontuais, mais provavelmente casos ou de introdução, por ser uma área portuária (São Sebastião) e uma distribuição disjunta em relação aos demais materiais, ou uma identificação duvidosa, uma vez que a descrição de Van Name (1945) é baseada nos materiais provenientes do Caribe e o trabalho de Costa (1969) não inclui nenhuma descrição.

Ascidia cf. liberata Sluiter, 1887

Material examinado: DZUP ASC 55 – 2 ind.; STRI dock, Panamá City, Panamá (08°55'04"N; 79°31'58"W); 1,5 m, dentro de tijolo; 07.XII.2008; col.: R.M. Rocha

DZUP ASC 56 – 2 ind.; Marina Flamenco, Panamá City, Panamá (08°54'45"N; 79°31'20"W); 1,5m, dentro de tijolo; 04.I.2009; col.: R.M. Rocha

DZUP ASC 57 – 1 ind.; Ilha Canales de Afuera, Panamá (07°41'34"N; 81°38'22"W); 5,0 m, sob pedra; 13.I.2009; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: indivíduos pequenos, com até 3,2 cm de comprimento total, de coloração vermelha ou amarela quando vivos, com sífões vermelhos. Aderem-se ao substrato por toda a região esquerda do corpo, podendo apresentar fragmentos de tubos calcários ou pequenas colônias de ascídias. Presença de numerosas projeções cônicas ao redor dos sífões. Pode haver projeções mais alongadas ao longo da margem ventral do corpo. Túnica semi-transparente, com 0,4-1,5 mm de espessura. Após fixação, túnica incolor e de superfície lisa, somente com as projeções já citadas.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,3-2,4 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo e 0,9-1,2 cm de largura. Sífões curtos, com cerca de 0,3-0,7 cm de comprimento cada; oral com oito lobos; atrial localizado entre o

terço anterior e a metade do comprimento do corpo (a 0,5-1,2 cm do anel de tentáculos), com 5-6 lobos. Lobos de ambos os sifões longos, arredondados e com longas projeções na margem. Pequenos ocelos amarelos podem ser encontrados entre os lobos do sifão oral. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,9-1,9 mm de distância da base do mesmo. Presença de uma dobra na parede do corpo do lado direito, às vezes presente também no lado esquerdo.

Musculatura: lado direito com fibras curtas de 0,10-0,25 mm de espessura, perpendiculares à margem dorsal, desde a base do sifão oral até pouco além do sifão atrial (o $\frac{1}{3}$ posterior do corpo é livre de musculatura). Lado esquerdo com fibras curtas longitudinais partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo. Em ambos os lados, essas fibras estão dispostas em grande quantidade lado a lado, formando uma capa contínua de musculatura. Fibras musculares longitudinais dos sifões formam feixes espessos em cada um dos lobos; musculatura circular densa em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 41-88 tentáculos orais (mais comumente entre 41-60), de três tamanhos, os maiores com 1,25-2,50 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em um espesso anel muscular. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 0,34-0,60 mm de distância do anel de tentáculos, medidos na metade do lado direito (quanto maior o indivíduo, maior a distância); próximo ao endóstilo, essa distância aumenta dos dois lados do corpo, ampliando o espaço entre os tentáculos orais e o anel ciliado. Área entre anéis em geral lisa, mas podem ser encontradas papilas na área (as maiores com 0,04 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com 0,6-1,3 mm de diâmetro ântero-posterior, em forma de U, com ou sem pontas enroladas (apenas um indivíduo possuía o tubérculo dorsal meandriforme); área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal com margem serrilhada devido a projeções curtas próprias e às projeções dos vasos transversais da faringe; lâmina dorsal dupla nos primeiros 1,3-4,0 mm, segue até o final da faringe, junto ao estômago. Ausência de papilas próximas à abertura do esôfago. Uma fileira de longas linguetas contorna o lado direito da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,36-1,20 mm no lado direito e de 0,25-0,60 mm no lado esquerdo. Faringe fortemente plicada ($1\frac{1}{2}$ a 2 dobras por malha), com 26-32 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 24-31 vasos no esquerdo; 33-73 vasos transversais; 6-9 fendas por malha; papilas primárias bi ou trilobadas, com 0,10-

0,13 mm de altura. Ausência de papilas intermediárias, mas em algumas regiões da faringe são encontrados vasos parastigmáticos, provavelmente relacionados ao crescimento do indivíduo. Presença de papilas na margem do endóstilo.

Tubo digestório: ocupa $\frac{2}{3}$ ou mais do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago globoso, com aproximadamente 4-6 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alça primária e secundária fechadas; ânus de margem bilobada abrindo-se quase junto ao sifão atrial, a 4,0-10,5 mm de distância dos tentáculos orais. Vesículas renais pouco conspícuas, com 0,04-0,08 mm de diâmetro, recobrimdo todo o tubo digestório. Sobre o estômago e intestino também há papilas, em geral irregulares, mas sobre o reto são cônicas.

Gônadas: ovário lobado, restrito ao interior da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,2 mm de diâmetro. Testículo ramificado, com folículos alongados. Ambas as gônadas são visíveis tanto pela face externa quanto interna do corpo. Gonodutos abrem-se posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica para *A. liberata*: Indonésia, Austrália, Nova Caledônia, Ilhas Fiji, Ilhas Salomão (Kott 1985; Nishikawa 1986; Monniot C. 1987).

Comentários: como comparado por Bonnet *et al.* (2013), os espécimes observados se assemelham bastante a *A. liberata*, diferindo apenas no número um pouco maior de tentáculos e no formato do ovário. Entretanto, o acesso à descrição original permitiu agora saber que para o holótipo são reportados 60-70 tentáculos, o tubérculo dorsal é formado por quatro fendas irregulares, a lâmina dorsal é lisa, a faringe possui 4-5 fendas por malha e o ovário está restrito ao interior da alça intestinal (Sluiter 1887). A variação no número de tentáculos orais não é grande e pode ser considerada normal dentro de Ascidiidae. Já a abertura do tubérculo dorsal em geral é bem conservada dentro da espécie, mas nos próprios exemplares estudados foram encontradas diferenças, o que faz supor que para esta espécie em particular isso não seja relevante. A lâmina dorsal é outro caráter que normalmente se mantém constante, porém é uma estrutura que às vezes pode apresentar variações. O que realmente causa dúvidas é o formato do ovário, esse sim sempre estável intraespecificamente. Seria necessária uma avaliação de todos os espécimes conhecidos, incluindo o tipo, para esclarecer a identidade de cada um.

Ascidia mentula Müller, 1776

Material examinado: NHM 1898.5.7.283 – 2 ind.; Tobermory, Isle of Mull, Escócia (56°38'N; 06°03'W); 1866; col.: Norman

DZUP ASC 20 – 1 ind.; Ría de Ferrol, La Coruña, Galícia, Espanha (43°28'06"N; 08°16'38"W); sublitoral; 11.VII.1988; col.: E. Vazquez

Morfologia externa: maior indivíduo com aproximadamente 7,5 cm de comprimento total, fixado ao substrato por todo lado esquerdo do corpo. Túnica translúcida quando vivos, pode apresentar esponjas e filamentos de algas sobre a superfície livre. Após fixação, túnica de superfície lisa ou rugosa, semitransparente, consistência cartilaginosa e até 3,2 mm de espessura. Ausência de projeções na túnica.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 2,6-5,0 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,2-2,0 cm de largura. Sifão oral com 0,2 cm de comprimento, com sete lobos na margem (apenas o sifão oral do menor indivíduo estava em condições de ser analisado); atrial deslocado posteriormente quase na metade do comprimento do corpo (1,4-2,5 cm do anel de tentáculos), com 0,3-1,1 cm de comprimento; não foi possível contar o número de lobos. Margem dos lobos dos sifões lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado na região mediana entre os dois sifões, a 8,0 mm de distância da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito com uma rede de fibras em várias direções. Lado esquerdo com fibras transversais completas próximo ao sifão oral e uma faixa de fibras curtas perpendiculares à margem dorsal do corpo até a altura do sifão atrial. Fibras longitudinais longas partindo do sifão oral até próximo da altura do sifão atrial em ambos os lados do corpo. Fibras com 0,08-0,11 mm de espessura. Fibras musculares longitudinais dos sifões não organizadas em feixes. Musculatura circular mais densa no sifão oral.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de mais de 40 tentáculos orais (em todos os indivíduos analisados faltava uma parte do sifão oral), de três tamanhos diferentes, sendo os maiores com 2,1-2,2 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 0,80-0,97 mm de distância do anel de tentáculos (próximo à região ventral essa distância é maior em ambos os lados; não há relação de tamanho corporal e distância

entre anéis); presença de papilas (0,02-0,03 mm de diâmetro) distribuídas por toda a área entre os anéis. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas; área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 2,6 mm, seguindo até o final da faringe. Ausência de papilas próximas à abertura do esôfago. Uma fileira de linguetas triangulares margeia o lado direito da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,25-0,36 mm no lado direito e de 0,18-0,24 mm no lado esquerdo. Faringe levemente plicada (aproximadamente ½ dobra por malha), com 40-80 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 34-78 vasos no esquerdo; até 315 vasos transversais; 4-5 fendas por malha; papilas primárias simples ou bilobadas, com 0,10-0,14 mm de altura. Presença de papilas intermediárias digitiformes. Ausência de vasos parastigmáticos. Faringe se prolonga posteriormente ao estômago (2,6-9,6 mm de distância), sendo maior a distância no maior indivíduo. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: ocupa pouco mais da metade do lado esquerdo do corpo, na região média e parte do terço posterior, porém a uma certa distância da margem posterior do corpo. Estômago em formato de barril, com cerca de seis pregas longitudinais internas. Intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; reto curto. Ânus de margem lisa abrindo-se a 14,0-25,0 mm de distância dos tentáculos orais, junto ao sifão atrial. Vesículas renais com 0,1-0,2 mm de diâmetro, recobrimdo todo o tubo digestivo, principalmente na região do estômago.

Gônadas: ovário lobado, restrito à região interna da alça intestinal primária, visível tanto externa quanto internamente; maiores ovócitos com 0,11 mm de diâmetro. Testículo ramificado, com numerosos e pequenos folículos sobre quase todo o intestino, com exceção do reto. Gonodutos abrindo-se posteriormente ao ânus; espermiduto entre o ânus e o oviduto.

Distribuição Geográfica: Suécia, Noruega, Escócia, Irlanda, Inglaterra, França, Espanha, Mar Mediterrâneo, Mar Negro (Alder & Hancock 1905; Ämbäck-Christie-Linde 1934; Millar 1966; Berrill 1950; Turon 1985).

Comentários: espécie comum no Atlântico europeu, os indivíduos de *A. mentula* podem alcançar até 18 cm de comprimento total, possuem coloração cinza ou rosa quando em vida e podem apresentar projeções arredondadas na túnica (Berrill 1950; Millar 1966).

Muitas vezes, vasos avermelhados são conspícuos por toda a túnica e a própria parede do corpo pode apresentar uma coloração rósea (Alder & Hancock 1905). O sifão atrial encontra-se na metade ou a $\frac{2}{3}$ do comprimento corpo, há entre 40-100 tentáculos orais, a faringe pode ter até 100 vasos longitudinais de cada lado e 4-8 fendas por malha e o ânus apresenta margem bilobada (Berrill 1950).

O material depositado na coleção do NHM e utilizado neste trabalho corresponde ao tipo de *A. rubicunda* Hancock, 1870, espécie que foi posteriormente sinonimizada a *A. mentula*.

Ascidia monnioti Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: MZUSP 00019 – Ilha Pastores, Bocas del Toro, Panamá (09°14'15"N; 82°49'17"W); 0,5 m, recife de corais; 13.VI.2009, col. N.Y.K. Bonnet (HOLÓTIPO)

DZUP ASC 132 – 2 ind.; Ilha Pastores, Bocas del Toro, Panamá (09°14'15"N; 82°49'17"W); recife de corais; 17.VIII.2006, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO). DZUP ASC 133 – 1 ind.; recife de corais; 20.VIII.2006, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO). DZUP ASC 135 – 1 ind.; 1,5 m, recife de corais; 25.II.2009, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO). MZUSP 00020 – 1 ind.; 0,5 m, recife de corais; 13.VI.2009, col. N.Y.K. Bonnet (PARÁTIPO)

DZUP ASC 134 – 1 ind.; Hospital Point, Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°20'04"N; 82°13'10"W); 8,0 m, recife de corais; 23.XII.2008, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 136 – 1 ind.; Big Bight, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°22'N; 82°16'W); 1,0 m, recife de corais; 05.VI.2009, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 137 – 2 ind.; Crawl Cay, Ilha Bastimentos, Bocas del Toro, Panamá (09°15'16"N; 82°08'10"W); 0,5 m, recife de corais; 14.VI.2009, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 138 – 1 ind.; Casa Blanca, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°21'42"N; 82°16'29"W); recife de corais; 05.VII.2009, col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

Morfologia externa: coloração amarela quando vivo. Adere-se ao substrato pelo lado esquerdo do corpo. Em geral, apenas o sifão oral é visível, com numerosos lobos; o resto do corpo do animal está escondido no meio do coral onde vive. Maior indivíduo com 8,9 cm de comprimento total. Após a fixação a túnica apresenta-se opaca ou ligeiramente translúcida, de superfície enrugada, com 0,15-1,9 mm de espessura, mas sempre de consistência macia.

Animal sem túnica: corpo oblongo ou alongado, com 2,2-6,5 cm de comprimento da margem posterior até o anel de tentáculos (mais comumente entre 3,7-4,8 cm), e 0,8-2,1 cm de largura. Sifão oral de 0,3-1,1 cm de comprimento até a linha de tentáculos; sifão atrial localizado entre o terço anterior e a metade do corpo, a 1,0-2,8 cm de distância da base do sifão oral, com 0,4-1,3 cm de comprimento. Ambos os sifões possuem 10-16 lobos pequenos, bem marcados, de margem arredondada e lisa; eventualmente os lobos do sifão atrial podem ser levemente serrilhados. Ocelos de coloração parda ou amarela podem ser observados. Gânglio nervoso localizado a 6,2-18,2 mm de distância dos tentáculos orais, mais próximo do sifão atrial que do oral.

Musculatura: presença de fibras musculares transversais completas entre as margens dorsal e ventral no lado direito do corpo, com 0,13-0,25 mm de espessura. Fibras longitudinais resultantes do prolongamento da musculatura do sifão oral se estendem até a altura do gânglio nervoso no lado direito do corpo; no lado esquerdo, tais fibras são mais curtas (menos da metade do comprimento das fibras do lado direito). Lado esquerdo também com fibras curtas perpendiculares à margem dorsal. Sifões com musculatura longitudinal não organizada em feixes e densa musculatura circular.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral em geral lisa, porém um indivíduo (DZUP ASC 132) apresentava papilas pequenas e esparsas próximas à abertura do sifão, só visíveis com o uso de corante. Presença de 48-82 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes (sem predominância de uma média), os maiores com 0,9-5,8 mm de comprimento; tentáculos inseridos em uma curta e espessa membrana. Anel ciliado duplo, com longas projeções na margem superior em ambos os lados do corpo ou apenas do lado esquerdo. Anel ciliado situado a 0,3-1,9 mm de distância do anel de

tentáculos, medidos no lado direito do corpo; em geral a distância é similar em ambos os lados do corpo, porém em alguns indivíduos um dos lados pode ser mais amplo; não há relação entre o tamanho corporal e a distância entre os anéis. Área entre os anéis lisa ou completamente recoberta por pequenas papilas (0,01-0,03 de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal em U, simples ou com as pontas enroladas para dentro (apenas DZUP ASC 136 possui tubérculo dorsal meandriforme); com 0,3-0,7 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal serrilhada principalmente devido às projeções dos vasos transversais da faringe, dupla e lisa nos primeiros 1,20-6,25 mm após a área peritubercular, passando à esquerda da abertura do esôfago e continuando até o final da faringe. Ausência de papilas na face direita da lâmina dorsal, próximo à abertura do esôfago. Presença de uma estreita lâmina serrilhada no lado direito da entrada do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,3-1,0 mm no lado direito e de 0,2-0,5 mm no lado esquerdo. Faringe plicada ($\frac{1}{2}$ a $1\frac{1}{2}$ dobra por malha), com 42-66 vasos longitudinais no lado direito, 40-60 no lado esquerdo, 113-232 vasos transversais; papilas primárias simples ou bilobadas com 0,07-0,20 mm de altura; 5-7 fendas por malha. Ausência de vasos parastigmáticos ou papilas secundárias. Faringe se estende posteriormente muito além ao estômago (até 11,8 mm de distância, sendo esse valor maior conforme o tamanho do indivíduo). Endóstilo geralmente com margem lisa (apenas um indivíduo de DZUP ASC 137 apresentava pequenas papilas).

Tube digestório: localizado na região posterior e média do lado esquerdo do corpo, ocupando pouco mais da metade da parede corporal. Estômago estreito e alongado, com 8-18 pregas internas; intestino com alças primária e secundária; presença de dilatação não saculiforme na região descendente do intestino, alça secundária e reto; abertura do ânus lisa ou bilobada, quase na mesma altura do sifão atrial (9,0-30,0 mm de distância da linha de tentáculos). Vesículas renais nem sempre observadas; quando presentes, são pequenas (com 0,1-0,2 mm de diâmetro) e encontradas sobre estômago e região proximal do intestino.

Gônadas: ovário lobado, restrito ao interior da alça intestinal primária, visível completamente tanto interna quanto externamente, porém mais conspícuo pela face externa do corpo; ovócitos com 0,11-0,16 mm de diâmetro. Oviduto visível apenas externamente. Testículo ramificado sobre estômago e alça intestinal secundária, com

pequenos folículos arredondados. Espermiduto visível tanto externa quanto internamente. Abertura dos gonodutos pouco posterior ao ânus.

Distribuição Geográfica: Panamá (Atlântico) (Bonnet & Rocha 2011a).

Comentários: todos os espécimes estudados correspondem aos utilizados na descrição original. Foram acrescentados alguns caracteres não observados anteriormente, tais como aparência da parede interna do sifão oral e margem do endóstilo.

Ascidia cf. munda Sluiter, 1898

Material examinado: DZUP ASC 158 – 1 ind.; Garden, Ilha Solarte, Bocas Del Toro, Panamá (09°19'30"N; 82°13'11"W); 7.0 m, em recife de corais; 10.VIII.2008; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: espécime com 4,7 cm de comprimento total, de coloração esbranquiçada quando vivo e fixado ao substrato por toda a região esquerda do corpo. Apresenta fragmentos de conchas e pequenas colônias de ascídia sobre a superfície livre. Pequenas projeções ovais ligadas à túnica por um fino pedúnculo podem ser encontradas ao longo do corpo. Após fixação, túnica incolor, com 0,9-1,0 mm de espessura, superfície rugosa e com as projeções citadas.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,2 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo e 1,4 cm de largura. Sifão oral com 0,4 cm de comprimento e oito lobos; atrial localizado no final do terço anterior do corpo, a 1,0 cm do anel de tentáculos, com 0,8 cm de comprimento e dez lobos; margem dos lobos com projeções em ambos os sifões. Pequenos ocelos amarelos podem ser encontrados entre os lobos sifonais. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 3,4 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito com fibras curtas perpendiculares a toda a margem dorsal e ventral, as mais espessas com aproximadamente 0,06 mm de diâmetro. Lado esquerdo com fibras curtas perpendiculares apenas à margem dorsal do corpo. Fibras musculares longitudinais dos sifões não se encontram organizadas em feixes, mas se estendem a uma curta distância pelos dois lados do corpo. Musculatura circular densa em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral recoberta por pequenas papilas, principalmente da região do anel de tentáculos até aproximadamente a metade do comprimento do sifão, onde há uma fina membrana. Presença de 76 tentáculos orais, de três tamanhos, os maiores com até 2,5 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em um espesso anel muscular. Anel ciliado duplo, com longas projeções na lâmina anterior, localizado a 0,7-0,8 mm de distância do anel de tentáculos, medidos no lado direito, mais amplo do que o esquerdo. Área entre anéis coberta por papilas (0,03 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com 0,65 mm de diâmetro ântero-posterior, em forma de U, com as pontas enroladas para dentro; área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 2,0 mm; quando se torna única, apresenta margem serrilhada devido a projeções curtas próprias e às projeções dos vasos transversais da faringe; lâmina dorsal segue até o final da faringe. Presença de numerosas papilas na face direita da lâmina dorsal, próximo à abertura do esôfago. Uma lâmina estreita e de margem lisa contorna o lado direito da abertura esofágica. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 1,0 mm no lado direito e de 0,6 mm no lado esquerdo. Faringe lisa, com 47 vasos longitudinais no lado direito do corpo, 42 vasos no esquerdo; 124 vasos transversais; 5-7 fendas por malha; papilas primárias trilobadas, com 0,16 mm de altura. Ausência de papilas intermediárias e vasos parastigmáticos. Faringe se prolonga muito além da margem posterior do estômago (9,5 mm de distância). Endóstilo de margem lisa, mas em algumas partes é ondulada.

Tubo digestório: não muito volumoso, ocupa cerca de $\frac{1}{3}$ da superfície do lado esquerdo, na região média do corpo. Estômago alongado, com aproximadamente oito pregas longitudinais internas; intestino com dilatação saculiforme na região descendente; alça intestinal primária e secundária fechadas; ânus de margem ondulada abrindo-se a 7,3 mm de distância dos tentáculos orais, um pouco posterior a abertura do sifão atrial. Vesículas renais não observadas. Presença de papilas cônicas sobre o estômago.

Gônadas: ovário lobado, restrito ao interior da alça intestinal primária; maiores ovócitos com 0,11 mm de diâmetro. Testículo ramificado, com folículos piriformes, recobrimdo a dilatação intestinal e parte do reto. O ovário é mais conspícuo pela face externa do corpo, enquanto que o testículo é melhor observado pela face interna. Gonodutos abrem-se posteriormente ao ânus, próximo ao mesmo.

Distribuição Geográfica para *A. munda*: Indonésia, Austrália, Nova Caledônia (Kott 1985; Monniot C. 1987).

Comentários: este é outro caso em que as descrições encontradas na bibliografia apresentam similaridades entre si e também incongruências, tais como a presença ou não de projeções na borda dos sifões, o formato do tubérculo dorsal, o número de fendas por malha e o formato do ovário (Bonnet & Rocha 2011a). A mais crítica de todas é referente ao formato do ovário, em geral bastante conservado dentro das espécies, mas que Monniot C. (1987) apresenta como sendo ramificado para exemplares da Nova Caledônia enquanto que Kott (1985) não faz nenhuma referência ao ovário dos espécimes australianos. No geral o exemplar aqui observado é bastante similar ao descrito por Monniot C. (1987), porém a diferença no formato do ovário é algo a ser considerado. Infelizmente não foi possível analisar o tipo e nem acessar a descrição original, o que ajudaria a esclarecer as dúvidas de identificação.

Ascidia nordestina Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: DZUP ASC 176 – 2 ind.; Porto da Barra, BA, Brasil (13°00'14"S; 38°32'02"W); 3.0-5.0 m; 16.XII.2007, col. R.M. Rocha

Morfologia externa: Adere-se ao substrato pelo lado esquerdo do corpo, em geral possui a túnica livre de incrustações, mas pode apresentar hidrozoários sobre a superfície livre. Maior indivíduo com até 1,3 cm de comprimento total. Túnica translúcida, de consistência cartilaginosa (0,18-0,3 mm de espessura) e superfície enrugada após fixação. Não apresenta projeções.

Animal sem túnica: corpo oval, com 0,8-0,9 cm de comprimento da margem posterior até o anel de tentáculos, e 0,4 cm de largura. Sifão oral com 0,3-0,4 cm de comprimento e oito lobos triangulares na margem; sifão atrial no final do terço anterior do corpo, a 0,3-0,4 cm de distância da base do sifão oral, com 0,2-0,3 cm de comprimento e seis lobos triangulares na margem. Ambos os sifões com ocelos de coloração laranja entre os lobos e projeções longas e finas na margem. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,6-1,4 mm de distância dos tentáculos orais.

Musculatura: presença de uma rede de fibras musculares com predomínio de fibras transversais completas entre as margens dorsal e ventral no lado direito do corpo, com 0,1-0,2 mm de espessura. No lado esquerdo do corpo, fibras longitudinais extremamente curtas partem do sifão oral, assim como também há fibras curtas perpendiculares à margem dorsal. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes. Musculatura circular dos sifões densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral com papilas (0,02-0,03 mm diâmetro). Presença de 86-99 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores com 1,5-1,9 mm de comprimento. Anel ciliado duplo, com longas projeções na margem anterior, situado a 0,3-0,4 mm de distância do anel de tentáculos (distância similar em ambos os lados do corpo); área entre os anéis recoberta por papilas (0,02-0,04 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,09-0,12 mm de diâmetro ântero-posterior; área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe, entremeados por projeções próprias; lâmina dorsal dupla nos primeiros 1,0-1,2 mm após a área peritubercular, passando à esquerda da abertura do esôfago até o final da faringe. Face direita da lâmina dorsal com numerosas papilas próximo à abertura do esôfago. Uma estreita lâmina de margem lisa contorna o lado direito da entrada do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,1-0,4 mm no lado direito e de 0,07-0,20 mm no lado esquerdo. Faringe ligeiramente plicada ($\frac{1}{2}$ a 1 dobra por malha); 28-31 vasos longitudinais no lado direito; 23-27 vasos no lado esquerdo; 29-30 vasos transversais; papilas primárias bilobadas com 0,05-0,60 mm de altura; 3-6 fendas por malha. Presença de papilas intermediárias simples, quase indistintas. Ausência de vasos parastigmáticos. Faringe não se estende após o estômago, terminando junto a ele. Endóstilo com pequenas papilas nas margens.

Tubo digestório: localizado na região posterior e média, ocupa cerca de metade da área da parede do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado com aproximadamente cinco pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; abertura do ânus bilobada, a 3,5-4,0 mm de distância da linha de tentáculos, posterior ao sifão atrial. Vesículas renais quase inconspícuas (0,05 mm de diâmetro), sobre estômago e parte do intestino.

Gônadas: indivíduos imaturos.

Distribuição Geográfica: Brasil (BA, PE) (Bonnet & Rocha 2011b).

Comentários: apesar dos espécimes analisados serem parte daqueles usados no trabalho original da espécie, nenhum deles encontra-se sexualmente maduro (a descrição das gônadas foi feita baseada nos demais exemplares). Os indivíduos adultos apresentam ovário inserido na alça intestinal primária, com ramificações sobre a porção ascendente do intestino, mas principalmente sobre a porção descendente do mesmo, e uma parte inserida na alça secundária (Bonnet & Rocha 2011b). Ovário visível completamente pela face interna e no interior das duas alças intestinais pela face externa; ovócitos com até 0,15 mm de diâmetro (Bonnet & Rocha 2011b).

Os indivíduos foram reanalisados apenas com o intuito de completar a descrição com novos caracteres, como no caso de *A. bocatorensis*.

Ascidia obliqua Alder, 1863

Material examinado: DZUP ASC 168 – 1 ind.; estação 19, Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°53'02"N; 11°05'36"E); 160.0 m; 09.IX.2010; col. R.M. Rocha

DZUP ASC 169 – 1 ind.; estação 18, Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°52'56"N; 11°05'42"E); 60.0-140.0 m; 09.IX.2010; col. R.M. Rocha

DZUP ASC 170 – 1 ind.; estação 16, Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°52'51"N; 11°05'48"E); 60.0-160.0 m; 09.IX.2010; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: animais com até 7,0 cm de comprimento total, fixados ao substrato pela porção posterior do lado esquerdo do corpo. Pode apresentar fragmentos calcários incrustados. Túnica opaca ou ligeiramente translúcida, de superfície enrugada após fixação, com 0,5-1,6 mm de espessura e consistência cartilaginosa. Um dos indivíduos (DZUP ASC 168) apresentava uma projeção semiesférica da túnica próximo ao sifão atrial.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 2,5-2,9 cm de comprimento da margem posterior até o anel de tentáculos, e 1,1-1,6 cm de largura. Sifão oral de 0,3-0,7 cm de comprimento até a linha de tentáculos e nove lobos; sifão atrial localizado no terço anterior do corpo, a 0,6-0,9 cm de distância da base do sifão oral, com 0,1-0,6 cm de

comprimento e 6-7 lobos. Em ambos os sifões os lobos são arredondados, em geral largos e curtos, e apresentam projeções na margem. Na margem do sifão atrial podem ser observados pequenos ocelos de coloração amarelada, porém são quase inconspícuos. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão oral, a 1,3-2,5 mm de distância dos tentáculos orais.

Musculatura: presença de rede de fibras musculares com 0,1-0,16 mm de espessura no lado direito do corpo, sem predominância de sentido. No lado esquerdo do corpo, presença de fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral, assim como de fibras curtas perpendiculares à margem dorsal. A musculatura longitudinal dos sifões está organizada formando feixes largos (um para cada lobo), sendo cruzada por uma grande quantidade de fibras circulares mais finas.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral pode apresentar uma linha membranosa fina na região mediana do comprimento do sifão. Presença de 23-38 tentáculos orais inseridos em um forte anel muscular; tentáculos de três tamanhos diferentes, os maiores com 2,7-3,9 mm de comprimento. Anel ciliado duplo, liso, situado a 0,8-1,4 mm de distância do anel de tentáculos (não relacionada ao comprimento total do espécime), medidos no lado direito; lado esquerdo um pouco mais amplo, mas em ambos os lados há um aumento na distância ao se aproximar da região ventral. Área entre os anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em fenda vertical ou em U com as pontas viradas para dentro, com 0,9-1,5 mm de diâmetro ântero-posterior; pequena área peritubercular arredondada. Lâmina dorsal ampla, com os vasos transversais da faringe formando um leve serrilhado na margem. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 2,5-3,9 mm após a área peritubercular, passando à esquerda da abertura do esôfago e continuando até o final da faringe. Ausência de projeção à direita da abertura esofágica, bem como de papilas na face direita da lâmina dorsal, próximo à abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,6-1,0 mm no lado direito e de 0,3-0,5 mm no lado esquerdo. Faringe lisa ou com apenas uma dobra por malha, com 82-87 vasos longitudinais no lado direito, 64-82 no lado esquerdo, 108-148 vasos transversais; papilas primárias simples com 0,08-0,25 mm de altura; e 3-6 fendas por malha. Presença de alguns vasos longitudinais faríngeos incompletos. Vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias ausentes. Faringe termina junto ao estômago. Endóstilo em geral apresenta papilas pequenas e esparsas em sua margem, porém em um dos indivíduos isso não foi observado (DZUP ASC 169).

Tubo digestório: localizado na região posterior e média do lado esquerdo do corpo, ocupando metade ou pouco mais da metade da parede corporal. Estômago em forma de barril, com 13-18 pregas internas; intestino isodiamétrico com alças primária e secundária fechadas; abertura do ânus bilobada, a 9,0-12,5 mm de distância da linha de tentáculos, não muito próximo do sifão atrial. Vesículas renais não observadas.

Gônadas: ovário ramificado, pouco visível por estar encoberto pela gônada masculina; ovócitos com até 0,08 mm de diâmetro. Testículo ramificado recobrimdo todo o tubo digestivo, com folículos alongados. Gonodutos abrem-se logo posteriores ao ânus.

Distribuição Geográfica: Canadá, EUA (Atlântico), Groelândia, Islândia, Escócia, Reino Unido, Noruega, Suécia, Dinamarca, França, Cabo Verde, Rússia (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950; Millar 1966; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: os exemplares observados são condizentes com as descrições presentes na literatura. As únicas diferenças encontradas estão relacionadas ao número de tentáculos, que podem chegar a até 75 (Berrill 1950; Millar 1966), e à presença ou não de vesículas renais. Berrill (1950) afirma que são presentes, porém muito pequenas; já Van Name (1945) não pôde observá-las. Assim, o fato de não haver sido encontradas vesículas renais nos espécimes dissecados não é suficiente para pôr em dúvida a identificação de *A. obliqua*, uma vez que os demais caracteres estão de acordo com a bibliografia.

Ascidia panamensis Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: MZUSP 00021 – 1 ind.; Casa Blanca, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°21'42"N; 82°16'29"W); 0.5 m, em placa de polietileno; 05/07/2009; col. R.M. Rocha (HOLÓTIPO)

DZUP ASC 91 – 1 ind.; STRI dock, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°21'04"N; 82°15'26"W); 1.0 m; 12/08/2003; col. David (PARÁTIPO)

DZUP ASC 32 – 1 ind.; Ilha Pastores, Bocas del Toro, Panamá (09°14'15"N; 82°19'47"W); 0.5 m, em recifes de corais; 10/08/2003; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO).
MZUSP 00023 – 1 ind.; 13/06/2009; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 33 – 1 ind.; Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°16'38"N; 82°12'24"W); em raízes de mangue; 11/08/2003; col. R.M. Rocha. DZUP ASC 34 – 2 ind.; em raízes de mangue; 11/08/2003; col. R.M. Rocha (PARÁTIPOS)

MZUSP 00022 – 1 ind.; Crawl Cay, Ilha Bastimentos, Bocas del Toro, Panamá (09°15'16"N; 82°08'10"W); 14/06/2003; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP ASC 90 – 1 ind.; Almirante Bay, Bocas del Toro, Panamá (09°14'N; 82°14'W); 04/08/2003; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

Morfologia externa: animal fixado ao substrato pelo lado esquerdo do corpo, pode apresentar filamentos de algas, poríferos, tubos de poliquetas, pequenas cracas, conchas de bivalves e fragmentos calcários sobre a superfície livre. Apresenta coloração cinza a marrom, com listras brancas na entrada dos sifões. Maior indivíduo com 7,8 cm de comprimento total. Túnica cartilaginosa, com 1,5-5,4 mm de espessura, opaca (indivíduos mais jovens apresentam túnica mais fina e translúcida) e de superfície rugosa. Apresenta numerosos vasos escuros pela túnica, principalmente na região dos sifões. Pode possuir pequenas papilas cônicas por todo o corpo, principalmente na região dorsal do corpo e ao redor do sifão atrial.

Animal sem túnica: corpo com formato oblongo ou alongado, com 3,1-6,1 cm de comprimento da linha de tentáculos à margem posterior do corpo (comumente entre 3,2-4,1 cm), e 1,2-2,9 cm de largura; em geral a parede do corpo encontra-se pigmentada de marrom. Sifão oral apical, com 0,4-1,4 cm de comprimento e margem com 10-16 lobos triangulares e de margem lisa. Sifão atrial localizado aproximadamente na metade do comprimento do corpo (a 1,4-3,2 cm de distância do anel de tentáculos), com 0,2-0,8 cm de comprimento, margem também com 10-16 lobos triangulares, em geral lisos, porém pode apresentar pequenas projeções filiformes em suas margens. Presença de ocelos escuros entre os lobos de ambos os sifões. Gânglio nervoso localizado entre a metade e o início do $\frac{1}{3}$ posterior da distância entre o sifão oral e o atrial (0,9-1,4 cm de distância da base do sifão oral).

Musculatura: musculatura corporal do lado direito composta por uma rede de fibras delicadas (0,08-0,15 mm de diâmetro), além de longas fibras longitudinais que partem do sifão oral até cerca da metade da distância entre os sifões. Lado esquerdo com fibras curtas perpendiculares à margem dorsal, e um feixe de fibras transversais completas na

região anterior, imediatamente posterior ao sifão oral; também há fibras longitudinais, porém não tão longas quanto do lado direito. Sifões com musculatura longitudinal não organizada em feixes e musculatura circular mais forte no sifão atrial que no oral.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral em geral lisa, mas podem ser encontradas algumas poucas papilas esparsas (0,03-0,04 mm de diâmetro). Presença de 52-115 tentáculos orais (mais comumente entre 50-75 tentáculos), de três tamanhos distintos, os maiores medindo 1,9-3,6 mm de comprimento; tentáculos inseridos em uma membrana espessa. Anel ciliado duplo, liso ou com projeções na margem anterior; área entre a linha dos tentáculos e anel ciliado com 0,3-1,5 mm de distância no lado direito do corpo; lado esquerdo com distância similar ou menor; não há correlação entre a distância e o comprimento total do indivíduo. Pode haver papilas na área entre os tentáculos orais e anel ciliado (aproximadamente 0,03 mm de diâmetro). Área peritubercular arredondada e curta. Abertura do tubérculo dorsal em U, com ou sem as pontas enroladas para dentro (em DZUP ASC 33 não foi possível encontrar o tubérculo dorsal), com 0,3-0,8 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal de margem serrilhada por projeções dos vasos transversais, dupla nos primeiros 2,8-5,0 mm após o final do V, sem papilas próximo à entrada do esôfago; lâmina dorsal passa à esquerda desta e estende-se juntamente com a faringe a até 13,9 mm de distância da margem posterior do estômago (distância diretamente proporcional ao tamanho do indivíduo). Uma lâmina serrilhada pelo prolongamento dos vasos transversais contorna a margem direita da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,15-1,0 mm no lado direito e de 0,2-0,7 mm no lado esquerdo. Faringe plicada (1-1½ dobra por malha), com 53-77 vasos longitudinais do lado direito e 49-68 vasos do lado esquerdo; 148-316 vasos transversais; papilas primárias simples ou bilobadas, com 0,09-0,16 mm de altura; 5-8 fendas por malha. Ausência de papilas intermediárias ou vasos parastigmáticos. Endóstilo comumente com margem lisa.

Tubo digestivo: volumoso, ocupa ½ a ⅔ da parede do lado esquerdo do corpo. Estômago alongado, com 9-16 pregas longitudinais internas. Intestino com alças primária e secundária fechadas; presença de dilatação saculiforme na porção descendente do intestino, alça secundária e no curto reto. Abertura anal com margem lisa, a 1,4-3,8 cm do anel de tentáculos, próximo à base do sifão atrial. Vesículas renais (até 0,16 mm de diâmetro) podem estar presentes sobre o tubo digestivo.

Gônadas: ovário lobado, restrito à alça intestinal primária, visível tanto pela face externa quanto interna do corpo. Ovócitos com até 0,13 mm de diâmetro. Testículo formado por numerosos pequenos folículos, que recobrem o estômago e quase todo o intestino (exceto o reto). Gonodutos abrem-se junto ao ânus.

Distribuição Geográfica: Panamá (Atlântico) (Bonnet & Rocha 2011a).

Comentários: as amostras examinadas são parte do material utilizado para a descrição original, porém na mesma foram estudados espécimes maiores e por isso há variação em alguns dados: comprimento corporal (sem o sifão oral) de até 7,0 cm, e maiores ovócitos com até 0,16 mm de diâmetro (Bonnet & Rocha 2011a). Caracteres como aparência do endóstilo e da parede interna do sifão oral são aqui descritos pela primeira vez. Além disso, uma correção deve ser feita: na descrição original os lobos são considerados sempre com margem lisa, porém nesta revisão constatou-se a presença de pequenas projeções apenas no sifão atrial, ainda que somente em dois indivíduos (DZUP ASC 32 e DZUP ASC 34), o que não foi considerado suficiente para questionar a identificação dos mesmos.

Ascidia cf. papillata Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: 224 – 1 ind.; Porto do Pecém, Fortaleza, CE, Brasil (03°30'00"S; 39°50'00"W); 4.0-6.0 m, em placas de polietileno; 01.XI.2011; col.: A.B. Paiva

DZUP ASC 196 – 2 ind.; Marina Itaparica, Salvador, BA, Brasil (12°53'21"S; 38°41'03"W); 02.III.2012; col.: I.M. Neves

DZUP ASC 199 – 1 ind.; Marina Mercado Modelo, Salvador, BA, Brasil (12°58'21"S; 38°30'56"W); 02.III.2012; col.: I.M. Neves

Morfologia externa: animal recoberto por sedimentos finos, pode apresentar também talos de algas, hidrozoários, briozoários, pequenos bivalves, ascídias coloniais. Pode chegar a até 3,7 cm de comprimento total. Túnica incolor, translúcida e enrugada quando em formol, com pregas longitudinais nos sifões marcando os lobos. Túnica com consistência cartilaginosa, com 0,5-2,0 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 1,4-2,6 cm de comprimento da margem posterior do corpo até o anel de tentáculos (maior parte dos indivíduos com 2,4-2,6 cm), e 0,7-1,6 cm de largura. Sifão oral em geral longo (0,7-0,8 cm de comprimento), com 7-8 lobos; apenas um indivíduo possuía sifão oral mais curto, com 0,3 cm de comprimento (DZUP ASC 199). Sifão atrial com 0,4-0,8 cm de comprimento, com 6-7 lobos, e deslocado posteriormente a 0,4-1,0 cm da base do sifão oral, próximo ao mesmo. Margem dos lobos de ambos os sifões com projeções. Presença de ocelos de coloração amarela ou laranja entre os lobos do sifão atrial. Gânglio nervoso próximo a base do sifão oral, a 1,2-2,3 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: restrita a fibras longitudinais que se prolongam dos sifões e fibras perpendiculares a toda a margem dorsal, que alcançam pouco mais da metade da largura do corpo, com 0,04-0,18 mm de espessura. Do lado esquerdo, presença de fibras longitudinais curtas que partem do sifão oral, além de fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal, que vão reduzindo de tamanho a partir da região anal até a abertura do esôfago, quando desaparecem (não recobrem o tubo digestivo). Musculatura longitudinal do sifão oral organizada em feixes bem definidos. Sifões com grande quantidade de fibras circulares.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa ou com projeções aculeares (com aproximadamente 0,1 mm de comprimento). Presença de 134-203 tentáculos orais simples (em geral acima de 180), de 3-4 tamanhos diferentes, os maiores com 2,5-3,6 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos sobre anel muscular espesso ou uma lâmina igualmente espessa. Anel ciliado duplo, com projeções na margem superior, a 0,2-1,15 mm de distância do anel de tentáculos, medidos do lado direito do corpo (distância diretamente proporcional ao comprimento total do indivíduo); no lado esquerdo é um pouco mais amplo. Área entre anéis com papilas (0,02-0,06 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal geralmente em U (simples ou com as pontas enroladas para o mesmo lado), com 0,22-1,2 mm de diâmetro ântero-posterior; de forma incomum, um dos espécimes possui tubérculo dorsal na forma de inúmeras pequenas aberturas (DZUP ASC 196). Área peritubercular pequena, arredondada ou em V. Lâmina dorsal serrilhada inclusive devido ao prolongamento dos vasos transversais, passando à esquerda da abertura do esôfago até o final da faringe. Presença de pequenas papilas ao lado direito da lâmina dorsal, próximas à abertura do esôfago. Uma estreita lâmina de margem lisa ou levemente serrilhada contorna o lado direito da abertura

esofágica. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,4-1,0 mm no lado direito e de 0,2-0,45 mm no lado esquerdo. Faringe muito plicada (1-1½ dobras por malha), com 37-42 vasos longitudinais do lado direito e 32-38 do esquerdo; 59-91 vasos transversais; 7-10 fendas por malha; papilas primárias bilobadas com 0,1-0,16 mm de altura; papilas intermediárias semelhantes a um botão. Vasos parastigmáticos ausentes. Faringe se estende por uma curta distância após o estômago (1,0-3,4 mm de distância). Presença de papilas na margem do endóstilo.

Tubo digestório: grande, ocupa quase $\frac{2}{3}$ da região média e posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago alongado, com 4-7 pregas internas; intestino isodiamétrico com alças primária e secundária fechadas, sendo esta última bem acentuada. Margem do ânus bilobada, a 6,7-9,1 mm de distância do anel de tentáculos, pouco posterior à abertura do sifão atrial. Vesículas renais não foram observadas. Projeções irregulares recobrem todo o tubo digestivo.

Gônadas: ovário ramificado, inserido na alça intestinal primária, estendendo-se sobre a porção descendente do intestino e ocupando a parte proximal da alça secundária. Ovário visível interna e externamente nas duas alças intestinais; ovócitos com até 0,15 mm de diâmetro; abertura do oviduto pouco posterior ao ânus. Testículo ramificado, cobrindo o estômago e intestino, com exceção do reto. Espermiduto abrindo-se entre o ânus e o oviduto, sendo bem visível pela face interna do corpo, bem como externamente quando não recoberto pelo duto feminino.

Distribuição Geográfica de *A. papillata*: Brasil (BA) (Bonnet & Rocha 2011b).

Comentários: o aspecto externo, o número de lobos nos sifões e a presença de projeções nos mesmos, o padrão de musculatura corporal, presença de projeções no anel ciliado, papilas na área entre este e o anel de tentáculos orais, papilas na lâmina dorsal, o número de vasos longitudinais na faringe, o aspecto do tubo digestivo e o ovário ramificado, são caracteres que assemelham o presente material a *A. papillata*. O que torna a identificação duvidosa são as projeções aculeares na parede interna do sifão oral, a presença de papilas no endóstilo e papilas intermediárias na faringe, e o grande número de fendas por malha (7-10 nos indivíduos analisados, mas a descrição original cita 3-5 fendas). O aspecto da parede interna do sifão oral e do endóstilo não eram caracteres observados na época do trabalho e além do mais tem demonstrado certa variabilidade intraespecífica em Ascidiidae. As diferenças na faringe podem ter sido

decorrentes de falhas de observação pessoal na época, porém apenas uma revisão do holótipo poderia eliminar qualquer dúvida.

Ascidia paulayi Bonnet & Lotufo, 2015

Material examinado: FLMNH UF 788 – 1 ind.; W de Opunohu Bay, Moorea Island, Society Islands, French Polynesia (17°29'13"S; 149°52'37"W); 5-7 m, em paredes de recifes, sob rochas e saliências; 10.XI.2009, col. S. McPherson, T.M.C. Lotufo (HOLÓTIPO)

FLMNH UF 787 – 1 ind.; W de Opunohu Bay, Moorea Island, Society Islands, French Polynesia (17°29'13"S; 149°52'37"W); 5-7 m, em paredes de recifes, sob rochas e saliências; 10.XI.2009, col. S. McPherson, T.M.C. Lotufo (PARÁTIPO)

FLMNH UF 802 – 1 ind.; SE de Moorea Island (próximo à Maatea), Society Islands, French Polynesia (17°34'29"S; 149°47'50"W); 0-3 m, em pequenas rochas sobre fundo arenoso; 11.XI.2009, col. S. McPherson, T.M.C. Lotufo, N. Gravier-Bonnet (PARÁTIPO)

Morfologia externa: animal fixado ao substrato pelo lado esquerdo do corpo, pode apresentar grãos de areia, sedimento fino, pequenos fragmentos calcários e algas sobre a superfície livre. Apresenta coloração levemente arroxeadada, com os sífões mais escuros. Pode chegar a até 4,9 cm de comprimento total. Túnica fina, mas firme, com 0,7-0,8 mm de espessura e consistência cartilaginosa. Após a fixação torna-se translúcida e de superfície rugosa. Apresenta projeções digitiformes curtas e grossas, principalmente na região posterior do corpo.

Animal sem túnica: corpo com formato oblongo ou alongado, com 1,75-4,0 cm de comprimento da linha de tentáculos à margem posterior do corpo, e de 1,15-1,3 cm de largura; parede do corpo translúcida. Sifão oral apical, com 0,3-0,5 cm de comprimento, margem com 6-8 lobos amplos com pequenas projeções filiformes na margem; sifão atrial deslocado posteriormente aproximadamente a $\frac{1}{3}$ do comprimento do corpo, na região anterior (0,45-1,69 cm de distância do anel de tentáculos), com 0,2-0,8 cm de comprimento, margem com seis lobos também amplos e com pequenas projeções filiformes. Presença de ocelos de coloração vermelha ou castanha entre os lobos dos

sifões. Gânglio nervoso localizado próximo do anel de tentáculos, a 2,6-3,0 mm de distância deste.

Musculatura: musculatura corporal do lado direito composta por fibras espessas (0,1-0,2 mm de diâmetro) e curtas, perpendiculares às margens dorsal e ventral do corpo. Na região posterior do corpo também podem ser observadas algumas poucas fibras curtas e mais finas que as demais, o que as tornam quase inconspícuas. Do lado esquerdo há fibras curtas perpendiculares à margem dorsal. Em ambos os lados do corpo são encontrados ainda prolongamentos das fibras longitudinais dos sifões, mais curtas que as fibras das margens dorsal e ventral. Sifões com musculatura longitudinal organizada em feixes e musculatura circular fraca.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral em geral lisa, mas em um indivíduo foram encontradas algumas poucas papilas esparsas (0,06 mm de diâmetro). Presença de 62-92 tentáculos orais, de 3-4 tamanhos distintos, os maiores medindo 1,4-2,3 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular em geral espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha dos tentáculos e anel ciliado com 0,28-0,34 mm de distância no lado direito do corpo; lado esquerdo com distância similar (ausência de relação entre o comprimento do indivíduo e a distância entre anéis). Ausência de papilas na área entre os tentáculos orais e anel ciliado. Área peritubercular longa, em V. Abertura do tubérculo dorsal meandriforme em dois indivíduos, mas em formato de U com as pontas enroladas para dentro de forma irregular em um terceiro indivíduo; tubérculo dorsal com 0,5-2,4 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal de margem lisa ou levemente serrilhada por projeções dos vasos transversais, dupla nos primeiros 1,2-3,8 mm após o final do V, sem papilas próximo à entrada do esôfago; lâmina dorsal passa à esquerda desta e estende-se juntamente com a faringe por uma curta distância a partir da margem posterior do estômago (até 1,95 mm de distância). Uma estreita lâmina serrilhada pelo prolongamento dos vasos transversais contorna a margem direita da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,21-0,66 mm no lado direito e de 0,15-0,44 mm no lado esquerdo. Faringe lisa, com 56-61 vasos longitudinais do lado direito e 48-60 vasos do lado esquerdo; 99-146 vasos transversais; papilas primárias simples (retas ou curvadas), bilobadas em algumas partes, com 0,11-0,15 mm de altura; 4-6 fendas por malha. Ausência de papilas intermediárias ou vasos parastigmáticos. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestivo: tubo digestivo volumoso, ocupando aproximadamente metade do lado esquerdo, desde a região posterior do corpo até a altura do sifão atrial. Estômago alongado, com 5-7 pregas longitudinais internas. Intestino com alças primária e secundária fechadas; presença de dilatação saculiforme na porção descendente do intestino; alça secundária e reto também dilatados, porém não saculiformes. Reto longo e em posição vertical; ânus com margem multilobada localizado a 4,2-16,3 mm do anel de tentáculos, próximo à base do sifão atrial e anterior a alça intestinal primária. Vesículas renais não observadas.

Gônadas: ovário ramificado, com eixo central dentro da alça intestinal primária e ramificações sobre parte da região descendente e alça secundária. Ovário visível apenas pela face interna do corpo; ovócitos com até 0,23 mm de diâmetro. Testículo e gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Polinésia Francesa (Monniot C. & Monniot F. 1987, Bonnet & Lotufo 2015).

Comentários: a principal peculiaridade de *A. paulayi* é a abertura do ânus anterior à alça intestinal primária. Comparações com espécies similares podem ser encontradas em Bonnet & Lotufo (2015).

Ascidia sydneyensis Stimpson, 1855

Material examinado: 12-093 – 1 ind.; Banco dos Cajuais, Praia de Icapuí, Icapuí, CE (04°42'47"S; 37°21'19"W); em banco de fanerógamas; 03.VI.2012, col. A. Anker

06/11/17/54/55 – 5 ind.; Porto do Pecém, São Gonçalo do Amarante, CE, Brasil (03°30'00"S; 39°50'00"W); em placas de polietileno; 13.X.2010, col. A.B. Paiva

Morfologia externa: animal fixado ao substrato pelo lado esquerdo do corpo, podendo estar recoberto por sedimentos finos e filamentos de algas. Maior indivíduo com 5,9 cm de comprimento total. Túnica fina, mas firme, com 0,4-1,5 mm de espessura; translúcida e enrugada após a fixação. Pode apresentar projeções triangulares, digitiformes ou irregulares ao longo do corpo.

Animal sem túnica: corpo com formato oblongo ou alongado, com 2,12-4,85 cm de comprimento da linha de tentáculos à margem posterior do corpo (geralmente com 3,9-4,8 cm), e de 0,9-2,4 cm de largura; parede do corpo incolor. Sifão oral apical, com 0,4-1,3 cm de comprimento, margem com 6-8 lobos arredondados com pequenas projeções filiformes na margem; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,4-1,4 cm de distância do anel de tentáculos (aproximadamente a $\frac{1}{4}$ do comprimento do corpo), com 0,4-1,6 cm de comprimento, margem com seis lobos também de margem arredondada e com pequenas projeções filiformes. Em alguns indivíduos podem ser observados ocelos vermelhos ou amarelos entre os lobos dos sifões. Gânglio nervoso localizado próximo do anel de tentáculos, a 1,6-5,1 mm de distância deste.

Musculatura: musculatura corporal do lado direito composta por fibras espessas (0,1-0,3 mm de diâmetro) e curtas, perpendiculares por toda a margem do corpo. Do lado esquerdo, há fibras longitudinais curtas se estendendo pela região anterior do corpo, além de fibras perpendiculares curtas na margem dorsal. Sifões com musculatura longitudinal organizada em feixes e musculatura circular em geral densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 62-95 tentáculos orais (em geral entre 60-75), de três tamanhos distintos, os maiores medindo 2,1-3,9 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular de espessura variável. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha dos tentáculos e anel ciliado com 0,3-0,8 mm de distância no lado direito (lado esquerdo um pouco mais amplo), sem papilas. Área peritubercular longa, em V; abertura do tubérculo dorsal em U, irregular, com as pontas formando várias voltas para dentro (apenas o indivíduo 17 possui tubérculo dorsal meandriforme), com 1,3-2,4 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal com margem serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe, dupla nos primeiros 1,8-4,0 mm após o final do V, estreita anteriormente e mais ampla posteriormente, sem papilas próximo à entrada do esôfago. Lâmina dorsal passa à esquerda da abertura esofágica e estende-se até o final da faringe. Uma estreita lâmina lisa ou levemente serrilhada pelo prolongamento dos vasos transversais contorna a margem direita da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,26-1,45 mm no lado direito e de 0,22-0,75 mm no lado esquerdo. Faringe com 1-1 $\frac{1}{2}$ dobras por malha, com 45-56 vasos longitudinais do lado direito e 42-54 vasos do lado esquerdo; 89-173 vasos transversais; papilas primárias simples ou bilobadas com 0,12-0,21 mm de altura; 6-10 fendas por malha. Papilas intermediárias

ou vasos parastigmáticos ausentes. Faringe pode se prolongar por 1,92-5,7 mm de distância da margem posterior do estômago, conforme o tamanho do indivíduo. Endóstilo em geral com papilas em suas margens.

Tubo digestório: volumoso, ocupa entre $\frac{1}{2}$ a $\frac{2}{3}$ da superfície do lado esquerdo, na região mediana e posterior do corpo. Estômago alongado, com 5-8 pregas longitudinais internas; intestino com alças primária e secundária fechadas; presença de dilatação saculiforme na porção descendente do intestino e na alça secundária. Reto em geral curto. Ânus com margem multilobada, localizado a 9,7-18,7 mm do anel de tentáculos, posterior ao sifão atrial. Vesículas renais em geral não observadas (só na amostra 06 foram observadas vesículas renais, com 0,02 mm de diâmetro, recobrimdo o tubo digestivo).

Gônadas: ovário ramificado, com eixo central dentro da alça intestinal primária e ramificações sobre parte do estômago, toda a região ascendente do intestino e parte da descendente e alça secundária. Ovário visível apenas internamente; maiores ovócitos com 0,28 mm de diâmetro. Testículo formado por numerosos folículos alongados em formato de Y, localizado sobre todo o tubo digestivo, visível tanto pela face interna quanto externa. Gonodutos bem visíveis externamente, mas também pela face interna, abrem-se logo posteriores ao ânus.

Distribuição Geográfica: EUA (Atlântico), Cuba, Jamaica, Porto Rico, Anguilla, Grenada, Guadalupe, St. Thomas, Panamá (Atlântico), Colômbia, Curaçao, Brasil (CE, ES, RJ, SP, PR, SC), Cabo Verde, Serra Leoa, África do Sul, Moçambique, Ilhas Maurício, Índia, Malásia, Cingapura, Hong Kong, Indonésia, Filipinas, Austrália, Nova Caledônia, Palau, Japão, Panamá (Pacífico) (Millar 1956, 1975; Kott & Goodbody 1980; Kott 1985; Monniot C. 1997; Abdul-Jaffar-Ali *et al.* 2009; Rocha *et al.* 2012; Bonnet *et al.* 2013).

Comentários: *Ascidia sydneyensis* é uma espécie bem descrita na literatura, com ampla distribuição pelos mares tropicais, facilmente identificada por seu padrão de musculatura do lado direito do corpo, tubérculo dorsal meandriforme, dilatação saculiforme do intestino, borda do ânus multilobada e ovário ramificado como principais características diagnósticas. A maior parte dos espécimes aqui dissecados difere do padrão de tubérculo dorsal por apresentar claramente um U com pontas fortemente enroladas para dentro, ainda que irregular. Por se tratar de algo com certa

plasticidade intraespecífica observada para outras espécies do gênero (obs. pess.), por si só não justifica a separação de espécies. Entretanto, durante o presente estudo notou-se a existência de pequenas papilas na margem endostilar dos espécimes dissecados. Como esse não é um carácter comumente observado em trabalhos de taxonomia, ainda se faz necessário o reexame de exemplares de tubérculo dorsal meandriforme para saber como é o endóstilo dos mesmos, principalmente porque o único exemplar analisado cujo tubérculo dorsal possui abertura meandriforme é também o único que apresenta o endóstilo liso. Se essa associação for confirmada, então acredito ser sim possível a existência de duas espécies distintas, talvez ainda em processo de diferenciação.

Ascidia cf. tapuni Monniot & Monniot, 1987

Material examinado: DZUP ASC 49 – 1 ind.; Praia dos Meros, Ilha Grande, RJ, Brasil (23°13'08"S; 44°20'20"W); 10.0 m, em cultivo de ostras; VII.2007, col. Y.B.M. Carvalho

DZUP ASC 182 – 1 ind.; Quebramar Sul, Salvador, BA, Brasil (12°58'22"S; 38°31'09"W); 14.XII.2007, col. L.P. Kremer

DZUP ASC 186 – 2 ind.; Iate Clube, Salvador, BA, Brasil (12°29'27"S; 38°31'52 W); 13.XII.2007, col. L.P. Kremer

Morfologia externa: Animal pequeno (o maior indivíduo com 2,3 cm de comprimento total) e com sífões laranja, fixa-se ao substrato pelo lado esquerdo do corpo. Um pouco de areia pode ser observada sobre sua superfície livre. Túnica semi-transparente, de superfície enrugada após a fixação, e consistência cartilaginosa, apesar de sua pouca espessura (0,1-0,6 mm).

Animal sem túnica: corpo oval com 0,8-1,5 cm de comprimento da margem posterior até o anel de tentáculos e 0,4-0,5 cm de largura. Sífão oral com 0,15-0,7 cm de comprimento e 8-10 lobos; sífão atrial aproximadamente na metade do corpo, a 0,3-0,8 cm de distância da linha de tentáculos, com 0,1-0,4 cm de comprimento e 5-6 lobos; margem dos lobos de ambos os sífões lisa. Presença de ocelos de coloração laranja ou castanha entre os lobos. Gânglio nervoso situado próximo ao sífão oral, a 0,1-2,0 mm de distância dos tentáculos orais.

Musculatura: musculatura do lado direito do corpo formada por uma rede de fibras finas com predomínio de fibras transversais completas entre as margens dorsal e ventral, com 0,05-0,08 mm de espessura. Lado esquerdo com fibras longitudinais curtas partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares à margem dorsal. Sifões com musculatura longitudinal não organizada em feixes e musculatura circular geralmente formada por poucas fibras (o sifão oral pode apresentar maior densidade de fibras).

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 78-102 tentáculos orais, de 3-4 tamanhos, os maiores medindo 0,9-2,0 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos sobre anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, geralmente com longas projeções filiformes na margem anterior, a 0,4-1,7 mm de distância do anel de tentáculos no lado direito (não relacionado ao comprimento do indivíduo); lado esquerdo pode ser um pouco mais amplo. Área entre os anéis comumente recoberta por papilas; quando presentes, estas papilas são pequenas (0,01-0,02 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal em U, com ou sem as pontas enroladas para dentro, com 0,06-0,18 mm de altura; área peritubercular arredondada e pequena. Lâmina dorsal serrilhada pelos prolongamentos dos vasos transversais do lado esquerdo da faringe e também por projeções próprias, dupla nos primeiros 0,6-2,0 mm após a área peritubercular, passando ao lado esquerdo da abertura do esôfago até o final da faringe; ausência de papilas próximo à abertura do trato digestivo ou de projeções à direita desta. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,14-0,4 mm no lado direito e de 0,2-0,3 mm no lado esquerdo. Faringe não plicada, com 33-37 vasos longitudinais do lado direito do corpo e 29-33 vasos do lado esquerdo; 53-76 vasos transversais; papilas primárias simples com 0,09-0,13 mm de altura; 3-4 fendas por malha. Vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias ausentes. Faringe quase não se estende posteriormente ao estômago (0,6-2,5 mm de distância). Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: grande, ocupa cerca de $\frac{2}{3}$ da parede do lado esquerdo, na região posterior e média do corpo. Estômago arredondado, com 1-2 pregas longitudinais internas quase inconspícuas; intestino com alças primária e secundária fechadas; dilatação não saculiforme na região da alça secundária e reto; reto curto e em posição quase horizontal. Ânus de margem lisa ou bilobada, abrindo-se a 3,1-7,0 mm de distância do anel de tentáculos, junto ao sifão atrial. Vesículas renais não observadas, mas pequenas projeções cônicas podem ser encontradas sobre todo o tubo digestório.

Gônadas: ovário ramificado, com eixo central no interior da alça intestinal primária e prolongamentos recobrimdo as porções ascendente e descendente do intestino, além de parte do reto e estômago. Ovário visível completamente pela face interna do corpo, mas externamente só é observado dentro da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,18 mm de diâmetro. Testículo não observado. Oviduto largo, visível por ambas as faces externa e interna do corpo, abrindo-se logo posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica de *A. tapuni*: Indonésia, Nova Caledônia, Fiji, Polinésia Francesa (Monniot F. & Monniot C. 2008).

Comentários: *A. tapuni* é conhecida para o oceano Pacífico, sendo caracterizada pela musculatura corporal em rede, as longas projeções na lâmina anterior do anel ciliado, o número reduzido de fendas por malha, a dilatação no intestino posterior, o ovário ramificado e o oviduto alargado (Monniot C. & Monniot F. 1987; Monniot F. & Monniot C. 2008). A dúvida com relação ao presente material se deve à grande distância geográfica (ainda que os espécimes tenham sido coletados em cultivo de mariscos e em região portuária), a coloração alaranjada dos sifões em vida e ausência de pequenas papilas recobrimdo a túnica (Monniot C. & Monniot F. 1987).

Ascidia virginea Muller, 1776

Material examinado: DZUP ASC 166 – 1 ind.; Estação 4, Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°52'28"N; 11°05'30"E); arrasto, 11.0-35.0 m; 06.IX.2010; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: indivíduo com 2,6 cm de comprimento total e superfície absolutamente livre de incrustações. Fixa-se ao substrato pela região esquerda posterior do corpo. Túnica transparente, de superfície lisa e consistência cartilaginosa macia (0,7 mm de espessura), mesmo em formol.

Animal sem túnica: corpo de formato retangular, com 1,9 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 0,8 cm de largura. Sifões curtos, cada qual com 0,3-0,4 cm de comprimento. Sifão oral com oito lobos estreitos e de margem arredondada; atrial ao final do ¼ anterior do corpo, a 0,5 cm do anel de tentáculos, com seis lobos na margem. Margem dos lobos de ambos os sifões sem projeções. Ocelos não

observados. Gânglio nervoso localizado bastante próximo ao sifão oral, a 1,0 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito com uma rede de finas fibras musculares (0,02-0,03 mm de espessura), com predomínio de fibras transversais completas. Lado esquerdo com curtas fibras longitudinais partindo do sifão oral e fibras igualmente curtas perpendiculares às margens dorsal e ventral do corpo, não recobrimdo o tubo digestivo (na margem ventral, só há fibras até a altura da alça intestinal secundária; na dorsal, as fibras encontram-se principalmente entre os sifões, com apenas algumas poucas posteriores ao sifão atrial). Fibras musculares longitudinais dos sifões não organizadas em feixes. Presença de grande quantidade de fibras circulares em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 49 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores com 1,4 mm de comprimento. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 0,9 mm de distância do anel de tentáculos, de forma similar em ambos os lados do corpo; área entre anéis recoberta por pequenas papilas (0,02-0,025 mm de diâmetro). Abertura do tubérculo dorsal com aproximadamente 0,4 mm de altura, em forma de U, sem pontas enroladas; área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal levemente serrilhada pela projeção dos vasos transversais pela margem da lâmina, dupla nos primeiros 2,0 mm e com muitas papilas alongadas à direita próximo à abertura do esôfago; lâmina dorsal segue até o final da faringe, junto ao estômago. Presença de uma lâmina relativamente ampla e de margem pouco serrilhada contornando o lado direito da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,85 mm no lado direito e de 0,25 mm no lado esquerdo. Faringe levemente plicada (uma dobra bem suave por malha), com 35-36 vasos longitudinais em cada lado do corpo e 81 vasos transversais; papilas primárias bilobadas com 0,1-0,2 mm de altura; 4-5 fendas por malha; papilas intermediárias simples. Vasos parastigmáticos ausentes. Endóstilo com papilas nas margens.

Tubo digestório: ocupa cerca de metade da parede do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago globuloso, com cinco pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico com alças primária e secundária fechadas, reto longo, estendendo-se acima da alça intestinal secundária, em posição vertical; ânus de margem bilobada abrindo-se quase junto ao sifão atrial, a 5,7 mm de distância dos tentáculos

orais. Vesículas renais com 0,08-0,13 mm de diâmetro recobrem estômago e porção ascendente do intestino.

Gônadas: ovário inserido na alça intestinal primária, ramificando-se sobre a porção ascendente e descendente do intestino, bem como sobre a alça secundária; ovário mais visível internamente do que externamente; ovócitos com até 0,3 mm de diâmetro. Folículos testiculares localizados sobre estômago e intestino, com exceção do reto. Gonodutos abrindo-se logo posteriormente ao ânus, sendo o espermiduto mais anterior que o oviduto.

Distribuição Geográfica: França, Itália, Croácia, Grécia, Svalbard Islands, Faroe Islands, Noruega, Suécia, Shetland Islands, Irlanda, Inglaterra, Escócia. (Ärnäck-Christie-Linde 1934, Rocha *et al.* 2012).

Comentários: espécie relativamente comum, principalmente no Mar do Norte, costuma apresentar em vida uma coloração rósea, que somada à túnica totalmente lisa, o corpo bem retangular e o reto quase em posição vertical, prolongando-se além da alça intestinal secundária, caracterizam a espécie (Ärnäck-Christie-Linde 1934; Berrill 1950). Pode alcançar até 9,4 cm de comprimento total e alguns indivíduos podem possuir um curto pedúnculo pelo qual se fixam ao substrato, porém isso não é comum (Ärnäck-Christie-Linde 1934). O espécime estudado apresenta os tentáculos orais inseridos em um anel muscular, no entanto os mesmos não se projetam diretamente para o lúmen do sifão, estendendo-se rente à parede do corpo por uma curta distância e para depois se projetarem.

Ascidia viridina Paiva *et al.*, 2015

Material examinado: TL 57 – 1 ind.; Piscina de Abrolhos, Atol das Rocas, Brasil (03°31'00"S; 33°49'00"W); 2.0 m prof., sob pedra; 20.I.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva

TL 519 – 1 ind.; Piscina Barreta Falsa, Atol das Rocas, Brasil (03°31'00"S; 33°49'00"W); até 1.0 m prof.; 01.XII.2011; col. A.B. Paiva. TL 520 – 1 ind.; 01.XII.2011; col. A.B. Paiva. TL 472 – 2 ind.; 1.5 m prof., em fenda na rocha;

11.XII.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva. TL 485 – 2 ind.; 1.5 m prof., em fenda na rocha; 14.XII.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva

TL 478 – 1 ind.; Piscina Âncoras, Atol das Rocas, Brasil (03°31'00"S; 33°49'00"W); até 1.0 m prof., em fenda na rocha; 13.XII.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva

TL 1076 – 1 ind.; Ilha do Cemitério, Atol das Rocas, Brasil (03°31'00"S; 33°49'00"W); 1.0 m prof., sob pedra; 16.I.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva. TL 1307 – 2 ind.; até 1.0 m prof., sob pedra; 15.XII.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva

Morfologia externa: fixa-se pelo lado esquerdo do corpo e em geral não apresenta incrustações, mas eventualmente pode ter alguns fragmentos calcários incrustados. Quando vivo apresenta a túnica esverdeada, transparente, apenas com a região dos sifões mais escura. Maior indivíduo analisado com aproximadamente 6,0 cm de comprimento total. Túnica translúcida após fixação, podendo apresentar veias escuras e pequenas projeções cônicas, principalmente ao redor dos sifões. Superfície ligeiramente rugosa após fixação e consistência cartilaginosa, com 1,3-17,8 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 1,2-4,6 cm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo (geralmente entre 3,0-4,6 cm), e 0,6-1,8 cm de largura. Sifão oral com 0,2-1,3 cm de comprimento e 8-12 lobos arredondados; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,6-2,1 cm de distância do anel de tentáculos (próximo à metade do corpo), com 0,1-0,7 cm de comprimento e 8-16 lobos arredondados; margem dos lobos do sifão atrial com projeções, às vezes encontradas também nos lobos do sifão oral. Presença de ocelos de coloração preta entre os lobos. Gânglio nervoso localizado aproximadamente na metade da distância entre o sifão oral e o atrial, a 2,9-11,4 mm da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito do corpo com musculatura formada por uma rede de fibras musculares de 0,04-0,16 mm de espessura, com maior concentração de fibras transversais completas na região anterior do corpo. Lado esquerdo com poucas fibras transversais completas próximas à base do sifão oral, fibras curtas perpendiculares a toda margem dorsal e fibras longitudinais longas partindo do sifão oral, mas que não alcançam a alça intestinal secundária. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes; musculatura circular em geral densa, mas no sifão oral a mesma pode ser mais frouxa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral recoberta por papilas. Presença de 46-89 tentáculos orais (em geral possuem mais que 60 tentáculos), de três tamanhos diferentes, os maiores com 1,7-5,0 mm de comprimento, unidos na base por uma espessa membrana. Anel ciliado duplo, com longas projeções na anterior, a 0,4-1,0 mm de distância do anel de tentáculos (similar dos dois lados; sem correlação com o tamanho do espécime); região entre anéis geralmente com papilas (0,02-0,06 mm de diâmetro), não muito numerosas. Abertura do tubérculo dorsal em U, com ou sem as pontas enroladas para fora, com 0,1-1,1 mm de diâmetro ântero-posterior; no espécime TL 519 o tubérculo dorsal é formado por várias pequenas aberturas. Área peritubercular formando um curto V. Lâmina dorsal de margem serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe, além de projeções próprias; dupla anteriormente (1,2-3,8 mm a partir do final da área peritubercular); em geral sem papilas próximo à entrada do esôfago (em TL 519, TL 1307 e TL 1076 havia poucas papilas, mas bem conspícuas); passa à esquerda da abertura do esôfago e segue até o final da faringe. Presença de lâmina estreita e de margem serrilhada contornando o lado direito da abertura esofágica. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,3-1,0 mm no lado direito e de 0,2-0,7 mm no lado esquerdo. Faringe lisa ou pouco plicada, com 38-57 vasos longitudinais no lado direito e 34-54 vasos no esquerdo; 52-153 vasos transversais; 4-7 fendas por malha; papilas primárias simples ou ligeiramente bilobadas com 0,1-0,2 mm de altura. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe se estende um pouco posteriormente ao estômago, sem relação com o tamanho do indivíduo (1,3-6,3 mm de distância do estômago). Endóstilo de margem lisa ou com pequenas e esparsas papilas.

Tubo digestório: não muito volumoso, ocupa metade ou menos da região posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago alongado, com 7-11 pregas internas; intestino com dilatação saculiforme na porção descendente e alça secundária; reto pode ser um pouco alargado. Alças intestinais primária e secundária fechadas; ânus de margem lisa ou bilobada a 6,8-23,5 mm de distância do anel de tentáculos, posterior ao sifão atrial. Vesículas renais com 0,04-0,19 mm de diâmetro, sobre estômago e intestino.

Gônadas: ovário lobado, inserido na alça intestinal primária; se observado pela face externa do corpo, o ovário parece se ramificar levemente sobre a alça intestinal. Ovócitos com até 0,15 mm de diâmetro. Testículo ramificado, recobrimo estômago e intestino. Oviduto visível pela face externa do corpo e espermiduto conspícuo pela face

interna. Ambos se abrem posteriormente ao ânus, porém o espermiduto é mais anterior que o oviduto.

Distribuição Geográfica: Brasil (Atol das Rocas) (Paiva *et al.* 2015).

Comentários: apesar de terem sido analisados alguns dos mesmos espécimes utilizados para a descrição original, alguns caracteres observados não constam na mesma, tendo sido acrescentados na descrição acima: a presença de pequenas projeções na túnica, a parede interna do sifão oral em geral recoberta por papilas e a margem do endóstilo lisa ou com papilas. Além disso, na literatura são reportados 10 lobos em cada sifão, até 76 tentáculos orais, abertura do tubérculo dorsal em U, aproximadamente 100 vasos transversais na faringe e dilatação saculiforme no reto (Paiva *et al.* 2015). No entanto, foram encontradas variações para os quatro primeiros caracteres: 8-12 lobos no sifão oral, 8-16 lobos no sifão atrial, até 89 tentáculos orais, abertura do tubérculo dorsal em U com ou sem pontas enroladas ou ainda como várias fendas, e até 150 vasos transversais. Com relação à dilatação intestinal, trata-se apenas de um erro nomenclatural, pois ela realmente é presente em todos os espécimes analisados, porém não se encontra no reto e sim na região descendente do intestino e na alça secundária.

No geral a espécie apresenta caracteres bastante estáveis, porém três indivíduos diferiam dos demais por possuírem grandes papilas na face direita da lâmina dorsal, aproximando-se da região da abertura do esôfago (TL 519, TL 1307 e TL 1076). Um desses mesmos espécimes também se diferencia dos demais pela presença de múltiplas aberturas para o tubérculo dorsal (TL 519). Infelizmente não foi possível obter dados genéticos para nenhuma dessas amostras e por isso não há como saber se realmente são apenas variações intraespecíficas ou não. Entretanto, como os demais caracteres estavam de acordo com os outros exemplares analisados, preferiu-se considerar todos os três como pertencentes a *A. viridina* e essas diferenças como variações intra-específicas. Em *A. interrupta* Heller, 1878 também podem ser encontradas papilas na lâmina dorsal de alguns indivíduos e em um deles havia múltiplas fendas formando o tubérculo dorsal (obs. pess.), porém a espécie se diferencia por apresentar projeções arredondadas na túnica e papilas primárias triplas na faringe (Paiva *et al.* 2015). As diferenças entre *A. interrupta*, *A. panamensis* e *A. viridina* são extremamente tênues e só percebidas nos indivíduos com as características típicas de cada espécie; aqueles com que apresentam variações morfológicas são mais passíveis de dúvida em relação à sua identidade uma

vez que tais variações acabam sobrepondo as três espécies (obs. pess.). Apesar da grande similaridade física entre elas, análises de COI (gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I) identificam *A. interrupta*, *A. panamensis* e *A. viridina* como espécies diferentes, fortemente relacionadas entre si (*[A. panamensis + A. viridina] + A. interrupta*) (ver capítulo 1 desta mesma tese).

Ascidia sp.

Material examinado: DZUP ASC 193 – 1 ind.; Ilha Canales de Afuera, Panamá (07°42'03"N; 81°47'37"W); 10,0 m, sob pedra; 13.I.2009; col. R.M. Rocha

DZUP ASC 194 – 1 ind.; Shark Point, Ilha Canales de Afuera, Panamá (07°45'03"N; 81°35'25"W); 6,0 m, sob coral morto; 14.I.2009; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: Em vida apresenta coloração alaranjada, fixando-se pelo lado esquerdo do corpo, eventualmente com alguns epibiontes (briozoários e algas). Comprimento total do maior indivíduo analisado de 3,1 cm. Túnica pouco translúcida, com pequenas projeções triangulares relacionadas às terminações dos vasos sanguíneos, distribuídas irregularmente sobre a superfície rugosa. Túnica de consistência cartilaginosa, com 0,6-1,9 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo de formato oblongo, com 1,1-2,2 cm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 0,5-1,0 cm de largura. Sifão oral com 0,3-0,4 cm de comprimento e oito lobos triangulares; sifão atrial localizado na metade ou no terço anterior do corpo (a 0,2-0,8 cm de distância do anel de tentáculos), com 0,2-0,5 cm de comprimento e 6-8 lobos triangulares; margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Presença de pequenos ocelos pardacentos na margem do sifão oral. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão oral, distante 0,9-2,4 mm deste.

Musculatura: lado direito do corpo com musculatura formada por uma rede de fibras de 0,03-0,06 mm de espessura. Lado esquerdo com fibras curtas perpendiculares à margem dorsal e longitudinais partindo do sifão oral. Na região anterior do lado esquerdo do corpo é possível observar fibras curtas perpendiculares à margem ventral. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes e grande quantidade de fibras circulares em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 58-69 tentáculos orais, de três ou quatro tamanhos diferentes, os maiores com 2,0-2,5 mm de comprimento, unidos na base por um anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, com longas projeções na lâmina anterior, a 0,3-0,6 mm de distância do anel de tentáculos, medidos do lado direito do corpo (lado esquerdo um pouco mais amplo); região pré-faríngea com papilas (cerca de 0,025 mm de diâmetro), não muito abundantes. Abertura do tubérculo dorsal em U ou C, com as pontas enroladas para dentro e 0,2-0,6 mm de diâmetro ântero-posterior; área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal de margem lisa, dupla anteriormente (0,4-2,4 mm a partir do final da área peritubercular), sem papilas próximo à entrada do esôfago, passa à esquerda desta e segue até o final da faringe. Presença de lâmina estreita e de margem lisa contornando o lado direito da abertura esofágica. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,8 mm no lado direito e de 0,3-0,6 mm no lado esquerdo. Faringe muito plicada (cerca de 1½ dobra por malha), com 39-43 vasos longitudinais no lado direito e 33-41 vasos no esquerdo; 62-74 vasos transversais; 6-8 fendas por malha; papilas primárias simples ou ligeiramente trilobadas com 0,15-0,16 mm de altura. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe prolonga-se após o estômago por 1,8-5,2 mm de distância do estômago (maior indivíduo com a maior extensão). Endóstilo com algumas papilas nas margens.

Tubo digestório: não muito volumoso, ocupa cerca de metade do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado, com 7-9 pregas internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; ânus de margem bilobada, um pouco posterior ao sifão atrial (3,8-5,9 mm de distância do anel de tentáculos). Vesículas renais com 0,12-0,16 mm de diâmetro, recobrimdo estômago e intestino. Grandes projeções triangulares presentes na membrana que recobre todo o tubo digestório.

Gônadas: ovário lobado, inserido nas alças intestinais primária (conspícuo pela face externa e interna do corpo) e secundária (visível apenas pela face interna do corpo); maiores ovócitos com 0,14 mm de diâmetro. Testículo ramificado, recobrimdo parte do tubo digestório (menos o estômago e o reto). Oviduto e espermiduto abrem-se posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica: Panamá (Pacífico) (Bonnet *et al.* 2013).

Comentários: inicialmente identificada como *Ascidia* cf. *gemmata* devido à grande variação morfológica entre os diversos registros para essa espécie (Bonnet *et al.* 2013), o acesso à descrição original permitiu a correção na identificação. Infelizmente não foi possível analisar o tipo, porém de acordo com Sluiter (1895) *A. gemmata* possui coloração acinzentada, com o sifão atrial mais escuro e bem deslocado posteriormente, musculatura forte, cerca de 48 tentáculos orais de três tamanhos diferentes, tubérculo dorsal em U simples, lâmina dorsal serrilhada, faringe pouco plicada, com longas papilas primárias e apenas duas fendas por malha, não há papilas intermediárias, o tubo digestivo é pequeno e encontra-se no terço posterior do corpo, o intestino possui uma dilatação não saculiforme na região descendente e alça secundária, e o reto é curto (Sluiter 1895). Até o momento não foi possível chegar a uma conclusão se é um caso de nova espécie ou não, sendo necessário uma revisão mais detalhada da literatura.

Ascidiella Roule, 1884

Espécie-tipo: *Ascidiella aspersa* (Müller, 1776)

Apresenta as papilas principais da faringe sob os vasos longitudinais e não possui papilas intermediárias (Berrill 1950). Não há papilas na região entre o anel de tentáculos orais e anel ciliado, e a lâmina dorsal termina quase junto da abertura esofágica (Ärnäck-Christie-Linde 1934). Apenas três espécies foram descritas para o gênero (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Ascidiella aspersa (Müller, 1776)

Material examinado: DZUP ASCD 04 – 1 ind.; Tjärno, Strömstad, Suécia (58°52'52"N; 11°05'43"E); 10.0-14.0 m; 06.IX.2010; col.: R.M. Rocha

DZUP ASCD 01 – 3 ind.; Roscoff, Bretanha, França (48°43'N; 03°58'W); entremarés; VII.1992; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: possui a superfície da túnica em geral livre de incrustações, mas pode apresentar algas, briozoários, bivalves e outras ascídias (solitárias ou coloniais). Maior indivíduo com até 5,1 cm de comprimento total. Encontrado sob rochas soltas na

zona entremarés, mas também em maiores profundidades. Túnica translúcida, de superfície ligeiramente enrugada quando fixada, com pequenas papilas triangulares, espalhadas pelo corpo, mas principalmente ao redor dos sifões. Túnica de consistência firme, com 0,18-0,6 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,3-4,3 cm de comprimento, do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,0-1,3 cm de largura. Sifões curtos, o oral voltado para a região anterior, com 0,5-0,8 cm de comprimento e oito lobos; atrial no terço anterior do corpo, a 1,1-1,4 cm do anel de tentáculos, com 0,5-0,6 cm de comprimento e seis lobos; margens dos lobos de ambos os sifões arredondadas e com um leve serrilhado. Presença de pequenos ocelos de coloração marrom-alaranjada entre os lobos. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 2,0-3,0 mm de distância da base do mesmo.

Musculatura: lado direito do corpo com uma rede de fibras musculares finas sem nenhuma direção preferencial, as maiores com 0,06-0,18 mm de espessura. Lado esquerdo com fibras curtas perpendiculares às margens dorsal e ventral, além de fibras longitudinais também curtas partindo do sifão oral. Presença de feixes de musculatura longitudinal nos sifões convergindo para os lobos; musculatura circular não muito densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 11-26 tentáculos orais, de dois ou três tamanhos distintos, com os maiores medindo 1,4-4,0 mm de comprimento; tentáculos ligados diretamente à parede do corpo, unidos por uma estreita lâmina. Anel ciliado duplo, sem projeções, distante 0,7-1,4 mm do anel de tentáculos, de forma similar em ambos os lados do corpo; distância entre anéis não correlacionada com o comprimento corporal total. Região entre anéis sem papilas. Tubérculo dorsal com 0,8-1,4 mm de diâmetro ântero-posterior; área peritubercular formando um pequeno V; abertura em V ou U com as pontas enroladas para dentro. Lâmina dorsal em geral lisa, dupla nos 2,8-4,0 mm anteriores, sem papilas próximo à abertura do esôfago; uma estreita lâmina de margem serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe margeia o lado direito da abertura do esôfago. Lâmina dorsal e faringe quase não se estendem além da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal no lado direito de 0,4-1,5 mm e de 0,3-0,8 mm no lado esquerdo. Faringe muito plicada (1-1½ dobra por malha), com 39-43 vasos

longitudinais no lado direito e 33-37 vasos no esquerdo; 95-159 vasos transversais; 6-9 fendas longitudinais por malha; papilas primárias simples com 0,15-0,25 mm de altura, sob os vasos longitudinais. Ausência de papilas intermediárias, mas algumas regiões da faringe apresentam vasos parastigmáticos (talvez relacionados ao crescimento). Endóstilo geralmente com pequenas papilas em suas margens.

Tubo digestório: volumoso, ocupa pouco menos da metade da região média e posterior do lado esquerdo do corpo. Esôfago curto, seguido por um grande estômago alongado, com 6-8 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; reto longo, em posição quase vertical; ânus bilobado, distante 1,2-1,9 cm do anel de tentáculos, um pouco posterior ao sifão atrial. Vesículas renais numerosas, com 0,1-0,16 mm de diâmetro, recobrimdo todo o tubo digestivo.

Gônadas: ovário inserido na alça intestinal primária, com ramificações sobre as porções ascendente e descendente do intestino, visível apenas internamente; maiores ovócitos com 0,18 mm de diâmetro. Testículo formado por folículos alongados, que se ramificam sobre todo o tubo digestório. Gonodutos abrindo-se posteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica: EUA (Atlântico), Noruega, Suécia, Mar Báltico, Shetland Islands, Escócia, Ilhas Britânicas, English Channel, Espanha, França, Alemanha, Mar Mediterrâneo, Mar Adriático, Mar Egeu, Mar de Mármara, Mar Negro, Marrocos, Senegal, África do Sul, Coreia, Japão, Austrália, Tasmânia, Nova Zelândia, Argentina (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950; Millar 1966; Kott 1985; Monniot C. *et al.* 2001; Pyo *et al.* 2012; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: em vida, a coloração da espécie é variável: os indivíduos europeus possuem coloração cinza escuro ou marrom quando adultos e esbranquiçada quando juvenis (Berrill 1950); a mesma coloração acinzentada foi observada na Coreia (Pyo *et al.* 2012), enquanto que os exemplares provenientes da Austrália e da Nova Zelândia tinham a túnica incolor e transparente (Kott 1985). Como todos os demais caracteres são similares em descrições de materiais provenientes de diferentes regiões, optou-se por considerar todos registros para *A. aspersa*.

A região de origem de *A. aspersa* envolve a costa europeia, onde se encontra outra espécie do gênero, *Ascidella scabra*.

Ascidiella scabra (Müller, 1776)

Material examinado: DZUP ASCD 02 – 1 ind.; Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°53'02"N; 11°05'36"E); 160.0 m.; 09.IX.2010; col.: R.M. Rocha

DZUP ASCD 03 – 1 ind.; Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°52'28"N; 11°05'30"E); 11.0-35.0 m; 09.IX.2010; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: tamanho reduzido (até 2,3 cm de comprimento total). Presente como epibionte de outras ascídias solitárias (por exemplo, *Ascidiella aspersa*). Túnica em geral livre de incrustações, mas pode apresentar areia, foraminíferos e briozoários sobre sua superfície. Túnica translúcida, de superfície ligeiramente enrugada quando fixada; pode apresentar algumas papilas bem pequenas próximo aos sifões. Túnica de consistência cartilaginosa macia (1,0-1,3 mm de espessura).

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,4-1,8 cm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 0,8-1,2 cm de largura. Sifões curtos, com 0,2-0,3 cm de comprimento cada; oral voltado para a região anterior, com 7-8 lobos; atrial localizado na região anterior do corpo, deslocado posteriormente a 0,3-0,4 cm do anel de tentáculos, com seis lobos. Lobos de ambos os sifões quase inconspícuos, de margem arredondada, com projeções digitiformes. Presença de pequenos ocelos de coloração castanha entre os lobos. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, anterior à metade da distância entre os dois sifões (0,5-1,0 mm de distância da base do sifão oral).

Musculatura: lado direito do corpo com uma rede de fibras musculares finas (0,07-0,18 mm de espessura), que se organizam de forma paralela entre si e perpendiculares à margem ventral nessa região. Lado esquerdo com fibras curtas perpendiculares às margens dorsal e ventral, além de fibras longitudinais também curtas partindo do sifão oral. Musculatura longitudinal nos sifões organizada em um feixe para cada lobo. Musculatura circular densa em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 41-50 tentáculos orais, de três tamanhos distintos, com os maiores medindo 1,1-1,3 mm de comprimento; tentáculos inseridos sobre anel muscular estreito. Anel ciliado duplo, sem projeções, a 0,2-0,4 mm do anel de tentáculos (distância similar em ambos os lados, não relacionada ao tamanho do indivíduo); região entre anéis sem papilas. Tubérculo dorsal com

abertura em U sem pontas enroladas, com 0,4-0,5 mm de diâmetro ântero-posterior; área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal lisa ou com margem serrilhada (próprio e por prolongamentos dos vasos transversais da faringe), dupla anteriormente (1,0-1,8 mm anteriores), sem papilas próximo à abertura do esôfago; ausência de projeção do lado direito da abertura digestiva. Lâmina dorsal e faringe estendendo-se pouco além da abertura do esôfago, sem ultrapassar a margem posterior do tubo digestório. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal no lado direito de 0,7-0,9 mm e de 0,5-0,7 mm no lado esquerdo. Faringe muito plicada (1-1½ dobra por malha), com até 35 vasos longitudinais no lado direito e 28 vasos no esquerdo; 52-61 vasos transversais; 6-7 fendas longitudinais por malha; papilas primárias simples de 0,12-0,15 mm de altura, sob os vasos longitudinais. Ausência de papilas intermediárias, mas algumas partes da faringe com vasos parastigmáticos, provavelmente relacionados ao crescimento. Endóstilo com papilas na margem.

Tubo digestório: volumoso, ocupa cerca de metade da área da parede corporal, na região média e posterior do lado esquerdo. Estômago arredondado e pequeno, com 7-8 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico com alças primária e secundária fechadas; ânus bilobado, a 4,0-6,0 mm do anel de tentáculos, posterior ao sifão atrial. Vesículas renais numerosas, com 0,3-0,5 mm de diâmetro, visíveis tanto interna quanto externamente.

Gônadas: ovário inserido na alça intestinal primária, com ramificações sobre a porção ascendente e descendente do intestino, sendo melhor observado pela face interna do corpo; ovócitos com até 0,14 mm de diâmetro. Oviduto abrindo-se quase ao mesmo nível do ânus. Testículo de longos lobos, ramificando-se ao redor do intestino.

Distribuição Geográfica: Ilhas Faroe, Noruega, Suécia, Dinamarca, Escócia, Reino Unido, English Channel, Mar Mediterrâneo (Berrill 1950; Millar 1966).

Comentários: considerada inicialmente como uma variação de *A. aspersa* por Ärnäck-Christie-Linde (1934), foi posteriormente reconhecida como uma espécie distinta (Berrill 1950). *Ascidiella scabra* pode ser facilmente diferenciada de *A. aspersa* pelo reduzido tamanho corporal, maior número de tentáculos orais, inserção dos tentáculos em um fino anel muscular, menor número de vasos longitudinais e ovário bem conspícuo.

Phallusia Savigny, 1816

Espécie-tipo: *Phallusia mammillata* (Cuvier, 1815)

Possui a estrutura da faringe similar a *Ascidia* (com as papilas expostas ao lúmen da faringe), porém apresenta aberturas acessórias ao tubérculo dorsal, entre este e o gânglio neural, sob a lâmina dorsal (Berrill 1950). Além disso, os sífões encontram-se bem afastados um do outro, o gânglio nervoso geralmente está distante do tubérculo dorsal, e a faringe e a lâmina dorsal se estendem muito além do tubo digestivo (Ärnback-Christie-Linde 1934). Gênero com 19 espécies reconhecidas (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Phallusia fragilis Bonnet & Rocha, 2011

Material examinado: DZUP PHA 20 – 1 ind.; Garden, Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°19'30"N; 82°13'11"W); 6.0 m, recife de corais; 23.XII.2008; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP PHA 17 – 1 ind.; Ilha Pastores, Bocas del Toro, Panamá (09°14'15"N; 82°49'17"W); 1.0 m, recife de corais; 10.VIII.2003; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO).

DZUP PHA 18 – 2 ind.; recife de corais; 17.VIII.2006; col. R.M. Rocha (PARÁTIPO)

DZUP PHA 22 – 1 ind.; Big Bight, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°22'N; 82°16'W); recife de corais; 05.VI.2009; col. G. Koplovitz

Morfologia externa: a espécie vive enterrada entre fragmentos de corais, conchas e sedimento fino, fixando-se pela face esquerda aos mesmos. Apenas a borda lisa do sífão oral é conspícua. Maior indivíduo com 6,0 cm de comprimento total. Em detalhe percebe-se a presença de numerosas papilas na superfície da túnica. Túnica amarelada após a fixação, transparente, com papilas na superfície do lado direito. No lado direito a túnica é mais espessa (0,2-1,2 mm) e gelatinosa; no lado esquerdo é mais fina e delicada.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,6-5,3 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior (geralmente entre 4,8-5,3 cm), e 1,2-2,2

cm de largura. Parede do corpo incolor, mas com musculatura de coloração caramelo quando fixada. Sifão oral apical e atrial deslocado posteriormente a 2,2-3,0 cm do anel de tentáculos orais, na metade do comprimento do corpo ou um pouco posterior. Sifão oral com 3,0-11,0 mm de comprimento, enquanto o atrial é mais curto com 2,0-5,0 mm; margem de ambos os sifões lisa. Ocelos escuros podem ser encontrados na margem do sifão atrial, quase inconspícuos. Gânglio nervoso localizado na altura da alça intestinal primária, distante 11,0-18,0 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal no lado direito composta por fibras curtas com 0,12-0,4 mm de espessura, perpendiculares a toda margem dorsal e ventral do corpo, com fibras ventrais um pouco mais longas que as dorsais. Podem ser encontradas algumas poucas fibras finas longitudinais perpendiculares à margem posterior do corpo, porém são raras. Na região anterior aparece uma faixa de fibras circulares bem organizadas, formando um esfíncter na altura do anel de tentáculos orais. Posteriormente a esta faixa, as fibras musculares da margem dorsal aparecem desorganizadas em todas as direções e somente mais além elas se organizam em faixas espessas e paralelas, como descrito anteriormente. Algumas fibras muito finas se estendem longitudinalmente sobre as transversais ao longo de todo o corpo. Lado esquerdo desprovido de musculatura, assim como o sifão oral. No sifão atrial há uma grande quantidade de fibras circulares.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 46-69 tentáculos orais simples, de duas a três ordens de tamanho, com os maiores medindo 1,4-2,5 mm de comprimento, unidos na base por uma membrana larga. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado mais ampla do lado esquerdo (até 5,6 mm de distância, não relacionado ao comprimento do indivíduo), com grande densidade de papilas (0,025-0,05 mm de diâmetro) recobrimdo toda a área. Área peritubercular em V, variando entre curto a muito longo; ausência de tubérculo dorsal ou qualquer tipo de abertura. Presença de 28-92 aberturas acessórias agrupadas próximas à glândula neural. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 2,1-5,6 mm após a extremidade da área peritubercular e em seguida passa a ser larga, com linguetas formadas pelas extremidades dos vasos transversais; ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago. Lâmina dorsal passa pelo lado esquerdo do esôfago e continua até a extremidade da faringe, a 6,3-17,5 mm além do estômago (em indivíduos maiores a distância também é maior, porém não de forma proporcional). Uma fileira de longas linguetas contorna o lado direito da abertura digestiva. Distância da lâmina

dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,9 mm no lado direito e de 0,1-0,2 mm no lado esquerdo. Faringe não muito plicada (uma dobra por malha), com 58-77 vasos longitudinais à direita e 50-63 vasos à esquerda; 201-286 vasos transversais; 3-5 fendas por malha; papilas primárias bilobadas com 0,05-0,14 mm de altura, porém as papilas presentes no primeiro vaso transversal são filiformes e mais longas que as demais; papilas intermediárias simples, bem pequenas, como botões. Vasos parastigmáticos ausentes. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: ocupa metade ou mais do lado esquerdo, na região mediana do corpo. Estômago ovalado, pequeno, com cerca de quatro pregas internas; intestino com alças primária e secundária fechadas; reto curto. Presença de dilatação alongada e não saculiforme na região descendente, alça secundária e reto. Ânus de margem lisa, localizado a 2,3-3,56 cm do anel de tentáculos orais, próximo ou um pouco posterior ao sifão atrial. Vesículas renais raras; quando presentes são pequenas (0,17 mm de diâmetro) e estão em baixa densidade espalhadas sobre o intestino.

Gônadas: ovário lobado, presente dentro da alça intestinal primária, mais visível externa do que internamente. Parte do ovário se estende sobre a região descendente e alça secundária do intestino, não sendo visível pelo lado externo. Ovócitos com até 0,12 mm de diâmetro. Testículo ramificado apenas sobre o intestino, com folículos bem alongados. Aberturas dos gonodutos associadas à parede do corpo e um pouco anteriores ao ânus; oviduto com abertura ampla; espermiduto ramificado na porção final, apresentando numerosas pequenas projeções digitiformes anteriores à abertura do oviduto. Ovário e testículo não são observados maduros simultaneamente: o primeiro é presente entre abril e setembro e testículo presente apenas em animais coletados em dezembro.

Distribuição Geográfica: Panamá (Atlântico) (Bonnet & Rocha 2011a).

Comentários: os exemplares observados são parte do material utilizado na descrição original da espécie (Bonnet & Rocha 2011a). Dessa forma não há muito o que comparar, apenas convém ressaltar que há animais maiores, que podem alcançar até 7,5 cm de comprimento total e apresentar 317 vasos transversais na faringe (Bonnet & Rocha 2011a).

Phallusia mammillata (Cuvier, 1815)

Material examinado: DZUP PHA 08 – 2 ind.; Roscoff, Bretanha, França (48°43'N; 03°58'W); 15.VII.1992; col.: R.M. Rocha

Morfologia externa: Quando vivo apresenta coloração esbranquiçada, com a superfície irregular devido a projeções semiesféricas. Fixa-se ao substrato pela região esquerda posterior, sem incrustações ou epibiontes em sua superfície. Maior indivíduo com aproximadamente 10,0 cm de comprimento total. Túnica opaca, com projeções semi-esféricas e lisas. Consistência cartilaginosa e macia, apesar de sua grande espessura (4,0-6,3 mm). Após fixação, vasos finos de coloração marrom claro podem ser vistos na túnica.

Animal sem túnica: corpo em forma de pera, com 5,9-7,1 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 3,0-3,5 cm de largura na região posterior do corpo, mais larga que a anterior. Após fixação, parede do corpo pode apresentar coloração castanha. Sifão oral apical e atrial deslocado posteriormente a 2,6-3,2 cm do anel de tentáculos orais, ao final do terço anterior do corpo. Sifão oral curto, com 1,1-1,2 cm de comprimento e 8-9 lobos triangulares; sifão atrial um pouco menor (0,9-1,1 cm), com 6-7 lobos; margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Presença de pequenos ocelos de coloração parda, quase inconspícuos, entre os lobos. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão atrial, a 1,8-2,2 cm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal no lado direito composta por uma rede de fibras em várias direções, com as mais espessas apresentando 0,1-0,24 mm de diâmetro. Pode haver um predomínio de fibras transversais completas na região anterior. Lado esquerdo do corpo com fibras longitudinais longas saindo do sifão oral, quase até a região da alça intestinal primária, além de fibras transversais completas na região próxima ao sifão oral e fibras curtas perpendiculares à margem dorsal. Nos sifões a musculatura longitudinal encontra-se organizada em feixes; já a circular apresenta-se em grande densidade no sifão oral e em menor quantidade no atrial.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral recoberta por papilas (0,03-0,04 mm de diâmetro). Presença de 40-45 tentáculos orais simples, de três tamanhos diferentes, com os maiores medindo 2,6-4,0 mm de comprimento; tentáculos orais

inseridos em anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado recoberta por uma grande quantidade de papilas (0,02-0,03 mm de diâmetro). Distância do anel ciliado para o anel de tentáculos de 1,0-1,8 mm na região mediana do lado direito (maior indivíduo, maior a distância); em ambos os lados há um aumento nessa distância à medida que se aproxima da região ventral do corpo. Área peritubercular pequena e arredondada; tubérculo dorsal ausente. Presença de numerosas aberturas acessórias (mais de 200) distribuídas ao longo da área entre o anel ciliado e a glândula neural, sob a lâmina dorsal. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 7,6-12,5 mm após a extremidade da área peritubercular; posteriormente torna-se simples, com margem serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe; papilas na área próxima à abertura do esôfago ausentes. Lâmina dorsal passando pelo lado esquerdo do esôfago até a extremidade da faringe, sem se estender além do estômago. Uma fileira de linguetas margeia o lado direito da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,4 mm no lado direito e de 0,2-0,3 mm no lado esquerdo. Faringe fortemente plicada (1½-2 dobras por malha), com aproximadamente 69 vasos longitudinais à direita e 52-56 vasos à esquerda; vasos longitudinais mais próximos à região dorsal do corpo convergindo para a lâmina dorsal, não alcançando a região do anel ciliado. Presença de 304-397 vasos transversais; 5-7 fendas longitudinais por malha; papilas primárias simples ou bilobadas com 0,1-0,13 mm de altura. Vasos parastigmáticos ausentes, mas há pequenas papilas intermediárias simples por toda a faringe. Endóstilo geralmente de margem lisa, mas pode apresentar algumas pequenas papilas esparsas.

Tube digestório: volumoso, ocupa mais da metade da área do lado esquerdo, na região mediana e posterior do corpo. Estômago globuloso e grande, com aproximadamente 21 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; reto longo, quase em posição vertical. Ânus de margem lisa, localizado a 3,37-3,5 cm do anel de tentáculos orais, um pouco posterior ao sifão atrial. Vesículas renais com aproximadamente 0,18 mm de diâmetro, recobrendo todo o trato digestivo, visíveis tanto interna quanto externamente.

Gônadas: ovário ramificado, visível apenas pela face interna do corpo, inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre a porção ascendente e descendente do intestino, além de recobrir parte do estômago quando bem desenvolvido. Ovócitos com

até 0,16 mm de diâmetro. Oviduto abrindo-se próximo ao ânus, sendo mais conspícuo externamente. Testículo e espermiduto não foram observados.

Distribuição Geográfica: Reino Unido, Espanha, França, Mar Egeu, Dardanelos, Mar de Marmara (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950, Turon 1985).

Comentários: a espécie é bastante conhecida na Europa, podendo ser encontrada desde a zona entremarés até 180m de profundidade (Berrill 1950). De acordo com a literatura, *P. mammillata* pode apresentar até 100 tentáculos orais e em alguns indivíduos é possível encontrar um tubérculo dorsal extremamente pequeno e sem formato definido (Berrill 1950). As gônadas costumam estar recobertas por vesículas renais, o que dificulta a observação das mesmas.

Phallusia nigra Savigny, 1816

Material examinado: 2457 – 2 ind.; Porto do Pecém, Fortaleza, CE, Brasil (03°30'00"S; 39°50'00"W); em placas de polietileno; 13.X.2010, col. A.B. Paiva

Morfologia externa: fixa-se ao substrato pela região esquerda posterior, possui coloração negra e superfície livre de incrustações ou epibiontes. Maior indivíduo analisado com 5,5 cm de comprimento total. Túnica preta e opaca, de superfície lisa e consistência cartilaginosa e macia (1,1-1,9 mm de espessura). Um dos espécimes possui uma projeção aplainada na lateral do corpo, auxiliar para fixação ao substrato.

Animal sem túnica: corpo alongado, com até 5,2 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 2,1 cm de largura. Após fixação, parede do corpo acinzentada, com musculatura um pouco mais clara. Sifão oral apical e o atrial deslocado posteriormente a 0,6-1,6 cm do anel de tentáculos orais, ao final do terço anterior do corpo. Sifão oral curto, com 0,5-1,0 cm de comprimento, e 10-12 lobos triangulares na margem; sifão atrial mais longo, com 0,7-1,6 cm, e nove lobos na margem. Margem dos lobos de ambos os sifões lisa, sem ocelos entre os lobos. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão atrial, distante 0,4-1,0 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal no lado direito composta por uma rede de fibras, com predominância de músculos transversais, mas com fibras longitudinais longas e

mais espessas (aproximadamente 0,1 mm de espessura). Do lado esquerdo do corpo há fibras longitudinais longas saindo do sifão oral e alcançando a região da alça intestinal primária, além de fibras transversais completas na região próxima ao sifão oral e fibras curtas perpendiculares às margens dorsal e ventral. Nos sifões a musculatura longitudinal encontra-se organizada em feixes largos, que se cruzam com a densa musculatura circular.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 51-86 tentáculos orais simples, de três ou quatro tamanhos diferentes, com os maiores medindo 1,8-3,0 mm de comprimento. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado com grande quantidade de papilas (0,024-0,036 mm de diâmetro). Distância entre o anel ciliado e anel de tentáculos de 0,5-0,9 mm no lado direito do corpo, o mais amplo dos dois (a maior distância encontrada no maior indivíduo). Área peritubercular formando um pequeno V. Abertura do tubérculo dorsal com 0,1-0,2 mm de diâmetro ântero-posterior, em U sem pontas enroladas. Presença de 8-21 aberturas acessórias distribuídas ao longo da área entre anel ciliado e gânglio nervoso, sob a lâmina dorsal. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 5,6-11,0 mm após a extremidade da área peritubercular e em seguida passa a ser única, com margem serrilhada, devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe; ausência papilas na área próxima à abertura do esôfago. Lâmina dorsal passa pelo lado esquerdo do esôfago e continua até a extremidade da faringe, que se estende a 2,3-3,0 mm além do estômago (distância não relacionada ao tamanho do espécime). Margeando o lado direito da abertura digestiva há uma fileira de longas linguetas oriundas do prolongamento dos vasos transversais, unidas na base por uma ampla lâmina. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,4 mm no lado direito e de 0,16-0,3 mm no lado esquerdo. Faringe com $\frac{1}{2}$ -1 dobra por malha; 53-68 vasos longitudinais à direita e 45-64 vasos à esquerda; vasos longitudinais de ambos os lados convergem para a lâmina dorsal na região anterior. Presença de 231-287 vasos transversais; papilas primárias simples com 0,1-0,12 mm de altura; 6-8 fendas por malha. Vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias ausentes. Endóstilo com papilas ao longo de suas margens.

Tubo digestório: volumoso, ocupando pouco mais da metade do lado esquerdo, na região mediana e posterior do corpo. Estômago grande e alongado, com pregas longitudinais; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; ânus de margem bi ou multilobada, localizado a 1,3-2,0 cm do anel de tentáculos orais,

posterior ao sifão atrial. Vesículas renais com 0,5-0,7 mm de diâmetro, recobrando todo o trato digestório, visíveis tanto interna quanto externamente.

Gônadas: ovário ramificado, inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre a porção descendente do intestino, visível principalmente pela face interna do corpo. Ovócitos com até 0,11 mm de diâmetro. Testículo formado por folículos curtos que se ramificam sobre o tubo digestivo (menos o estômago). Gonodutos abrem-se junto ao ânus, sendo o oviduto mais conspícuo externamente e o espermiduto, internamente.

Distribuição Geográfica: EUA (Atlântico), Bermuda, Cuba, Jamaica, Haiti, Porto Rico, Saint Thomas, Saint Croix, Guadalupe, Saint Vicent, Belize, Panamá (Atlântico), Curaçao, Venezuela, Brasil (CE, BA, RJ, SP), Mar Vermelho, Singapura. (Van Name 1945; Monniot C. 1983; Lambert G. 2002; Rocha *et al.* 2012; Vandepas *et al.* 2015).

Comentários: facilmente reconhecida em campo pela túnica preta e lisa, *P. nigra* pode apresentar 8-10 lobos no sifão oral e 8-12 no atrial, 35-115 tentáculos orais, 10-40 aberturas acessórias, até 121 vasos longitudinais no lado direito da faringe e alguns indivíduos podem ter a porção descendente do intestino dilatada, porém não de forma sacular (Vandepas *et al.* 2015). Em geral, a abertura do tubérculo dorsal é em formato de U simples, com ou sem pontas enroladas, mas já foram identificados espécimes com múltiplas fendas e tubérculo dorsal em S invertido (Lee *et al.* 2013). Indivíduos jovens podem apresentar a túnica acinzentada e semi-transparente (obs. pess.). Uma revisão da espécie demonstrou que o aspecto externo da espécie tão característico levou à identificação equivocada de amostras de diversas partes do Pacífico e Índico, confundindo com *P. philippinensis* e *P. fumigata* (Vandepas *et al.* 2015). A distribuição acima apresentada é limitada apenas aos espécimes que realmente correspondem a *P. nigra*.

Phallusia philippinensis Millar, 1975

Material examinado: DZUP PHA 32 – 2 ind.; HIMB, Kaneohe, Hawaii, EUA (21°27'12"N; 157°46'46"W); 14.III.2012, col. E. Hirose

DZUP PHA 31 – 3 ind.; Toya Fishery Port, Yomitan, Okinawa, Japão (26°23'N; 127°43'E); 08.IV.2011, col. E. Hiroshi

DZUP PHA 30 – 1 ind.; Penghu, Taiwan (23°32'25"N; 119°37'26"E); 09.III.2011, col.: E. Hirose

DZUP PHA 39 – 1 ind.; Padang Buoy, Padang, Singapura (01°17'N; 103°51'E); 23.VII.2012, col. S. Lee

Morfologia externa: fixa-se ao substrato principalmente pela região esquerda posterior, não costuma ter incrustações, mas pode apresentar algas, cracas e briozoários como epibiontes. Maior indivíduo com aproximadamente 7,0 cm. Túnica opaca, de superfície lisa e consistência cartilaginosa e macia, com 1,2-4,7 mm de espessura. Após fixação (até 2 anos), a túnica assume aspecto “manchado”: um fundo marrom escuro com pontuações mais claras, mais facilmente observado sob lupa. No entanto, alguns espécimes se tornam mais claros (pardacentos) em menos tempo. Presença de grandes vasos esbranquiçados visíveis na face interna da túnica.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 2,5-6,3 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior (geralmente entre 4,2-6,3 cm), e entre 1,1-2,4 cm de largura. Quando fixada, a parede do corpo possui coloração pardacenta. Sifão oral apical e o atrial deslocado posteriormente a 1,2-2,3 cm do anel de tentáculos orais, aproximadamente a $\frac{1}{3}$ do comprimento do corpo. Sifão oral curto, com 1,5-5,0 mm de comprimento e 9-12 lobos; sifão atrial mais longo (5,7-16,0 mm), com 8-9 lobos; margem dos lobos de ambos os sifões arredondada e lisa. Presença de pequenos ocelos de coloração marrom ou alaranjada, quase inconspícuos. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão atrial, a 4,5-14,4 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal no lado direito composta por uma rede de fibras em várias direções, com as mais espessas apresentando 0,06-0,22 mm de diâmetro. As fibras longitudinais que partem do sifão oral são longas, e chegam até a altura da base do sifão atrial, quando se dirigem à margem ventral. Lado esquerdo do corpo com fibras longitudinais longas saindo do sifão oral (até a região da alça intestinal primária) que se cruzam com fibras transversais completas por toda a área anterior ao tubo digestório. Presença também de fibras curtas perpendiculares à margem dorsal e posteriores ao sifão atrial. Nos sifões a musculatura longitudinal encontra-se organizada em feixes e a circular apresenta-se em grande densidade.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 38-68 tentáculos orais simples, de 3-4 tamanhos diferentes, com os maiores medindo 1,2-3,0 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos em anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, em geral com pequenas projeções em dupla fileira na lâmina anterior (mas em algumas regiões pode apresentar margem lisa); área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado com grande quantidade de papilas (0,012-0,03 mm de diâmetro). Distância entre anel ciliado e tentáculos orais de 0,4-1,5 mm (em geral a distância está relacionada com o comprimento do indivíduo), de forma similar dos dois lados do corpo. Área peritubercular arredondada ou em V, de comprimento variável; abertura do tubérculo dorsal em U, com ou sem as pontas enroladas para dentro. Presença de 13-73 aberturas acessórias distribuídas ao longo da área entre o tubérculo dorsal e a glândula neural, sob a lâmina dorsal. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 3,2-11,4 mm após a extremidade da área peritubercular; ao tornar-se única, possui margem serrilhada devido ao prolongamento dos vasos transversais da faringe; ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago. Lâmina dorsal passando pelo lado esquerdo do esôfago até a extremidade da faringe, a 1,4-3,9 mm além do estômago (quanto maior o indivíduo, maior a distância). Uma fileira de longas linguetas triangulares margeia o lado direito da abertura digestiva. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,2-1,9 mm no lado direito e de 0,16-0,44 mm no lado esquerdo. Faringe plicada (em geral com uma única, porém bem acentuada, dobra por malha), com 47-61 vasos longitudinais à direita e 38-50 vasos à esquerda; vasos longitudinais mais próximos à região dorsal do corpo convergindo para a lâmina dorsal, não alcançando a região do anel ciliado. Presença de 157-296 vasos transversais; 6-8 fendas longitudinais por malha; papilas primárias bilobadas com 0,1-0,2 mm de altura. Vasos parastigmáticos ausentes, mas há papilas intermediárias pequenas (como botões) em partes da faringe. Endóstilo de coloração escura, com papilas em sua margem.

Tubo digestório: grande, ocupando mais da metade do lado esquerdo, na região mediana e posterior do corpo. Estômago globuloso e grande, com 11-15 pregas longitudinais internas; intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; ânus de margem bi ou multilobada, em posição ligeiramente posterior ao sifão atrial (17,5-26,0 mm do anel de tentáculos orais), com tiflossole visível. Vesículas renais não observadas. Presença de pequenas papilas cônicas recobrimo o peritônio.

Gônadas: ovário lobado, restrito à alça intestinal primária, visível tanto pela face interna do corpo quanto pela externa; ovócitos com até 0,18 mm de diâmetro. Testículo ramificado, com folículos pequenos e arredondados. Oviduto abrindo-se próximo ao ânus, sendo mais conspícuo externamente. Abertura do espermiduto entre o ânus e o oviduto; espermiduto visível pela face interna do corpo.

Distribuição Geográfica: Havaí, Japão, Taiwan, Singapura, Filipinas, Palau, Austrália (Millar 1975; Monniot F. & Monniot C. 2001; Vandepas *et al.* 2015).

Comentários: a descrição original não é muito detalhada, mas as amostras aqui observadas coincidem com as características apresentadas por Millar (1975): padrão de musculatura no lado esquerdo do corpo, presença de 48-50 tentáculos orais, área pré-branquial papilada, tubérculo dorsal pequeno e em forma de ferradura, aberturas acessórias distribuídas entre o gânglio nervoso e o tubérculo dorsal. As principais diferenças são o tamanho reduzido dos exemplares (1,8-2,9 cm de comprimento total), a túnica de coloração acinzentada a levemente marrom, e a ausência de papilas intermediárias (Millar 1975). No entanto, de acordo com Monniot F. & Monniot C. (2001), a espécie pode alcançar até 4,2 cm de comprimento total e sua túnica possui coloração preta em vida, mas torna-se marrom escura após a fixação e é citada a presença de pequenas papilas intermediárias em forma de botão na faringe. O fato dos ocelos não terem sido observados (Monniot F. & Monniot C. 2001) pode ser decorrente dos mesmos serem extremamente pequenos, quase inconspícuos. No demais, todos os caracteres observados nos materiais aqui estudados correspondem perfeitamente ao encontrado na literatura (Tokiooka 1970; Monniot F. & Monniot C. 2001; Vandepas *et al.* 2015).

Corellidae Lahille, 1888

Família formada por 43 espécies divididas em onze gêneros (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016), seus representantes são todos caracterizados pelo hábito solitário, faringe geralmente com papilas principais sob os vasos longitudinais (*Corellopsis* não possui vasos longitudinais e *Xenobranchion* possui vasos longitudinais incompletos), ausência de papilas intermediárias, lâmina dorsal dividida em linguetas, vísceras do lado direito ou dorsal do corpo, e intestino que passa posteriormente ao

estômago (Ärnäck-Christie-Linde 1938; Van Name 1945; Berrill 1950; Kott 1969, 1985). É o grupo que apresenta a maior variação morfológica entre seus táxons. Por causa disso, muitos autores dividem Corellidae em subfamílias; uma das formas de separação é baseada na estrutura da faringe: Corellinae, cujos representantes possuem fendas faríngeas espiraladas ou parcialmente espiraladas (*Chelyosoma*, *Corella*, *Corelloides*, *Corellopsis*, *Corynascidia* e *Xenobranchion*), e Rhodosomatinae, em que as espécies apresentam faringe com fendas retas (*Abyssascidia*, *Dextrogaster* e *Rhodosoma*) (Kott 1985). No entanto tal subdivisão não foi corroborada em análises filogenéticas (ver Capítulo I desta tese), não sendo portanto representada aqui. Apesar de ter sido proposta a possibilidade do clado à parte (*Abyssascidia* + *Corynascidia*) e a exclusão de *Rhodosoma* de Corellidae (Capítulo I), devido à falta de dados mais robustos os três gêneros serão apresentados nesta seção. Há ainda dois gêneros abissais de posição incerta (*Clatripes* e *Mysterascidia*), entre Corellidae e Cionidae.

Chelyosoma Broderip & Sowerby, 1830

Espécie-tipo: *Chelyosoma macleayanum* Broderip & Sowerby, 1830

Os indivíduos deste gênero apresentam a túnica dividida em placas, cujo número e disposição variam conforme a espécie (Ärnäck-Christie-Linde 1934). Além disso, possuem numerosos tentáculos orais, fendas faríngeas curvadas que podem formar espirais, a parede do estômago areolada, e tubo digestivo e gônadas do lado direito do corpo (Ärnäck-Christie-Linde 1934; Van Name 1945). Gênero formado por nove espécies (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Chelyosoma macleayanum Broderip & Sowerby, 1830

Material examinado: NHM 1965.8.19.2-8 – 2 ind.; Porsangerfjord, Porsanger, Finnmark, Noruega (70°22'N; 25°07'E); 22-23 m; 10.VII.1939; col. G.I. Grawford

Morfologia externa: indivíduos achatados dorsoventralmente, de coloração laranja quando vivo, sendo os maiores de cores mais intensas. Podem apresentar sedimento fino e filamentos de algas sobre a superfície livre. Maior indivíduo com 1,63 cm de comprimento total. Fixa-se ao substrato por todo o lado direito do corpo. Apresenta

túnica opaca (em indivíduos menores ela é um pouco translúcida), de consistência rígida, especialmente em indivíduos maiores. Margeando o lado direito do corpo há uma grande quantidade de projeções digitiformes, espessas, principalmente na região posterior do corpo. Superfície livre da túnica dividida em oito grandes placas, cinco ao redor do sifão oral e quatro ao redor do sifão atrial (uma placa é comum aos dois sifões). Além dessas, há também seis placas menores correspondentes aos lobos de cada sifão.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,3-1,43 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 0,8-1,0 cm de largura. Parede do corpo translúcida, mas as fibras musculares podem ser levemente alaranjadas. Sifões curtos, com 0,1-0,2 cm de comprimento; sifão atrial deslocado posteriormente em aproximadamente 0,5 cm, pouco anterior à metade do comprimento do corpo. Ambos os sifões com seis lobos triangulares de margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 1,3-1,8 mm do anel de tentáculos orais, próximo ao sifão oral.

Musculatura: musculatura corporal de ambos os lados formada por fibras curtas perpendiculares a toda a margem do corpo. Fibras mais espessas com aproximadamente 0,1 mm. Nos sifões a musculatura longitudinal encontra-se organizada em feixes que se estendem por uma curta distância na parede do corpo. Musculatura circular dos sifões bastante densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 129-148 tentáculos orais simples, de quatro tamanhos diferentes, com os maiores medindo 2,1-2,5 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um espesso anel muscular, divididos em três fileiras. Anel ciliado duplo, sem projeções; distância entre o anel ciliado e o de tentáculos orais de 0,4-1,8 mm, medidos do lado direito do corpo (seguindo a proporção: quanto maior o indivíduo, maior a distância); área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Área peritubercular em V profundo, com abertura do tubérculo dorsal em U com as pontas enroladas para o mesmo lado ou em fenda horizontal, com 0,2-0,3 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal única anteriormente, formada por linguetas longas e finas sem lâmina basal entre elas; lâmina dorsal termina antes da abertura do esôfago. Ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago ou projeções à direita desta (opostas à lâmina dorsal). Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,3 mm em ambos os lados. Faringe lisa, com 32-34 vasos longitudinais à direita e 26-27 vasos à esquerda; 51-55

vasos transversais. Fendas da faringe em espiral, com uma ou duas fendas largas completando 2-3 voltas e o centro da espira sob a papila do vaso longitudinal (não ocupa o espaço exato de uma malha); algumas fendas são mais alongadas e não formam círculos. Papilas primárias simples com 0,15-0,22 mm de altura; Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: volumoso, ocupa quase toda parede do lado direito do corpo. Estômago oblongo, em posição vertical, com numerosas vilosidades arredondadas. Intestino isodiamétrico, com ambas as alças fechadas, sendo a secundária bem ampla e passando posteriormente ao estômago. Ânus com margem ondulada, formando cinco lobos arredondados largos e discretos; abertura do ânus a 5,6-9,1 mm do anel de tentáculos orais, próximo ao sifão atrial.

Gônadas: ovário ramificado, com o eixo central na alça intestinal primária e as projeções estendendo-se tanto sobre a porção ascendente quanto descendente do intestino; ovário visível tanto pela face interna do corpo quanto pela externa. Ovócitos de coloração amarelada ou alaranjada, com até 0,13 mm de diâmetro. Testículo formado por numerosos folículos arredondados pequenos, de coloração branca; testículo ramificado sobre todo o tubo digestivo, misturando-se com o ovário. Gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Canadá, EUA (Atlântico), Estreito de Bering, Groenlândia, Islândia, Noruega, Rússia, Japão (Van Name 1945; Abbott 1961; Millar 1966; Nishikawa 1991; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: em *Chelyosoma* o número de placas na superfície livre da túnica é um caracter importante na identificação da espécie. Nos exemplares analisados foram encontradas oito placas marginais, mas em *C. macleayanum* esse número pode variar entre 5-9, além de não apresentar placas intermediárias (Ärnäck-Christie-Linde 1934; Van Name 1945; Abbott 1961). De forma pouco comum para as ascídias, em *Chelyosoma* é possível determinar a idade de cada espécime através das linhas presentes na superfície das placas que representam o crescimento do indivíduo (Van Name 1945; Abbott 1961).

Corella Alder & Hancock, 1870

Espécie-tipo: *Corella parallelogramma* (Müller, 1776)

Este táxon é caracterizado pela presença de vasos longitudinais bem desenvolvidos na faringe, fendas formando espirais completas, estômago com pregas longitudinais na parede, e vísceras do lado direito do corpo (Ärnäck-Christie-Linde 1934; Van Name 1945). Algumas espécies podem ter um curto pedúnculo na região posterior do corpo (Ärnäck-Christie-Linde 1934; Van Name 1945). São reconhecidas 11 espécies de *Corella* para o mundo (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Corella eumyota Traustedt, 1882

Material examinado: NHM 1910.6.17.16 – 1 ind.; Station 55, Port Stanley, Ilhas Malvinas (51°41'S; 57°49'W); Discovery Antarctic Expedition

Morfologia externa: com até 2,2 cm de comprimento total, fixa-se ao substrato por todo o lado direito do corpo. Sobre a superfície livre havia uma desova de animal não identificado. Túnica opaca, de superfície rugosa e sem projeções, de consistência cartilaginosa, com até 0,03 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,8 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 0,9 cm de largura. Sifões curtos, com aproximadamente 0,2 cm de comprimento cada; sifão oral com oito lobos na margem; sifão atrial com cinco lobos, deslocado posteriormente a 0,7 cm do anel de tentáculos orais (cerca de $\frac{1}{3}$ do comprimento corporal). Lobos de ambos os sifões curtos, triangulares e largos, com margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso não observado devido ao fato do animal estar danificado na região.

Musculatura: lado direito do corpo com fibras longitudinais longas que se prolongam desde a base do sifão oral e estendem-se até a altura da alça intestinal primária. Presença também de fibras curtas perpendiculares às margens ventral e dorsal. Fibras com aproximadamente 0,02 mm de espessura. Musculatura do lado direito do corpo menos desenvolvida que a do lado esquerdo, onde espessas fibras (com até 0,19 mm de diâmetro) se emaranham formando uma rede que recobre toda a parede corporal.

Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes; fibras circulares em grande quantidade em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de mais de 24 tentáculos orais simples (mais da metade do anel de tentáculos estava ausente), de cinco tamanhos diferentes, com os maiores medindo aproximadamente 1,6 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um espesso anel muscular. Anel ciliado duplo, situado a 0,6 mm de distância do anel de tentáculos, medidos no lado direito do corpo; sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Área peritubercular, tubérculo dorsal e região anterior da lâmina dorsal não observadas devido ao estado do material. Lâmina dorsal dividida em longas linguetas unidas na base por uma lâmina estreita, não ultrapassando a abertura esofágica. Ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago; à direita da mesma, as últimas papilas de cada vaso transversal da faringe são maiores. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de aproximadamente 0,2 mm no lado direito e de 0,14 mm no lado esquerdo. Faringe levemente plicada ($\frac{1}{2}$ dobra por malha), com 45 vasos longitudinais à direita e 37 vasos à esquerda; aproximadamente 85 vasos transversais; papilas primárias simples com 0,12 mm de altura, sob os vasos longitudinais; sob cada papila há uma única longa fenda formando uma espiral com cerca de duas voltas (não ocupa exatamente o espaço da malha), cujo centro é ligeiramente mais alto que as bordas. Ausência de vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias. Endóstilo com projeções filiformes em suas margens.

Tubo digestório: tubo digestório bastante volumoso, ocupando cerca de $\frac{2}{3}$ da parede do lado direito, na região média e posterior do corpo. Estômago arredondado, em posição vertical, com aproximadamente 22 pregas internas. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária bem ampla e aberta, passando posteriormente ao estômago; ânus de margem multilobada, mas pouco conspícua, localizado a 9,3 mm do anel de tentáculos orais, posterior ao sifão atrial.

Gônadas: testículo ramificado, com numerosos folículos longos e finos recobrimdo todo o tubo digestivo, tanto pela face interna do corpo quanto externa, com exceção do reto. Ovário e gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Ilhas Malvinas, Weddell Sea, Ross Sea, Chile, Argentina, Portugal, Espanha, França, Inglaterra, Irlanda, Namíbia, África do Sul, Amsterdam

Island, Austrália, Tasmânia, Nova Zelândia (Millar 1960; Kott 1985; Turon 1988; Sanamyan & Sanamyan 2002; Collin *et al.* 2010; Nagar *et al.* 2010; Monniot F. *et al.* 2011; Monniot F. 2013).

Comentários: descrições anteriores relatam que a espécie geralmente apresenta entre 2,0-4,0 cm de comprimento total, mas há registros de indivíduos com até 15,0 cm coletados na região Antártica (Kott 1969). A coloração em vida é bastante variável (incolor, branca, marrom ou laranja), com os sifões em geral apresentando pigmentação alaranjada (Nagar *et al.* 2010). A superfície da túnica é descrita como sendo lisa e livre de epibiontes ou recoberta por outros organismos (Nagar *et al.* 2010); em alguns casos pode ainda apresentar pequenas papilas cônicas (Monniot F. 2013). *Corella eumyota* costuma apresentar sifão oral com 6-8 lobos e atrial com seis lobos, 50 a mais de 100 tentáculos orais, até 60 vasos longitudinais na faringe, fendas faríngeas com até quatro voltas, e ovário no interior da alça intestinal (Van Name 1945; Kott 1985; Turon 1988; Monniot F. *et al.* 2011; Monniot F. 2013). Como no presente material o tubo digestório encontrava-se fortemente recoberto pelo testículo, pode ter sido por isso que a gônada feminina não pôde ser observada. Os gonodutos são curtos e possuem a margem irregularmente multilobada; a incubação das larvas ocorre na cavidade atrial (Lambert G. 2004; Monniot F. 2013).

Corella eumyota comumente forma agregados e parece ser incapaz de retrair os sifões (Lambert G. 2004; Nagar *et al.* 2010). A espécie pode ser encontrada desde zonas entremarés até grandes profundidades (Kott 1985; Sanamyan & Sanamyan 2002). Os espécimes reportados para a Europa são frutos de introduções humanas, sendo encontrados principalmente em regiões portuárias, porém já com registros em substratos naturais (Collin *et al.* 2010).

Corella minuta Traustedt, 1882

Material examinado: DZUP COR 04 – 2 ind.; STRI Bay, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°21'09"N; 82°15'32"W); 0.5 m, sobre chapa de alumínio; 15.X.2009; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: medindo até 1,1 cm de comprimento total, fixa-se ao substrato pela região posterior do lado direito do corpo. Não apresenta incrustações ou epibiontes.

Túnica translúcida, incolor e de superfície lisa; consistência pouco firme, com 0,1-0,25 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 0,7-0,9 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 0,5-0,6 cm de largura. Parede do corpo completamente transparente e incolor. Sifões curtos (0,7-1,5 mm cada); oral apical, com oito lobos; atrial localizado ao final do terço anterior do corpo (a 0,2-0,5 cm do anel de tentáculos orais), com seis lobos. Lobos de ambos os sifões digitiformes e de margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,4-0,5 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal em ambos os lados do corpo formada apenas por 4-7 fibras finas (0,04-0,15 mm de espessura) que partem do sifão oral até a altura do sifão atrial de forma ligeiramente oblíqua. Do lado direito as fibras não recobrem o tubo digestório. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes aparentes; fibras circulares concentradas próximo à abertura dos sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de cerca de 26 tentáculos orais simples, de três tamanhos diferentes, com os maiores medindo aproximadamente 1,3 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um forte anel muscular. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Anel ciliado situado a 0,5-0,6 mm do círculo de tentáculos orais, medidos do lado direito do corpo; em ambos os lados há um aumento nessa distância ao se aproximar do endóstilo. Área peritubercular pequena e arredondada; abertura do tubérculo dorsal em fenda circular, com 0,06-0,1 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal dupla nos 0,4-0,7 mm anteriores, dividida em longas linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe; ausência de lâmina basal unindo as linguetas. Final da lâmina dorsal junto à abertura esofágica; ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago e de projeção à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,18-0,25 mm no lado direito e de 0,27-0,36 mm no lado esquerdo. Faringe levemente plicada (menos de ½ dobra por malha), com 23-25 vasos longitudinais de cada lado; 23-24 vasos transversais; papilas primárias simples com 0,1-0,12 mm de altura, sob os vasos longitudinais; em cada malha há 1-2 fendas longas formando uma espiral (2-3 voltas), cujo centro é ligeiramente mais alto que as bordas. Presença de delicados vasos radiais

cruzando em X sobre cada espiral. Vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias ausentes. Endóstilo com projeções filiformes em suas margens, mas pode também apresentar algumas pequenas papilas cônicas.

Tubo digestório: tubo digestório não muito volumoso, ocupando cerca de metade da área da parede do lado direito do corpo, na região média e posterior. Estômago arredondado, quase em posição vertical, com aproximadamente 11 pregas longitudinais internas; presença de uma projeção similar a um ceco gástrico na porção distal do estômago (voltado para a alça intestinal primária). Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária bem ampla e aberta, passando posteriormente ao estômago; reto longo, deixando a abertura anal bem próxima ao sifão atrial. Ânus bilobado, com pequenas projeções digitiformes na borda, localizado a 3,0-4,0 mm do anel de tentáculos orais.

Gônadas: ovário ramificado, inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre o intestino desde o final do estômago até a alça intestinal secundária, visível plenamente pela face interna do corpo e ao redor do intestino pela face externa. Ovócitos com até 0,11 mm de diâmetro. Testículo ramificado, com folículos grandes recobrimdo parte do intestino (apenas o reto não está coberto pelas gônadas). Gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Flórida, Haiti, St. Thomas, Anguilla, Guadalupe, Panamá (Atlântico), Curaçao, Japão, Micronésia, Nova Caledônia, Fiji, Polinésia Francesa (Van Name 1945; Monniot C. 1987; Monniot C. & Monniot F. 1987; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: os indivíduos estudados possuem o aspecto geral da faringe, tubo digestório e gônadas, bastante similar ao descrito por Monniot C. (1983) para amostras de Guadalupe, diferindo apenas pelo menor número de lobos no sifão atrial (cinco), a presença de pontos laranja entre os lobos dos sifões e o maior número de tentáculos orais (30-55). No entanto, conforme Van Name (1945), a descrição original da espécie cita apenas 26 tentáculos orais, o que está de acordo com o presente material. Apesar da distância geográfica, Monniot C. & Monniot F. (1987) comentam que os exemplares coletados na Polinésia Francesa são bastante similares aos encontrados no Caribe.

Corella parallelogramma (Müller, 1776)

Material examinado: DZUP COR 01 – 1 ind.; Tjärnö, Strömstad, Suécia (58°53'06"N; 11°05'40"E); 30.0 m; 09.IX.2010; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: fixa-se ao substrato pela região posterior do lado direito do corpo, e não apresenta incrustações ou epibiontes. Comprimento total do indivíduo analisado de aproximadamente 3,7 cm. Túnica translúcida, incolor e de superfície lisa; consistência pouco firme, com 0,2 mm de espessura. Presença de uma projeção plana na região posterior do corpo para fixação.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,9 cm de comprimento, medido desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 1,2 cm de largura. Parede do corpo completamente transparente e incolor. Sifão oral apical com 0,25 cm de comprimento e dez lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,5 cm do anel de tentáculos orais (cerca de ¼ do comprimento corporal), com 0,15 cm de comprimento e oito lobos. Margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Presença de ocelos de coloração amarela entre os lobos. Gânglio nervoso localizado na região mediana entre os sifões, a 2,0 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal em ambos os lados do corpo formada por poucas fibras longitudinais que partem do sifão oral até a altura do sifão atrial. Fibras mais espessas do lado direito com 0,15 mm de diâmetro. Do lado esquerdo do corpo há também fibras curtas perpendiculares às margens dorsal e ventral, desde a região anterior até aproximadamente a metade do comprimento do corpo. Musculatura longitudinal dos sifões organizada em feixes. Presença de uma grande quantidade de fibras circulares, mas só na metade anterior de ambos os sifões (mais próximo à abertura), deixando o resto dos sifões livre de musculatura.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 52 tentáculos orais simples, de dois tamanhos diferentes, com os maiores medindo 3,42 mm de comprimento; tentáculos sobre anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Anel ciliado situado a 1,2 mm de distância do anel de tentáculos, medidos no lado direito do corpo (similar em ambos os lados do corpo). Área peritubercular pequena e arredondada; tubérculo dorsal com 0,3 mm de diâmetro ântero-posterior, com abertura em U, sem

pontas enroladas. Lâmina dorsal não dupla anteriormente, dividida em longas linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe; lâmina dorsal seguindo até o final da faringe, que se estende por uma curta distância da margem posterior do estômago (2,6 mm além do estômago); ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago; região da abertura esofágica não observada. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,5 mm no lado direito e de 0,7 mm no lado esquerdo. Faringe levemente plicada, com 25 vasos longitudinais à direita e 27 vasos à esquerda; 30 vasos transversais; papilas primárias simples com 0,3-0,4 mm de altura, sob os vasos longitudinais; presença de 5-7 longas fendas por malha, formando uma espiral de formato quadrangular com aproximadamente oito voltas, cujo centro da espira é mais elevado que sua base. Não há vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: não muito volumoso, ocupa principalmente o terço posterior do lado direito do corpo (apenas o reto se estende para a região anterior). Estômago pequeno, piriforme, com aproximadamente 16 pregas internas. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária aberta, passando posteriormente em relação ao estômago; reto longo e em posição vertical, chegando próximo ao sifão atrial (abertura anal localizada a 6,6 mm do anel de tentáculos orais). Margem do ânus não observada.

Gônadas: ovário ramificado, inserido na alça intestinal primária e estendendo-se sobre parte do estômago e porção ascendente do intestino, visível apenas pela face interna do corpo; ovócitos com até 0,15 mm de diâmetro. Testículo ramificado recobrimdo parte do intestino. Gonodutos abrem-se próximo ao ânus.

Distribuição Geográfica: Noruega, Suécia, Escócia, Irlanda, English Channel, oeste do Mar Mediterrâneo, Itália, Mar de Marmara, Mar Adriático (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950; Millar 1966; Monniot F. 2013).

Comentários: o exemplar analisado coincide com as descrições de Millar (1966) e Berrill (1950) em quase tudo, sendo a única exceção a ausência de vesículas renais no presente espécime. Descrições mais completas de *C. parallelogramma* citam uma coloração amarelada ou avermelhada em vida, a presença de uma projeção da túnica na região posterior do corpo, indivíduos com até 5,0 cm de comprimento total, musculatura corporal como a descrita acima, 22-27 vasos longitudinais de cada lado da faringe, fendas longas e organizadas em espirais com no mínimo seis voltas, espirais faríngeas

com a forma regular de um quadrado, estômago com cerca de 10 pregas, ânus multilobado, e que a espécie não incuba suas larvas. (Ärnäck-Christie-Linde 1934; Lambert G. 2004; Monniot F. 2013). Nenhuma referência às vesículas renais é feita em nenhum desses trabalhos. Apesar de não terem sido encontradas vesículas renais, não há dúvidas quanto à identificação da espécie, uma vez que todas as demais características estão de acordo com a literatura.

Corella parallelogramma é uma espécie comum no Atlântico europeu, podendo ser encontrada desde águas rasas até 250m de profundidade (Ärnäck-Christie-Linde 1934).

Corynascidia Herdman, 1882

Espécie-tipo: *Corynascidia suhmi* Herdman, 1882

As espécies de *Corynascidia* apresentam tentáculos orais longos e finos, faringe formada por vasos extremamente finos, e vísceras na região dorsal (Herdman 1882; Ärnäck-Christie-Linde 1934). Foram descritas dez espécies (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016), entre pedunculadas e sésseis, todas elas encontradas apenas em grandes profundidades.

Corynascidia suhmi Herdman, 1882

Material examinado: NHM 1887.2.4.129-30 – 2 ind.; Station 146, entre o Cabo da Boa Esperança e Kerguelen Island (46°46'S; 45°31'E); 2465.0 m; 29.XII.1873; Challenger Collection

Morfologia externa: com até 13,0 cm de comprimento total, fixa-se ao substrato através de um longo pedúnculo na região posterior ventral do corpo. Sobre a superfície livre havia uma desova de animal não identificado. Túnica translúcida e de superfície lisa. Presença de um pedúnculo quase tão longo quanto o comprimento do próprio indivíduo sem a túnica (pedúnculo com aproximadamente 7,0 cm de comprimento); pedúnculo fino, com as extremidades alargadas e a base recoberta por foraminíferos. Túnica de consistência gelatinosa, com até 0,6 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 6,0 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior. Sifão oral não observado por estar ausente. Sifão atrial apical, com 0,4 cm de comprimento, deslocado posteriormente a 0,7 cm do anel de tentáculos orais. Lobos, ocelos e gânglio nervoso não observados.

Musculatura: ambos os lados do corpo com fibras curtas e espessas (0,192 de diâmetro); do lado direito há 15 fibras distribuídas apenas na região entre os sifões, perpendiculares à margem dorsal; do lado esquerdo as fibras distribuem-se desde a base do sifão oral até mais ou menos a metade do comprimento do corpo. Musculatura longitudinal dos sifões não observada; aproximadamente 11 fibras circulares agrupadas em um anel no sifão atrial; no sifão oral há maior número de fibras e não se encontram agrupadas.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de aproximadamente 103 tentáculos orais simples, de dois tamanhos diferentes, com os maiores medindo aproximadamente 8,2 mm de comprimento; tentáculos extremamente finos e frágeis (como se fossem fios de uma teia de aranha) inseridos em um anel muscular discreto. Área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Anel ciliado, área peritubercular, tubérculo dorsal e lâmina dorsal não observados devido ao estado do material. Faringe lisa, com papilas primárias simples, digitiformes, finas e longas (aproximadamente 0,5 mm de comprimento), sob vasos longitudinais finos e frágeis. Não foi possível contar o número de vasos longitudinais ou transversais devido ao fato da faringe estar bastante danificada. Presença de uma longa fenda formando uma espiral com cerca de três voltas, que ocupa o espaço de quase duas malhas. Ausência de vasos parastigmáticos ou papilas secundárias. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: tubo digestório bem pequeno, localizado na região dorsal do corpo, próximo ao sifão atrial. Estômago em forma de barril, recoberto por folículos testiculares. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária aberta (quase em ângulo de 90°); margem do ânus não observada.

Gônadas: ovário completamente restrito ao interior da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,2 mm de diâmetro. Testículo formado por folículos grandes e de formato oval, ao redor do ovário e recobrimdo o estômago e a região da alça intestinal primária. Gonodutos acompanham o reto.

Distribuição Geográfica: Chile, Terra Adélia e Enderby Land (Antártica), South Orkney Trench, Scotia Sea, Charley Gibbs Fracture Zone, Davis Strait, Groelândia, Macquarie Island (Kott 1969; Sanamyan & Sanamyan 2002, 2005; Monniot F. *et al.* 2011).

Comentários: apenas um indivíduo pôde ser estudado e algumas características não puderam ser analisadas devido ao estado de preservação da amostra. De acordo com a literatura, a espécie apresenta coloração cinza, com algumas partes do corpo em amarelo, o sifão oral na região média e o atrial próximo ao topo, sifões de margem lisa, oito fibras musculares curtas entre os sifões, 150 ou mais tentáculos orais, lâmina dorsal formada por uma série de longas linguetas, faringe extremamente delicada com 60-63 vasos longitudinais de cada lado e até 60 fileiras de fendas em espiral (cada espiral da faringe ocupa o espaço de 2-3 vasos longitudinais), estômago com pregas longitudinais e ânus multilobado (Herdman 1882; Sanamyan & Sanamyan 2002, 2005). Monniot F. *et al.* (2011) descrevem a parede estomacal lisa, porém isso não é confirmado por nenhum outro autor. Sua atual classificação taxonômica é discutida juntamente com a do gênero *Abyssascidia* (ver Comentários de *A. wyvilli*).

Abyssascidia Herdman, 1880

Espécie-tipo: *Abyssascidia wyvilli* Herdman, 1880

Indivíduos com numerosos lobos nos sifões, musculatura corporal formas por poucas e curtas fibras transversais do lado esquerdo do corpo, longas fendas faríngeas, vísceras do lado direito do corpo, e massa gonadal formando uma esfera compacta na região da alça intestinal primária (Herdman 1880, 1882). Gênero formado por apenas três espécies (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016), todas habitantes de grandes profundidades.

Abyssascidia wyvilli Herdman, 1880

Material examinado: NHM 1887.2.4.136 – 1 ind.; Estação 160, Sul da Austrália (42°42'S; 134°10'E); 4680.0 m; 13/03/1874; Challenger Collection (TIPO)

Morfologia externa: indivíduo com aproximadamente 5,0 cm de comprimento total. Após fixação, túnica semitransparente e de superfície rugosa, sem projeções, consistência macia apesar de bem espessa (até 4,5 mm de espessura).

Animal sem túnica: corpo oblongo, com até 3,3 cm de comprimento da base dos tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,4 cm de largura. Abertura oral sésil com 18 lobos na margem; sifão atrial localizado na região posterior do corpo, a 2,2 cm do anel de tentáculos, com 12 lobos na margem. Lobos de ambas as aberturas digitiformes, de extremidade arredondada e margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso relativamente distante da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito com fibras curtas perpendiculares à margem dorsal, desde a região do sifão oral até a altura do esôfago, próximo ao sifão atrial. Fibras espessas (0,29 mm de diâmetro), paralelas entre si, que se estendem por cerca de $\frac{1}{3}$ da largura do corpo. Lado esquerdo com fibras igualmente espessas distribuídas ao longo de todo o comprimento do indivíduo; fibras cruzam a parede corporal desde a margem dorsal até a ventral, bifurcando-se na região mediana do corpo. Fibras musculares longitudinais dos sifões não organizadas em feixes; musculatura circular formada por poucas fibras finas em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 17 tentáculos orais curtos e bem espaçados entre si, inseridos em um anel muscular fino; tentáculos de dois tamanhos diferentes, sendo os maiores com aproximadamente 1,0 mm de comprimento. Anel ciliado duplo, sem projeções, localizado a 1,14 mm de distância do círculo de tentáculos; área entre os anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas; tubérculo dorsal alongado, em forma de cone invertido (a parte mais ampla próxima à abertura); área peritubercular em um longo V. Lâmina dorsal formada por linguetas longas e finas unidas na base por uma estreita lâmina. Não foi possível observar a região anterior e nem o final da lâmina dorsal, assim como a abertura do esôfago, a medida da distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de cada lado do corpo e o número de vasos longitudinais devido ao estado da amostra. Faringe lisa, com aproximadamente 82 vasos transversais; quatro longas fendas verticais entre dois vasos longitudinais, porém que ocupam o comprimento de duas malhas (as fendas são cruzadas por um vaso transversal); papilas primárias simples, com 0,14 mm de

altura. Papilas intermediárias ou vasos parastigmáticos ausentes. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: pouco volumoso, ocupa menos da metade do lado direito do corpo, na região posterior. Estômago arredondado, com aproximadamente 11 pregas longitudinais internas, localizado na região média da largura corporal e anterior em relação ao intestino. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária em ângulo de 90°. Reto curto; ânus de margem multilobada abrindo-se próximo à abertura do sifão atrial.

Gônadas: ovário saculiforme único, restrito à região interna da alça intestinal primária; maiores ovócitos com 0,15 mm de diâmetro. Testículo composto por folículos grandes de formato irregular, recobrando o ovário formando uma grande esfera. Ambas as gônadas são visíveis apenas externamente, no interior e sobre a alça intestinal primária. Gonodutos abrem-se junto ao ânus.

Distribuição Geográfica: Austrália, Kermadec Trench (Herdman 1882; Kott 1969).

Comentários: de acordo com a literatura, animal possui em vida coloração cinza claro, quase transparente e fixa-se ao substrato de forma bastante peculiar pela região ventral, mas na metade anterior do corpo e não na posterior como é usual para as ascídias (Herdman 1882). Além disso, o grande número de lobos nos sifões é bastante característico, apesar de serem reportados apenas 12-14 lobos no sifão oral e 8-9 no atrial (Herdman 1882; Kott 1969), número inferior ao observado. Os tentáculos orais são descritos com espaçamento entre si de aproximadamente seu próprio comprimento e o gânglio neural distando posteriormente cerca de três vezes o comprimento do tubérculo dorsal (Herdman 1882); no estômago podem ser encontradas até 30 pregas longitudinais (Kott 1969).

O gênero *Abyssascidia* foi considerado como sendo intermediário entre *Ascidia* e *Corella*, por apresentar a estrutura faríngea como em Ascidiidae, mas a posição e forma das vísceras, o padrão de musculatura corporal e a aparência da lâmina dorsal são similares a Corellidae (Herdman 1882). Atualmente alguns autores reconhecem a existência de duas subfamílias dentro de Corellidae, sendo Corellinae composta por gêneros cuja faringe apresenta fendas em espiral e Rhodosomatinae com fendas retas (Kott 1985). *Abyssascidia* é incluída nessa última subfamília, dissociando-a

completamente de Ascidiidae. No entanto, uma análise filogenética baseada somente em caracteres morfológicos sugere que os gêneros abissais de Corellidae (*Abyssascidia* e *Corynascidia*) correspondem a um grupo a parte desta família. Dessa forma, as fendas em espiral teriam surgido mais de uma vez ao longo da história evolutiva e (*Abyssascidia* + *Corynascidia*) formariam uma nova família exclusivamente abissal, mais proximamente relacionada aos corelídeos que aos ascidiídeos (ver Capítulo I desta mesma tese).

Rhodosoma Ehrenberg, 1828

Espécie-tipo: *Rhodosoma turcicum* (Savigny, 1816)

A principal característica do táxon é a presença de uma projeção da túnica sobre os sífões apicais que, por estar ligada à musculatura corporal, fecha os mesmos (Van Name 1945). Além disso, apresenta apenas poucas fibras musculares espessas restritas à região anterior do corpo, e tubo digestivo e gônadas do lado direito do corpo (Van Name 1945). Somente duas espécies de *Rhodosoma* são reconhecidas atualmente (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Rhodosoma turcicum (Savigny, 1816)

Material examinado: DZUP RHO 05 – 1 ind.; Hospital Point, Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°20'04"N; 82°13'10"W); 7.0 m, recife de corais; 23.XII.2008; col. R.M. Rocha

DZUP RHO 03 – 1 ind.; Baía Honda, Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°18'23"N; 82°10'24"W); 1.0 m, raízes de mangue; 28.VIII.2008; col. R.M. Rocha

DZUP RHO 04 – 1 ind.; Ilha Bastimento, Bocas del Toro, Panamá (09°16'49"N; 82°10'20"W); 0.5 m, raízes de mangue; 04.VIII.2008; col. R.M. Rocha

153/297 – 2 ind.; Porto do Pecém, São Gonçalo do Amarante, CE, Brasil (03°30'00"S; 39°50'00"W); 5.0-6.0 m, placas de pvc; 01.XI.2011; col. A.B. Paiva

DZUP RHO 01 – Quebramar Norte, BA, Brasil (12°57'52"S; 38°30'57"W);
11.XII.2007; col. R.M. Rocha

AC 01 – 1 ind.; Porto do Forno, Arraial do Cabo, RJ, Brasil (22°58'14"S; 42°01'06"W);
3.0 m; 21.VI.2011; col. C.G.W. Ferreira

UF 845 – 1 ind.; leste de Middle Shoals, Apra Harbour, Guam Islands, Mariana Islands,
EUA (13°26'42"N; 144°39'32"E); 1.0-15.0 m; 17.VI.2010; col. N. Evans, F.
Michonneau, G. Paulay, A. Anker, T. Naruse, D. Uyeno

Morfologia externa: Quando vivos apresentam coloração amarela ou esverdeada, com os sifões avermelhados. Indivíduos com até 6,0 cm de comprimento total, fixados ao substrato pelo lado direito do corpo. Pode apresentar epibiontes sobre a túnica (algas, poríferos, hidrozoários, anêmonas, cracas, ascídias coloniais). Túnica translúcida e incolor. Sifões protegidos por uma dobra da túnica que pode ser contraída devido à ligação com a forte musculatura corporal. Túnica macia, com 0,3-1,2 mm de espessura; superfície enrugada, com numerosas pequenas projeções cônicas na dobra anterior que protege os sifões.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 1,5-3,6 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior (mais comumente entre 19,0-26,0 cm), e 0,9-1,6 cm de largura. Parede do corpo completamente transparente e incolor em formol, apenas com a região anterior de coloração avermelhada (após até nove meses em formol; amostras com maior tempo de preservação encontram-se totalmente incolores). Sifões apicais; sifão oral com 0,15-0,9 cm de comprimento e 8-9 lobos; sifão atrial com 0,2-0,5 cm de comprimento e seis lobos; margem dos lobos de ambos os sifões arredondada e lisa. Ocelos pouco conspícuos, de coloração marrom, presentes em ambos os sifões. Gânglio nervoso localizado na região mediana entre os sifões, a 0,4-1,1 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal dos dois lados do corpo restrita a poucas fibras longitudinais curtas e espessas (0,2-1,5 mm de diâmetro) que partem dos sifões: 4-11 saindo do sifão oral e estendendo-se pelo lado esquerdo do corpo e 3-9 saindo do sifão atrial e seguindo pelo lado direito do corpo. Nos sifões há também fibras longitudinais finas, sem a formação de feixes organizados, além de uma grande quantidade de fibras circulares.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 13-45 tentáculos orais simples (geralmente entre 19-28 tentáculos), de duas ou três ordens de tamanho, com os maiores medindo até 1,5 mm de comprimento; tentáculos inseridos sobre anel muscular estreito. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Anel ciliado a 0,5-2,4 mm de distância do círculo de tentáculos orais, medidos do lado do direito do corpo, mas similar em ambos os lados (distância não relacionada ao comprimento do indivíduo). Área peritubercular pequena, arredondada ou em V; tubérculo dorsal com 0,2-0,8 mm de diâmetro ântero-posterior, com abertura em fenda circular ou em C/U com as pontas um pouco curvadas para dentro. Lâmina dorsal não dupla anteriormente, dividida em longas linguetas oriundas do prolongamento dos vasos transversais da faringe, sem lâmina basal. Lâmina dorsal seguindo até o final da faringe, a 2,5-10,4 mm de distância do estômago (em geral quanto maior o indivíduo maior esse prolongamento pós-estomacal, porém isso não é regra); ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago, mas à direita desta há uma fileira de longas linguetas. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,15-0,6 mm no lado direito e de 0,12-0,46 mm no lado esquerdo. Faringe lisa, com 48-90 vasos longitudinais à direita e 50-81 vasos à esquerda (vasos longitudinais podem estar interrompidos em partes da faringe); 87-153 vasos transversais; 3-5 fendas longitudinais por malha; papilas primárias simples com 0,08-0,2 mm de altura, sob os vasos longitudinais. Vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias ausentes. Endóstilo geralmente com papilas em sua margem.

Tubo digestório: localizado do lado direito do corpo, ocupa metade a dois terços da área da parede, principalmente na região média e posterior. Estômago em posição vertical, com 16-21 pregas internas; intestino isodiamétrico, com alça primária e secundária fechadas; reto extremamente longo chegando próximo ao sifão atrial; ânus de margem multilobada, localizado a 4,4-7,8 mm do anel de tentáculos orais.

Gônadas: ovário ramificado, recobrimdo totalmente o tubo digestivo (com exceção do reto), visível plenamente pela face interna do corpo (externamente pode ser visto ao redor do estômago e parte do intestino); maiores ovócitos com 0,22 mm de diâmetro. Testículo ramificado, com folículos bastante alongados, visível principalmente pela face externa do corpo na região do intestino. Gonodutos abrem-se pouco anteriormente ao ânus.

Distribuição Geográfica: Estados Unidos (Pacífico e Atlântico), Cuba, Jamaica, Porto Rico, St. Croix, St. Thomas, Guadalupe, Panamá (Atlântico), Curaçao, Bonaire, Venezuela, Brasil, Chile, Mar Mediterrâneo, Israel, Mar Vermelho, Somália, Moçambique, Sri Lanka, China, Japão, Golfo de Sião, Filipinas, Indonésia, Guam, Mar de Arafura, Austrália, Tasmânia, Solomon Islands, Nova Caledônia (Van Name 1945; Millar 1988; Kott 1985; Nishikawa 1986; Monniot C. 1991; Goodbody 2003; Shenkar & Loya 2009; Rocha *et al.* 2010; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: *Rhodosoma turcicum* é uma espécie comum, de ampla distribuição mundial em águas quentes, e considerada de fácil identificação devido à sua dobra na túnica para fechamento dos sifões, a presença de papilas cônicas na túnica principalmente na região anterior, e musculatura corporal composta somente por fortes fibras longitudinais (Van Name 1945; Kott 1985). Entre as amostras aqui estudadas pôde-se notar a existência de dois grupos, não relacionados com seus locais de origem: A) espécimes com apenas 3-8 fibras musculares de cada lado do corpo e poucos tentáculos orais (13-28), e B) espécimes com 6-11 fibras musculares de cada lado e muitos tentáculos orais (34-45). Em geral os indivíduos A também apresentaram maior número de vasos longitudinais de cada lado da faringe (72-90) que os indivíduos B (55-77), porém o exemplar proveniente de Guam (tipicamente do grupo A) também possuía um menor número de vasos longitudinais (aproximadamente 50). Essas diferenças por si só podem não ser realmente significativas para a separação em duas espécies de *Rhodosoma*, mas formam um dado interessante para se ter em mente. Apesar das tentativas, infelizmente até o momento não foi possível amplificar a região da citocromo oxidase I (DNA mitocondrial) para ajudar a resolver essa questão, mas novos esforços serão direcionados nesse sentido.

Hypobythiidae Sluiter, 1895

Família monogenérica, é encontrada apenas em grandes profundidades. É formada por indivíduos solitários e pedunculados, que possuem lâmina dorsal contínua e vísceras na região dorsal do corpo (Herdman 1882). A faringe não apresenta nem vasos (longitudinais ou transversais) e nem papilas, e as fendas consistem de simples aberturas irregulares (Herdman 1882).

Hypobythius Moseley, 1876

Espécie-tipo: *Hypobythius calycodes* Moseley, 1876

Com somente duas espécies reconhecidas (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016), tem como características do gênero as mesmas da família.

Hypobythius calycodes Moseley, 1876

Material examinado: NHM 1887.2.4.180 – 1 ind.; Estação 248, Oceano Pacífico Norte, (37°41'N; 177°04'W); em meio a argila vermelha com concreções de peróxido de manganês, 5220 m; 05.VII.1875; Challenger Collection (TIPO)

Morfologia externa: corpo em forma de taça, com aproximadamente 17,1 cm de comprimento total (incluindo o pedúnculo). Túnica hialina, de aspecto iridescente, completamente transparente, de consistência gelatinosa e superfície lisa após fixação, sem materiais incrustados ou epibiontes. Presença de aproximadamente seis grandes “almofadas” de cada lado do corpo, enfileiradas ao longo do eixo longitudinal do animal; algumas “almofadas” menores encontram-se ao redor do sifão atrial, distribuídas de forma mais ou menos simétrica. Na região das “almofadas”, túnica com até 0,45 mm de espessura. Presença de um pedúnculo estreito na região posterior do indivíduo, um pouco mais longo que o próprio corpo.

Animal sem túnica: corpo em forma de cone invertido, com quase 6,0 cm de comprimento e 3,6 cm de largura. Sifão atrial apical, sem projeções na margem ou lobos. Sifão oral, ocelos e gânglio nervoso não observados.

Musculatura: ambos os lados do corpo com longas fibras longitudinais que se estendem paralelamente entre si ao longo de todo o comprimento do corpo. Fibras com aproximadamente 0,07 mm de espessura. Fibras longitudinais dos sifões não observadas. Sifão atrial com poucas fibras circulares; sifão oral não observado.

Região anterior e faringe: não observados devido ao estado de preservação do material.

Tubo digestório: pequeno, localiza-se na região mediana dorsal do corpo. Estômago alongado, com numerosas pregas oblíquas na parede interna. Intestino isodiamétrico,

em U (alça primária fechada), sem alça secundária. Reto longo, que se estende até próximo da abertura atrial. Ânus com margem lisa.

Gônadas: ambas as gônadas restritas ao interior da alça intestinal primária. Testículo ramificado, com pequenos folículos cilíndricos. Abertura dos gonodutos próximo ao ânus.

Distribuição Geográfica: Oceano Pacífico Norte (Moseley 1876; Herdman 1882).

Comentários: descrita a partir de um único exemplar coletado por meio de rede de arrasto no meio do oceano Pacífico, *H. calycodes* possui cristais de formato irregular embebidos na túnica, principalmente na região do pedúnculo e, menos abundantemente, nos espessamentos da túnica (Moseley 1876). O sifão oral não foi observado, porém como a região dorsal encontrava-se intacta, presume-se que o mesmo estaria localizado na região ventral ou anterior do corpo (Moseley 1876; Herdman 1882). A musculatura corporal está distribuída pelas laterais e a região ventral do corpo, deixando a região dorsal completamente livre de musculatura (Moseley 1876). A faringe lisa é formada por fendas simples e irregulares e o ovário tem formato circular (Moseley 1876).

Hypobythius moseleyi Herdman, 1882

Material examinado: NHM 1887.2.4.181 – 1 ind.; Station 320, off Rio de La Plata, Buenos Aires, Argentina (37°17'S; 53°52'W); substrato duro, 1080 m; 14.II.1876; Challenger Collection (TIPO)

Morfologia externa: túnica translúcida, de consistência cartilaginosa e superfície rugosa após fixação, recoberta por sedimento fino. Túnica com até 0,34 mm de espessura. Presença de um pedúnculo espesso na região posterior do corpo, mais curto que o corpo (aproximadamente 3,0 cm de comprimento).

Animal sem túnica: corpo piriforme, com cerca de 3,2 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 2,3 cm de largura. Sifões curtos (não foi possível medi-los), aparentemente de margem lisa. Ocelos e gânglio nervoso não observados.

Musculatura: lado direito com longas fibras longitudinais que se unem formando feixes. Fibras mais espessas com aproximadamente 0,17 mm de diâmetro. Do lado esquerdo não foi possível observar a musculatura. Fibras longitudinais dos sífões não organizadas em feixes. Sífão oral com poucas fibras circulares; sífão atrial não observado.

Região anterior e faringe: parede interna do sífão oral lisa. Presença de 55 tentáculos curtos, de dois tamanhos diferentes (os maiores medindo até 1,0 mm de comprimento); tentáculos bem espaçados entre si, inseridos em um anel muscular. Anel ciliado duplo, sem projeções, a cerca de 3,65 mm de distância dos tentáculos orais; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Não foi possível observar a área peritubercular, a abertura do tubérculo dorsal, a lâmina dorsal e a abertura do esôfago. Faringe lisa, sem vasos longitudinais, transversais e parastigmáticos, ou papilas. Fendas da faringe como simples aberturas ovais/circulares, dispostas irregularmente; diâmetro aproximado das maiores fendas de 0,34 mm. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: pequeno, em U, localiza-se na região dorsal do corpo. Estômago alongado, com pregas longitudinais. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada. Alça secundária inexistente. Ânus de margem lisa.

Gônadas: ovário saculiforme, restrito ao interior da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,11 mm de diâmetro. Testículos e gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Argentina (Herdman 1882; Van Name 1945).

Comentários: o material estava bastante danificado, o que dificultou a visualização de muitas estruturas e a compreensão do animal. Entretanto, isso não se deve ao estado de conservação, mas sim ao estado do próprio espécime quando coletado. De acordo com a descrição original: “This interesting specimen was in such bad condition that at first sight it seemed like a confused mass of lacerated and entangled membranes. It has evidently been torn from end to end along the right side, and part of the mantle and branchial sac are entirely gone, while what remains is in parts displaced and hanging in shreds. Consequently it has been impossible to give the external form with precision, and no trace of the tentacles has been discovered.” (Herdman 1882). Ao examinar a amostra, foi possível encontrar os tentáculos orais, porém não outros caracteres. Conforme Herdman (1882), a espécie apresenta coloração cinza amarelado com partes em marrom claro, lâmina dorsal formada por uma estreita membrana, abertura do

tubérculo dorsal em U, com a extremidade direita curvada para fora, e gânglio nervoso localizado próximo ao tubérculo dorsal.

Perophoridae Giard, 1872

Formada por 51 espécies entre dois gêneros (*Ecteinascidia* e *Perophora*) (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016), todos os seus representantes tem hábito de vida colonial, com reprodução assexual por brotamento, zooides com túnica própria, mas ligados por um estolão (Van Name 1945; Berrill 1950). A faringe sempre tem papilas, mas os vasos longitudinais podem ser completos, incompletos ou ausentes; quando há vasos longitudinais, as papilas não costumam estar expostas ao lúmen da faringe (Berrill 1950). A lâmina dorsal é dividida em linguetas, o tubo digestório, com as gônadas associadas, está do lado esquerdo do corpo. Presença de incubação de larvas (Berrill 1950).

Ecteinascidia Herdman, 1880

Espécie-tipo: *Ecteinascidia turbinata* Herdman, 1880

Zooides com muitas fileiras de fendas, e numerosos e pequenos folículos testiculares (Van Name 1945; Rocha *et al.* 2012). Vasos longitudinais completos na faringe (Herdman 1880; Berrill 1950). Gênero com 29 espécies identificadas (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016).

Ecteinascidia conklini Berrill, 1932

Material examinado: NHM 1932.2.9.2 – 1 colônia, Bermudas (32°19'N, 64°46'W); sob rochas; 1932

MNHN P2 47 – lâmina permanente, 1 zooide; Causeway, Bermudas (32°21'17"N, 64°42'27"W); 1970

MNHN P2 ECT 47 – 1 colônia; St. 189, Fort de France, Martinica, Antilhas Francesas (14°35'59"N, 61°03'45"W); 1951

Morfologia externa: colônias formadas por zooides mais ou menos alinhados e próximos entre si, unidos por um estolão na região posterior do corpo (mas sem pedúnculo). Zooides livres de incrustações, porém o estolão pode apresentar fragmentos de briozoários arborescentes. Maiores indivíduos com até 11,2 mm de comprimento total. Túnica lisa, translúcida e extremamente fina, não tendo sido possível medir sua espessura. Alguns zooides podem apresentar pequenas projeções cônicas ou rizoides na região posterior do corpo.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 4,3-7,1 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,4-3,1 mm de largura. Sifão oral apical, com 0,7-2,1 mm de comprimento e 9-10 lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,8-1,5 mm de distância da base do sifão oral (5^a-7^a fileira de fendas), com aproximadamente 1,5 mm de comprimento e oito lobos; margem dos lobos de ambos os sifões lisa e arredondada. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,2-0,3 mm da base do sifão oral, bem próximo ao mesmo.

Musculatura: musculatura em ambos os lados do corpo formada por fibras transversais longas, que partem da região dorsal até mais da metade da largura do corpo (só o quarto ventral é livre de musculatura). Fibras distribuídas entre a 2^a-3^a e a 13^a-20^a fileira de fendas. Do lado esquerdo do corpo a musculatura não recobre o tubo digestório, com exceção do reto. Fibras corporais com 0,019-0,02 mm de espessura. Em ambos os sifões há uma grande quantidade de fibras circulares, porém não foi possível observar a musculatura longitudinal.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral com uma larga membrana próximo a abertura. Presença de 30-39 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,6-2,4 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um discreto anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,09-0,72 mm de distância do anel de tentáculos (similar dos dois lados, sendo que no maior zoóide examinado a distância era também maior); lâmina posterior mais larga que a anterior; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular ou em U sem pontas enroladas, com aproximadamente 0,02 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular levemente arredondada, quase reta. Lâmina dorsal dupla nos primeiros 0,3 mm e subdividida em linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe; presença de uma estreita lâmina basal unindo as linguetas. Lâmina dorsal acaba anteriormente à

abertura do esôfago. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,3 mm do lado direito e 0,1-0,2 mm do lado esquerdo. Primeiro vaso longitudinal de cada lado da lâmina dorsal interrompido. Faringe lisa, com 15-21 vasos longitudinais do lado esquerdo do corpo (lado direito não observado); 17-21 vasos transversais (18-22 fileiras de fendas); 2-3 fendas por malha (30-54 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,08-0,15 mm de altura. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: ocupando cerca de $\frac{1}{4}$ da área do lado esquerdo, encontra-se praticamente restrito à região posterior do corpo, tendo apenas o reto se alongando em direção ao sifão atrial. Estômago ovalado, de parede lisa, com uma única dobra longitudinal; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestivo, uma logo após o estômago e outra na metade da porção ascendente do intestino. Intestino isodiamétrico; alça primária fechada, na altura da 14^a-16^a fileira de fendas; alça secundária aberta, quase em ângulo de 90°. Reto alongado; ânus de margem bilobada, a aproximadamente 1,5 mm de distância do anel de tentáculos (9^a-11^a fileira de fenda), próximo ao sifão atrial.

Gônadas: testículo formado por folículos alongados, sobre o estômago e a alça intestinal primária. Abertura do espermiduto na altura da 16^a fileira de fendas, bem posterior ao ânus. Ovário não desenvolvido. Larvas não observadas.

Distribuição Geográfica: Bermudas, Florida, Belize, Haiti, Porto Rico, St. Thomas, St. Croix, St. Martin, Barbuda, Guadalupe, Martinica, Curaçao, Bonaire, Brasil (CE, PE, BA) (Goodbody & Cole 2006; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: inicialmente sendo confundida com juvenis de *Ecteinascidia turbinata*, foi reconhecida como espécie diferente por Berrill, tendo como principais características a coloração verde ou amarela em vida, com ou sem anel vermelho ao redor dos sifões, a posição do sifão atrial consideravelmente posterior ao sifão oral, faringe com cerca de 20 fileiras de fendas e ovos menores que *E. turbinata* (Berrill 1932), com aproximadamente 0,58 mm (Van Name 1945). Em revisão do gênero para o Atlântico americano, *E. conklini* é ainda descrita com até 25,0 mm de comprimento total, sifão atrial na altura da 6^a-8^a fileira de fendas, 7-9 lobos em cada sifão, 40-50 tentáculos orais, até 22 fileiras de fendas faríngeas, 18-20 vasos longitudinais, 45-60 fendas por meia

fileira, 30-32 folículos testiculares periformes, ovário no centro da alça intestinal primária e 6-8 larvas incubadas na região posterior da cavidade atrial (Goodbody & Cole 2006).

A amostra MNHN P2 134 (lâmina permanente da coleção do MNHN) proveniente de Porto Rico encontra-se também identificada como *E. conklini*. No entanto, o espécime difere por possuir apenas seis lobos arredondados, curtos e amplos no sifão oral, sifão atrial na altura da 1^a-2^a fileira de fendas, 11-13 vasos longitudinais de cada lado, 11 fileiras de fendas, alça intestinal secundária bem aberta formando um ângulo de 90° e ânus abrindo-se na 5^a fileira de fendas. Em *E. conklini*, além das características descritas no parágrafo anterior, os lobos do sifão oral são triangulares, a alça secundária do intestino é bem acentuada e a abertura do ânus localiza-se entre a 9^a e a 12^a fileira de fendas (Monniot C. 1983; Goodbody & Cole 2006; obs. pess.). Para complementar, no espécime portorriquenho o intestino conta com apenas uma constrição e as papilas que sustentam os vasos longitudinais da faringe são bem longas. Infelizmente não foi possível observar completamente a musculatura da amostra, pois a mesma encontra-se fixada em lâmina permanente e estava pouco corada. Além disso, a ausência de gônadas também dificulta a identificação do material. Pelas diferenças citadas acima é certo que não se trata de *E. conklini*. Pode ser que se trate de um juvenil de *E. turbinata* Herdman, 1880 devido a aparência e posição dos sifões, o número de tentáculos orais, o aspecto do estômago, o tipo de constrição no intestino e a abertura do ânus tão anterior (Goodbody & Cole 2006; obs. pess.), porém não é possível afirmar com certeza e por isso considero mais prudente manter em separado. Uma amostra coletada em Bermudas (185196) dissecada durante este trabalho apresenta características intermediárias entre *E. conklini* de Porto Rico e *E. turbinata*, apesar de ter tamanho semelhante ao presente espécime, o que corrobora a hipótese de que ambas possam ser apenas juvenis de *E. turbinata*, com algumas variações morfológicas entre si.

Ecteinascidia faaopa Monniot & Monniot, 1987

Material examinado: MNHN P2 ECT 37 – 2 zooides; Toafene, Vaira’o, Tahiti, Polinésia Francesa (17°48’10”S, 149°17’49”W); 10.0-20.0 m; em recifes; 1984; col.: C. Monniot & F. Monniot (TIPO)

Morfologia externa: sem dados a respeito.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 1,8 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,1 mm de largura. Sifão oral apical, com 0,4 mm de comprimento e aproximadamente 11 lobos; sifão atrial na região posterior do corpo (a 1,1 mm de distância da base do sifão oral), com 0,4 mm de comprimento; não foi possível contar o número de lobos no sifão atrial. Lobos de ambos os sifões digitiformes, longos, de margem arredondada e lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a aproximadamente 0,12 mm da base do sifão oral, próximo a este.

Musculatura: lado direito do corpo formada por fibras transversais completas, não paralelas entre si, distribuídas ao longo de toda a parede corporal, com maior concentração na metade anterior do zoóide. Lado esquerdo do corpo não observado devido às más condições do material. Fibras musculares corporais com aproximadamente 0,019 mm de espessura. Musculatura circular do sifão oral formada por poucas fibras espaçadas; musculatura longitudinal não observada.

Região anterior e faringe: poucos caracteres puderam ser observados devido ao mau estado de conservação dos zoóides. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,1 mm de distância do anel de tentáculos; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em fenda simples, com aproximadamente 0,014 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular pequena e arredondada. Lâmina dorsal não dupla anteriormente; subdividida em curtas linguetas; não foi possível observar se há lâmina basal. Papilas primárias simples com cerca de 0,06 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: não observado.

Gônadas: não observadas.

Distribuição Geográfica: Polinésia Francesa (Monniot C. & Monniot F. 1987).

Comentários: O material tipo consiste de zoóides incompletos, sem túnica, tubo digestório ou gônadas. Além disso, a faringe e os sifões encontravam-se deteriorados, só sendo possível observar partes deles. Apesar disso, a parede do corpo estava bem preservada, com a musculatura do lado direito bem conspícua. Tanto esta quanto o aspecto do sifão oral, a posição posterior do sifão atrial e o formato do tubérculo dorsal

são condizentes com a descrição de *E. faaopa*. A análise do material, apesar de tão deteriorado, tornou possível observar outros caracteres que não constam na descrição original, tais como a área entre os tentáculos orais e o anel ciliado, o aspecto da lâmina dorsal e do endóstilo, bem como a medição das estruturas. De acordo com a literatura, a espécie é formada por zooides incolores, distantes uns dos outros, que se encontram inclinados sobre o substrato, porém não estão recobertos por detritos (Monniot C. & Monniot F. 1987). Os maiores indivíduos atingem até 5,0 mm de comprimento total, possuem cerca de 20 tentáculos orais de 3-4 tamanhos diferentes, faringe com 15 fileiras de fendas, 15-17 vasos longitudinais completos de cada lado (apenas os mais próximos ao endóstilo são incompletos), duas fendas por malha, estômago globular e de parede lisa, intestino com duas constrictões formando um pós estômago na região ascendente, abertura anal lisa situada na altura da 7ª fileira de fendas, testículo formado por dois únicos folículos grandes (no interior da alça intestinal primária) e abertura do espermiduto anterior ao ânus (6ª fileira de fendas) (Monniot C. & Monniot F. 1987). Foram encontradas até seis larvas sendo incubadas no oviduto, na cavidade atrial do lado direito do corpo (Monniot C. & Monniot F. 1987).

Ecteinascidia herdmani (Lahille, 1887)

Material examinado: MNHN P2 ECT 04 – 1 colônia; Morro de Capelas, Ilha de São Miguel (37°50'23"N, 25°40'44"W); 1971; col.: C. Monniot; MNHN P2 76 – lâmina permanente, 1 zooide; Morro de Capelas, Ilha de São Miguel; 1971; col.: C. Monniot; MNHN P2 78 – lâmina permanente, 1 zooide; Morro de Capelas, Ilha de São Miguel; 1971; col.: C. Monniot

Morfologia externa: colônias formadas por zooides não muito próximos entre si, unidos por um estolão na região posterior do corpo, com um pedúnculo longo e fino. Zooides recobertos por sedimentos finos, grãos de areia, fragmentos calcários e foraminíferos; junto ao estolão há também hidrozoários. Sem dados de coloração em vida. Maiores indivíduos com até 4,2 mm de comprimento total. Túnica lisa, translúcida e extremamente fina, não tendo sido possível medir sua espessura.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 2,5-3,4 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,8-2,0 mm de largura. Sifão oral apical

com 0,8-1,0 mm de comprimento e oito lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,6-0,9 mm de distância da base do sifão oral (aproximadamente 5ª fileira de fendas), 6-8 lobos e 0,25-0,5 mm de comprimento; lobos de ambos os sifões longos, de margem arredondada e lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a aproximadamente 0,12 mm da base do sifão oral, bem próximo a este.

Musculatura: musculatura em ambos os lados do corpo formada por fibras longitudinais curtas (alcançam até a 3ª-4ª fileira de fendas), além de fibras perpendiculares à margem dorsal recobrando cerca de $\frac{1}{3}$ da largura do corpo; estas últimas estão distribuídas entre a 1ª e a 9ª fileira de fendas. Do lado esquerdo do corpo, a musculatura não recobre o tubo digestório. Fibras corporais com aproximadamente 0,019 mm de espessura. Musculatura circular dos sifões formada por poucas fibras; musculatura longitudinal não observada.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral aparentemente lisa, porém a observação ficou comprometida pelo estado de contração do sifão. Presença de 27-30 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,26-0,42 mm de comprimento; tentáculos inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,09-0,24 mm de distância do anel de tentáculos (semelhante dos dois lados do corpo); no menor zooide a distância era maior; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,02-0,03 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular formando um curto V. Lâmina dorsal única anteriormente; subdividida em linguetas longas e estreitas, derivadas do prolongamento dos vasos transversais da faringe; presença de uma estreita lâmina basal unindo as linguetas. Lâmina dorsal acaba pouco antes da abertura do esôfago. Ausência de papilas próximas ou projeções à direita da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,27 mm do lado direito e 0,15 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 19 vasos longitudinais do lado direito e 16-17 do lado esquerdo; 13-14 vasos transversais (14-15 fileiras de fendas); 1-2 fendas por malha (25-34 fendas por meia fileira). Papilas primárias simples com 0,09-0,1 mm de altura; uma curta porção das papilas se projeta no lúmen da faringe (menos de $\frac{1}{4}$ do comprimento da mesma). Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: pequeno, ocupa menos da metade da área do lado esquerdo, praticamente restrito à região posterior do corpo. Estômago ovalado, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestivo, uma no início e outra no final da porção ascendente do intestino. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária bem aberta; alça primária na altura da 9^a-10^a fileira de fendas. Ânus de margem bilobada, a 1,0-1,3 mm de distância do anel de tentáculos (7^a-8^a fileiras de fendas).

Gônadas: ovário formado por aproximadamente 10 ovócitos, os maiores com até 0,085 mm de diâmetro; ovócitos fortemente agrupados na região entre o estômago e a alça intestinal secundária. Testículo composto por 14-23 folículos ovalados, dispostos em círculo; folículos localizados no interior da alça intestinal primária, porém suas extremidades encontram-se sobre o intestino. Gonodutos não observados.

Distribuição Geográfica: Espanha, França (Mar Mediterrâneo e Atlântico) (Médioni 1969; Turon 1987).

Comentários: *Ecteinascidia herdmani* se assemelha a *E. minuta* (Berrill, 1932) na coloração em vida, no tamanho reduzido dos zooides, número de fileiras de fendas, número de fendas por fileira, estômago liso, posição da abertura anal e a incubação de larvas em uma bolsa formada pelo oviduto (Médioni 1969; Goodbody & Cole 2006). As únicas diferenças encontradas entre ambas são a possibilidade de maior número de lobos no sifão oral em *E. herdmani* (até 12), um pouco menos de vasos longitudinais de cada lado do corpo (10-14) e a alça intestinal secundária com curvatura mais acentuada em *E. minuta* (Goodbody & Cole 2006; obs. pessoal). Apesar da grande similitude, acredito que realmente se trate de duas espécies distintas, sendo *E. minuta* comum no Atlântico caribenho e *E. herdmani* no Atlântico leste. Uma discussão mais aprofundada sobre as duas espécies pode ser encontrada na descrição de *E. minuta* abaixo.

Ecteinascidia longiducta Monniot, 1978

Material examinado: MNHN P2 114 – lâmina permanente, 1 zoóide; Ilha de Saint-Paul (38°43'10"S, 77°31'47"E); 1969-1972; col.: J. Beurois, P. Noël & R. Wrangx (SINTIPO). MNHN P2 126 – lâmina permanente, 1 zoóide; 1969-1972; col.: J.

Beaurois, P. Noël & R. Wrangkx (SINTIPO). MNHN P2 ECT 08 – 1 colônia; 1969-1972; col.: J. Beaurois, P. Noël & R. Wrangkx (SINTIPO)

Morfologia externa: colônias formadas por zooides próximos entre si, mas sem formar agrupamentos comuns, como em *E. turbinata*. Zooides inclinados sobre o substrato e unidos por um estolão na região posterior do corpo, com um fino pedúnculo. Sem dados de coloração em vida. Maiores indivíduos com até 5,7 mm de comprimento total. Túnica lisa, translúcida e extremamente fina, sem incrustações, não tendo sido possível medir sua espessura.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 2,4-2,7 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,4-1,8 mm de largura. Sifão oral apical, com 0,5-0,6 mm de comprimento; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,2-0,4 mm de distância da base do sifão oral (1^a-3^a fileira de fendas) e 0,6-0,7 mm de comprimento. Ambos os sifões com seis lobos curtos cada, de margem arredondada e lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a aproximadamente 0,09-0,15 mm da base do sifão oral.

Musculatura: musculatura em ambos os lados do corpo formada por fibras longitudinais curtas, levemente oblíquas, que se iniciam na região dos sifões e alcançam até a 3^a-7^a fileira de fendas. Do lado esquerdo do corpo, a musculatura não recobre o tubo digestório. Fibras corporais com 0,016-0,019 mm de espessura. Musculatura dos sifões inconspícua.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 10-14 tentáculos orais, de dois tamanhos diferentes, os maiores medindo aproximadamente 0,23 mm de comprimento; tentáculos inseridos sobre um anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,02-0,19 mm de distância do anel de tentáculos (semelhante dos dois lados do corpo); região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,02-0,04 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular formando um curto V. Lâmina dorsal não dupla anteriormente; formada por uma ampla lâmina com projeções em forma de curtas linguetas derivadas do prolongamento dos vasos transversais da faringe. Lâmina dorsal acaba antes da abertura do esôfago. Ausência de papilas próximas à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,27 mm do lado direito e 0,21 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 10-12 vasos longitudinais em cada lado do

corpo; 13-14 vasos transversais (14-15 fileiras de fendas); duas fendas por malha (aproximadamente 24 fendas por meia fileira). Papilas primárias simples com 0,03-0,09 mm de altura; uma curta porção das papilas se projeta no lúmen da faringe (menos de ¼ do comprimento da mesma). Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: ocupa cerca de metade da área do lado esquerdo, na região média e posterior do corpo. Estômago oblongo, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestório, uma no início e outra no terço final da porção ascendente do intestino. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária aberta; alça primária na altura da 4^a-6^a fileira de fendas. Ânus de margem lisa, a 0,9-1,3 mm de distância do anel de tentáculos (5^a-7^a fileiras de fendas).

Gônadas: ovário formado por até 14 ovócitos, os maiores com até 0,09 mm de diâmetro, agrupados sobre a região mediana-distal do estômago, próximo à gônada masculina. Testículo composto por 12-20 folículos digitiformes, dispostos em círculo, ventralmente ao ovário, restritos ao interior da alça intestinal primária. Gonodutos não observados. Larvas incubadas na cavidade atrial, do lado direito do corpo (10 larvas bem desenvolvidas, além de seis em estágio inicial de desenvolvimento); maior larva com 0,54 mm de diâmetro ântero-posterior, cauda completando uma volta inteira ao redor do tronco e papilas adesivas sésseis (não foi possível contar o número de papilas).

Distribuição Geográfica: Ilha de Saint-Paul (Monniot C. 1978).

Comentários: de acordo com a descrição original, as fibras musculares longitudinais se estendem do sifão oral por todo o corpo (Monniot C. 1978), o que não foi observado nos presentes zooides: neles, a musculatura se restringia apenas ao terço anterior do corpo. Em algumas espécies de ascídias solitárias pôde-se notar que o comprimento das miofibras pode ser variável, chegando ao extremo em *Ascidia papillata*, na qual foram encontrados indivíduos com fibras bem curtas e outros cuja musculatura recobria quase toda a parede do corpo. Por enquanto não me sinto inclinada a crer que só isso possa justificar a separação de espécies. No caso especificamente de *E. longiducta*, por se tratar dos sintipos da espécie, considero que essa seja apenas uma variação intraespecífica.

Apesar de não ter sido possível observar nas amostras analisadas, o espermiduto é bastante característico em *E. longiducta* por se abrir muito anterior ao ânus, sendo um dos principais caracteres diagnósticos da espécie juntamente com o padrão muscular corporal (apenas fibras longitudinais) e a lâmina dorsal formada por uma lâmina ampla e linguetas na margem (Monniot C. 1978).

Ecteinascidia minuta Berrill, 1932

Material examinado: MNHN P2 ECT 28 – 1 colônia; Pointe Lambi, Guadalupe (16°18'17"N, 61°32'44"W); 1.0-3.0 m, em manguezal; 1980-1981

MNHN P2 161 – lâmina permanente, 3 zooides; sudoeste de Ilhote de Cochons, Guadalupe (16°12'48"N, 61°32'34"W)

11 – 1 colônia; Marina, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°20'08"N, 82°14'48"W); 0.5 m, em raízes de mangue; 12.VI.2011; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: colônias formadas por zooides agrupados, unidos por um estolão na região posterior do corpo. Os zooides podem encontrar-se inclinados sobre o substrato ou eretos. Zooides sem incrustações, de coloração amarelada, que desaparece após a fixação em formaldeído. Maiores indivíduos com até 5,2 mm de comprimento total. Túnica lisa, transparente (é possível observar o zoóide através dela) e de consistência pergaminosa, com menos de 0,01 mm de espessura.

Animal sem túnica: corpo ligeiramente alongado, com até 4,0 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo (zooides com menos de 3,0 mm não estavam sexualmente maduros), e 1,2-2,2 mm de largura. Sifão oral com 0,3-0,7 mm de comprimento e 7-11 lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,7-1,4 mm de distância da base do sifão oral (5°-10° fileira de fendas), com 0,3-0,5 mm de comprimento e 6-8 lobos; margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Lobos digitiformes, de extremidade arredondada. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,1-0,2 mm da base do sifão oral, próximo a este.

Musculatura: em ambos os lados do corpo formada por fibras transversais longas (deixam apenas a margem próxima ao endóstilo livre de musculatura), principalmente entre a 1ª e 5ª fileira de fendas (entre o início da faringe e o sifão atrial); posteriormente

ao sifão atrial, as fibras se tornam gradualmente mais curtas, mantendo-se perpendiculares à margem dorsal do corpo, seguindo esse padrão até a altura da 13ª fileira de fendas. Do lado esquerdo do corpo, a musculatura não recobre o tubo digestório. Fibras corporais com 0,011-0,024 mm de espessura. Em ambos os sifões a musculatura longitudinal não se encontra organizada em feixes e há uma grande quantidade de fibras circulares.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral completamente lisa. Presença de 21-38 tentáculos orais, de 3-4 tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,2-0,5 mm de comprimento, inseridos em um delicado anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,07-0,19 mm de distância do anel de tentáculos, medidos do lado direito do corpo (em geral a distância é similar dos dois lados, porém o esquerdo pode ser levemente mais amplo), relacionado proporcionalmente ao comprimento do zooide; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular ou em U sem pontas enroladas, com aproximadamente 0,02-0,03 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular levemente arredondada, quase reta. Lâmina dorsal única anteriormente e subdividida em linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe, sem lâmina basal unindo as linguetas. Lâmina dorsal acaba junto à abertura do esôfago. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,16-0,4 mm do lado direito e 0,1-0,2 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 12-14 vasos longitudinais completos ou incompletos em cada lado do corpo; 12-15 vasos transversais (13-16 fileiras de fendas); 1-2 fendas por malha (23-25 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,04-0,08 mm de altura; vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: localizado na região média e posterior, ocupa cerca de metade da área do lado esquerdo do corpo. Estômago oval ou arredondado, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestório, uma imediatamente após o estômago e outra na metade da porção ascendente do intestino. Intestino isodiamétrico, com alça primária e secundária fechadas; alça primária entre a 5ª-7ª fileira de fendas. Ânus de margem lisa, a 0,8-1,5 mm de distância do anel de tentáculos (6ª-9ª fileira de fenda), próximo ao sifão atrial.

Gônadas: testículo formado por cerca de 20 folículos alongados, dispostos em C. Testículo localizado no interior da alça intestinal primária, próximo ao estômago, recobrando ligeiramente a região proximal do intestino. Ovário, gonodutos e larvas não observados.

Distribuição Geográfica: Bermudas, EUA (Flórida), Bimini, Bahamas, Cuba, Jamaica, Belize, Panamá, Aruba, Bonaire, St. Croix, St. Kitts, Guadalupe, Martinica, Trinidad and Tobago, Brasil, Açores (Monniot C. 1983; Goodbody & Cole 2006; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: a amostra observada no geral coincide com as descrições encontradas na literatura para *E. minuta*. As principais variações encontradas na literatura são a presença de apenas oito lobos no sifão atrial, fibras musculares posteriores ao sifão atrial alcançando apenas até a metade da largura corporal, 20-30 tentáculos orais e ânus abrindo-se na altura da 9^a-11^a fileira de fendas (Monniot C. 1972; Goodbody & Cole 2006). Dessas, a diferença mais significativa em relação ao presente material é no comprimento das fibras musculares da parede do corpo, porém para o gênero *Ascidia* já foi constatado que isso pode variar intraespecificamente – o que talvez se aplique também para *Ecteinascidia*, sendo necessários mais estudos a respeito. Como as demais características se mantiveram de acordo com o descrito para a espécie (principalmente o aspecto da faringe e do testículo), optou-se por considerar as amostras estudadas como pertencentes a *E. minuta*.

A validade da espécie vem sendo contestada desde a década de 60, devido à grande similaridade entre *E. minuta* e *E. herdmani* (Lahille, 1890). De acordo com as descrições existentes na literatura, *E. herdmani* só pode ser diferenciada de *E. minuta* pela posição mais anterior da abertura anal e pelo maior número de lobos no sifão oral (doze). Médioni (1969), em uma revisão de *E. herdmani* com amostras provenientes da costa francesa atlântica e mediterrânea, propõe que as espécies podem ser sinônimas pois apresentam similaridade tanto na aparência externa quanto na da faringe (presença de cerca de 15 fileiras de fendas), porém ressalta a incompletude da descrição original da espécie caribenha. Monniot separa as espécies baseado na aparência do tubo digestório e identifica as amostras coletadas em Açores como *E. herdmani* (Monniot C. 1974). Entretanto, em seu trabalho posterior sobre as espécies de Guadalupe, cita parte dessas amostras açorianas como *E. minuta* (Monniot C. 1983). Goodbody & Cole

(2006) redescrevem *E. minuta* a partir de espécimes da Jamaica, Belize e Bermuda, e comentam que não foram capazes de encontrar o padrão de tubo digestório descrito por Monniot (1974). Ainda assim preferiram deixar as amostras do Atlântico Oeste sob o nome de *E. minuta*, ressaltando que são prováveis sinônimos mas que uma comparação mais cuidadosa ainda se faz necessária. O padrão de musculatura corporal de *E. minuta* descrito por Goodbody & Cole (2006) é bastante típico, não sendo encontrado em nenhuma outra espécie do gênero. Infelizmente não foi possível encontrar nenhuma referência ao padrão muscular de *E. herdmani*, porém, de acordo com observações próprias, a musculatura de *E. herdmani* é composta apenas por fibras longitudinais que partem do sifão oral e formam uma faixa contínua com as fibras curtas e perpendiculares à margem dorsal, diferindo completamente do padrão encontrado para *E. minuta*. As principais diferenças entre *E. herdmani* e *E. minuta* encontradas no presente estudo são as fibras musculares corporais mais curtas, maior número de vasos longitudinais na faringe (16-19) e as papilas primárias projetando-se no lúmen da faringe em *E. herdmani*, o que justificaria a existência real de duas espécies, uma para cada lado do Atlântico.

Ecteinascidia sluiteri Herdman, 1906

Material examinado: NHM 1907.8.30.2 – 1 colônia; Golfo de Mannar, Sri Lanka (08°47'N; 79°53'E); 1902; col. Herdman (TIPO)

Morfologia externa: colônia formada por zoóides em posição vertical, não muito próximos entre si, dispostos linearmente, unidos por estolão e fixados pela região posterior ventral do corpo. Ausência de pedúnculo de ligação do zooide ao estolão. Presença de fragmentos calcários e grãos de areia sobre o estolão. Maior zoóide com aproximadamente 7,0 mm de comprimento total. Túnica transparente e incolor após a fixação, de superfície lisa e consistência pergaminosa. Túnica tão fina que não foi possível medir sua espessura. Presença de grânulos de coloração marrom espalhados pela túnica (cor mantida mesmo após anos de preservação).

Animal sem túnica: corpo alongado, com 5,3 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,7 mm de largura. Sifão oral apical com 1,0 mm de comprimento; sifão atrial deslocado posteriormente a 1,6 mm de distância do sifão oral

(altura da 5ª fileira de fendas), com 0,8 mm de comprimento e sete lobos pequenos, digitiformes, estreitos e de margem lisa. Sifão oral muito contraído e não foi possível observar a abertura. Ocelos e gânglio nervoso não observados. Parede do corpo incolor, porém ambos os sifões, o endóstilo e as fibras musculares possuem coloração marrom escuro (após a fixação).

Musculatura: lado direito do corpo com fibras curtas perpendiculares à margem dorsal, posteriores ao sifão atrial, até a região da 14ª-15ª fileira de fendas. Na região mediana do corpo há também uma fileira de fibras horizontais curtas, mais ou menos paralelas entre si, entre a 3ª e a 16ª-17ª fileira de fendas. Fibras musculares espessas, com 0,045 mm de espessura. Lado esquerdo do corpo com padrão semelhante, porém a musculatura não se sobrepõe ao tubo digestivo. Musculatura longitudinal dos sifões formada por fibras curtas não organizadas em feixes, que não se estendem pela parede do corpo (região anterior do corpo livre de musculatura). Presença de grande quantidade de fibras musculares circulares no sifão atrial (no oral não foi possível observar devido à forte pigmentação do sifão).

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral, inserção dos tentáculos orais, área entre o anel de tentáculos e anel ciliado, área peritubercular, tubérculo dorsal, lâmina dorsal, vasos longitudinais e papilas da faringe não observados. Presença de aproximadamente 20 tentáculos orais, de dois tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,3-0,4 mm de comprimento. Anel ciliado duplo, de margens lisas, sendo a lâmina posterior mais ampla que a anterior, a 0,47 mm de distância do anel de tentáculos (distância similar em ambos os lados do corpo). Faringe lisa, com aproximadamente 17 vasos transversais (18 fileiras de fendas) e cerca de 38 fendas por meia fileira, sem vasos parastigmáticos. Faringe não se prolonga após o estômago. Margem do endóstilo não observada.

Tubo digestório: pequeno, ocupa a região posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago alongado, com aproximadamente quatro pregas internas. Intestino isodiamétrico; alça primária fechada, localizada na altura entre a 14ª e a 15ª fileira de fendas; alça secundária aberta. Presença de uma forte constrição no intestino logo após o estômago e outra no final da região ascendente do intestino. Reto longo, em posição vertical. Ânus a 2,5 mm de distância do anel de tentáculos (11ª-12ª fileira de fendas); não foi possível observar como é a abertura anal.

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária, porém não foi possível distinguir nenhum caracter especificamente.

Distribuição Geográfica: Moçambique, Aden, Ilhas Reunião, Sri Lanka, Singapura, Palau, Austrália, Ponape, Majuro, Nova Caledônia (Tokioa 1950; Millar 1975; Nishikawa 1984; Kott 1985; Monniot C. 1992, 1994, 1997).

Comentários: a colônia possuía apenas dois zooides e só um estava relaxado o suficiente para poder ser analisado. Além disso, por ser material-tipo, não recebi autorização do museu para dissecar o zooide. Dessa forma apenas o que pode ser visto por transparência é que foi analisado. O padrão de musculatura corporal da espécie é único para o gênero, sendo a principal característica diagnóstica. De acordo com a literatura a espécie possui coloração amarelada ou alaranjada em vida, 6-9 lobos digitiformes e estreitos em cada sifão, abertura do tubérculo dorsal em fenda circular, até 50 tentáculos orais, lâmina dorsal com linguetas, 20-23 vasos longitudinais de cada lado, 14-22 fileiras de fendas, 45-50 fendas por fileira e estômago com aproximadamente cinco pregas (Tokioa 1950; Kott 1985). A principal diferença com a descrição original consiste no número de tentáculos orais, que Herdman descreve originalmente em número de 20, porém Tokioa propõe que essa diferença deva-se ao fato de que somente os maiores tentáculos teriam sido contados (Tokioa 1950). Como o zooide aqui analisado não pode ser aberto e corado é possível que realmente os tentáculos mais discretos não fossem suficientemente conspícuos por transparência e tenham sido excluídos involuntariamente.

Monniot C. (1992) não considera o material da Austrália (descrito por Kott 1985) como sendo *E. sluiteri* devido à curvatura do intestino pouco acentuada, presença de 22 fileiras de fendas e folículos testiculares bem agrupados, reclassificando-o como *Ecteinascidia vitta* Monniot, 1992. Entretanto, como *E. vitta* possui até 15,0 mm de comprimento total, cerca de 100 tentáculos orais (Monniot C. 1992) e como o aspecto do tubo digestivo apresentado por Kott (1985) me parece bastante similar com o observado no material tipo, acredito que houve um engano e que os espécimes australianos são realmente de *Ecteinascidia sluiteri*.

Ecteinascidia cf. styeloides

Devido a dúvidas em relação ao material examinado, as amostras foram separadas em dois morfotipos e por isso serão apresentadas as duas descrições. A discussão sobre ambas será feita apenas ao final da segunda.

Morfotipo A

Material examinado: MNHN P2 169 – lâmina permanente, 1 zooide; Porto Rico (17°56'N; 66°33'W); col. Tollard. MNHN P2 170 – lâmina permanente, faringe; col. Tollard

MNHN P2 172 – lâmina permanente, 1 zooide; Saint François, Guadalupe (16°14'50"N; 61°17'00"W)

DZUP ECT 09 – 2 colônias; Baía Honda, Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°18'22"N; 82°10'28"W); 23.VIII.2006; col. R.M. Rocha

157 – 1 colônia; Garden Point; Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°19'30"N; 82°13'11"W); 20.VIII.2006; col. R.M. Rocha

TL 36 – 1 colônia; Praia da Cpongá, Cascavel, CE, Brasil (04°02'32"S; 38°11'21"W); 13.IX.2011. TL 37 – 1 colônia; 13.IX.2011.

Morfologia externa: colônias pequenas, de coloração amarelada quando vivas, com zoóides em posição vertical, próximos entre si. Zoóides unidos por estolão e fixados por um pedúnculo curto e largo, na região posterior ventral do corpo ao substrato. Pode apresentar sedimentos finos, areia, algas e hidrozoários sobre os zoóides. Maior zoóide com aproximadamente 11,0 mm de comprimento total. Túnica translúcida e incolor após a fixação, de consistência pergaminosa (espessura não mensurável). Geralmente com superfície lisa, porém pode apresentar algumas projeções digitiformes ou cônicas, pequenas, na lateral ou na região posterior do corpo.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,0-7,8 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo (mais comumente entre 5,0-7,8 cm, ainda que zoóides menores também estivessem sexualmente maduros), e 2,0-4,0 mm de largura. Sifão oral apical com 0,4-2,7 mm de comprimento e 8-12 lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,6-3,0 mm de distância do sifão oral (entre a 4ª e a 6ª fileira de fendas), com 0,3-1,4 mm de comprimento e 5-8 lobos; lobos triangulares, bem marcados e de margem lisa em ambos os sifões. Ocelos não observados. Sifões podem

apresentar coloração amarela. Gânglio nervoso localizado a 0,25-1,0 mm da base do sifão oral, mais próximo deste do que do sifão atrial.

Musculatura: musculatura de ambos os lados do corpo formada por fibras longas perpendiculares à margem dorsal, que se prolongam quase até a margem ventral do corpo, desde a 2^a-3^a fileira de fendas (anterior ao sifão atrial) até a 10^a-13^a. No lado esquerdo do corpo a musculatura não se sobrepõe ao tubo digestório, com exceção do reto. Fibras musculares com 0,015-0,024 mm de espessura. Musculatura longitudinal dos sifões formada por fibras curtas não organizadas em feixes, que não se estendem pela parede do corpo (região anterior do corpo completamente livre de musculatura, entre a base do sifão oral e o início da musculatura corporal). Presença de grande quantidade de fibras musculares horizontais nos sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral em geral lisa (apenas a amostra TL 37 possui uma membrana próximo à abertura sifonal). Presença de 26-55 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,5-1,0 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos diretamente na parede do corpo ou em um delicado anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,09-0,45 mm de distância do anel de tentáculos (similar dos dois lados, sem relação com o comprimento do zooide); ausência de papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular ou horizontal, com 0,03-0,06 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular pequena, quase reta. Lâmina dorsal subdividida em linguetas formadas pelos prolongamentos dos vasos transversais e unidas por uma lâmina basal de espessura variável. Lâmina dorsal dupla e lisa nos primeiros 0,3-0,5 mm; extremidade posterior não ultrapassa a abertura esofágica. Ausência de papilas no entorno ou de projeções à direita da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,6 mm do lado direito da faringe e 0,14-0,3 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 12-17 vasos longitudinais de cada lado; 12-15 vasos transversais (13-16 fileiras de fendas); 2-4 fendas longitudinais por malha (32-56 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,05-0,21 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: volumoso, ocupa a região média e posterior do lado esquerdo do corpo (aproximadamente metade da área da parede). Estômago ovalado, com 2-4 pregas

internas; intestino isodiamétrico, com alça primária fechada entre a 7^o-10^o fileira de fendas; alça secundária fechada, porém mais ampla que a primária; presença de duas fortes constrições no intestino, uma no início da região ascendente e outra no final da mesma. Ânus de margem lisa ou bilobada a 0,7-4,2 mm de distância do anel de tentáculos (5^a-8^a fileira de fendas).

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária. Ovário formado por 5-24 ovócitos agrupados na região central da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,4 mm de diâmetro. Testículo com até 25 grandes folículos alongados recobrimdo o estômago e região ascendente do intestino. Abertura do espermiduto posterior ao ânus (entre 9^a e 11^a fileira de fendas); oviduto não observado. Larvas arredondadas, incubadas na cavidade atrial.

Morfotipo B

Material examinado: MNHN P2 174 – lâmina permanente, 1 zooide; Saint François, Guadalupe (16°14'50"N; 61°17'00"W)

MNHN P2 ECT 27 – 1 colônia; Guadalupe (16°10'50"N; 61°32'18"W); 1980

TL 271 – 1 colônia; Praia de Panaquatira, São José do Ribamar, MA, Brasil (02°30'01"S; 44°01'38"W); entremarés; 10.VIII.2011; col. R.R. Oliveira-Filho & S.V. Paiva

165 – 1 colônia; Porto de Pecém, Fortaleza, CE, Brasil (03°30'00"S; 39°50'00"W); 4.0-6.0 m, em placas de polietileno; 01.XI.2011; col.: A.B. Paiva. CE-19 – 1 colônia; 4.0-6.0 m, em placas de polietileno; 18.II.2011; col. A.B. Paiva. CE-118 – 1 colônia; 4.0-6.0 m, em placas de polietileno; 11.V.2011; col. A.B. Paiva

Morfologia externa: colônias pequenas, de coloração esverdeada, com zoóides em posição vertical, um pouco afastados entre si. Presença de um pedúnculo curto, na região posterior ventral do corpo, que liga os zoóides ao substrato. Pode apresentar sedimentos finos, areia, hidrozoários e fragmentos calcários sobre zoóides e estolão. Maior zoóide com aproximadamente 11,5 mm de comprimento total. Aspecto após fixação similar ao Morfotipo A, porém sempre com a superfície da túnica lisa.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 4,3-7,0 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo (normalmente a partir de 6,0 mm, ainda que

zooides menores estivessem também com gônadas desenvolvidas), e 2,1-4,0 mm de largura. Sifão oral apical com 0,8-3,1 mm de comprimento e 8-10 lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,9-2,1 mm de distância do sifão oral (entre a 4ª e a 6ª fileira de fendas), com 0,4-1,3 mm de comprimento e 5-11 lobos; lobos triangulares e de margem lisa em ambos os sifões. Ocelos de coloração laranja podem ser encontrados entre os lobos. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,2-0,4 mm da base do mesmo.

Musculatura: padrão similar ao do Morfotipo A, tanto da musculatura corporal quanto dos sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral com uma membrana próximo à abertura. Presença de 33-69 tentáculos orais (mais comumente a partir de 60 tentáculos), de 3-4 tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,5-0,9 mm de comprimento; tentáculos orais inseridos diretamente na parede do corpo ou em um discreto anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,12-0,4 mm de distância do anel de tentáculos (similar dos dois lados), não relacionada ao comprimento do zooide; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular ou horizontal, com 0,02-0,05 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular pequena, quase reta. Lâmina dorsal subdividida em linguetas formadas pelos prolongamentos dos vasos transversais e unidas por uma lâmina basal de espessura variável. Lâmina dorsal dupla e lisa nos primeiros 0,27-0,5 mm; extremidade posterior não ultrapassa a abertura esofágica. Ausência de papilas no entorno ou de projeções à direita da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,54 mm do lado direito da faringe e 0,2-0,57 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 10-18 vasos longitudinais de cada lado; 12-15 vasos transversais (13-16 fileiras de fendas); 2-4 fendas longitudinais por malha (29-44 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,07-0,15 mm de altura, sem vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: volumoso, ocupa metade ou mais da área da parede do lado esquerdo, na região média e posterior do corpo. Estômago ovalado, com 3-4 pregas internas. Intestino como o do Morfotipo A, com alça primária entre a 7ª-8ª fileira de fendas. Ânus de margem geralmente bilobada (apenas em um zooide era lisa), a 1,3-3,5 mm de distância do anel de tentáculos (5ª-8ª fileira de fendas).

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária. Ovário formado por 4-13 ovócitos, com até 0,4 mm de diâmetro; gônada feminina entre a região distal do estômago e a alça intestinal secundária. Testículo com até 42 longos folículos periformes, distribuídos sobre parte do estômago, região ascendente e descendente do intestino, circundando o ovário. Abertura do espermiduto posterior ao ânus (entre 7ª e 9ª fileira de fendas); oviduto não observado.

Distribuição Geográfica de *E. styeloides*: Flórida, Cuba, Jamaica, Porto Rico, St. Thomas, St. Croix, St. Martin, Guadalupe, Belize, Panamá (Atlântico), Curaçao, Bonaire, Venezuela, Brasil (CE), Córsega, Moçambique, Índia, Palau (Monniot F. & Monniot C. 1996; Monniot C. 1997; Goodbody & Cole 2006; Izquierdo-Muñoz *et al.* 2009; Meenakshi 2009; Rocha *et al.* 2010; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: a musculatura corporal, o número de vasos longitudinais de cada lado da faringe, o número de fileiras de fendas e a aparência do tubo digestório estão de acordo com ambas as descrições de Monniot C. (1983) e Goodbody & Cole (2006). Goodbody & Cole (2006) citam a presença de 20-25 tentáculos orais, porém a espécie apresenta 60-70 tentáculos, de acordo com a descrição original (Traustedt 1882), o que é corroborado por Monniot C. para colônias coletadas em Guadalupe (Monniot C. 1983). Essa variação pode ser decorrente do menor tamanho dos zoóides analisados por Goodbody & Cole (8-10 mm) em relação aos descritos por Monniot C. (até 15 mm). Como o número de tentáculos orais costuma apresentar certa plasticidade interespecífica, não pode ser considerado isoladamente como justificativa para separação de espécies.

Entretanto, há outra discrepância que pode ser observada nas descrições de *E. styeloides* relacionada ao aspecto do testículo. O formato da gônada masculina é um importante carácter para a identificação da espécie e infelizmente a descrição original não relata nada sobre esse aspecto (Traustedt 1882). A partir de amostras coletadas em Guadalupe, Monniot retrata os folículos testiculares recobrindo parte do estômago e a porção ascendente do intestino, até a alça primária (Monniot C. 1983), como os espécimes aqui descritos como Morfotipo A. Já para Goodbody & Cole (2006) esse padrão testicular é encontrado em *E. minuta*, sendo que *E. styeloides* teria a gônada masculina recobrindo estômago, região ascendente e descendente do intestino, semelhante ao encontrado nos espécimes do Morfotipo B. Outra diferença que poderia

ser apontada entre os dois grupos dissecados neste trabalho é a parede interna do sifão oral lisa no primeiro, enquanto que no segundo há uma membrana próxima à abertura do sifão. No entanto, TL 37 apresenta o testículo comum ao grupo I e o sifão oral como os do grupo II – por ora preferiu-se incluir essa amostra entre os Morfotipo A por considerar que a estrutura gonadal é mais significativa para a taxonomia de ascídias em geral.

Assim sendo, optou-se por separar por enquanto as amostras em morfotipos A e B, sendo necessária uma revisão do holótipo e estudos genéticos para a separação ou não em espécies diferentes. Se forem realmente espécies distintas, resta ainda definir qual delas realmente corresponde a *E. styeloides* e qual seria a espécie nova ou se ambas são espécies novas.

Ecteinascidia thurstoni Herdman, 1890

Material examinado: NHM 1956.10.17.5 – 1 colônia; Okha, Gujarat, Índia (22°28'04"N; 69°04'45"E); 07.VI.1956; col. Gideon

Morfologia externa: zooides eretos, agrupados, com um pedúnculo curto e espesso na região posterior do corpo que une os zooides ao estolão. Presença de hidroides tanto sobre o estolão quanto sobre os próprios zooides. Maior indivíduo com aproximadamente 11,0 mm de comprimento total. Túnica transparente e incolor após a fixação, de superfície lisa e consistência pergaminosa; não foi possível medir a espessura da túnica de tão fina.

Animal sem túnica: corpo alongado, com até 5,3 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 2,5 mm de largura. Sifão oral apical com 0,5 mm de comprimento e seis lobos; sifão atrial quase apical, a 0,7 mm de distância da base do sifão oral (2ª fileira de fendas da faringe), com 0,4 mm de comprimento e cinco lobos; lobos triangulares, longos e de margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,25 mm da base do sifão oral, quase na metade da distância entre os sifões.

Musculatura: lado direito com fibras longas perpendiculares à margem dorsal, que se prolongam por $\frac{3}{4}$ da largura corporal (região ventral livre de musculatura), desde a

altura da terceira fileira de fendas até a 11ª fileira. Presença de 4-5 fibras saindo da região intersifonal. No lado esquerdo do corpo, padrão muscular similar, porém só há fibras até a altura da 9ª fileira de fendas (próximo à alça intestinal primária), não se sobrepondo ao tubo digestivo com exceção do reto. Fibras musculares com 0,02 mm de espessura. Musculatura longitudinal dos sífões formada por fibras curtas não organizadas em feixes, que não se estendem pela parede do corpo. Fibras musculares circulares em grande quantidade em ambos os sífões.

Região anterior e faringe: parede interna do sífão oral sem papilas, mas com uma membrana logo após a abertura do sífão. Presença de aproximadamente 79 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores medindo 1,2 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,3 mm de distância do anel de tentáculos (lado direito do corpo), sem papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em fenda horizontal, com 0,16 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular pequena, quase reta. Lâmina dorsal formada por longas linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais, unidas na base por uma estreita lâmina. Lâmina dorsal termina antes da abertura esofágica. Ausência de papilas no entorno ou de projeções à direita da entrada do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,7 mm do lado direito e 0,3 mm no esquerdo. Faringe lisa, com 15-17 vasos longitudinais de cada lado; 16 vasos transversais (17 fileiras de fendas); 2-3 fendas longitudinais por malha (aproximadamente 65 fendas por meia fileira – próximo ao endóstilo e à lâmina dorsal há mais fendas); papilas primárias simples com 0,17 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: volumoso, ocupa cerca de metade da área da parede do lado esquerdo do corpo, na região média e posterior. Estômago ovalado; parede do estômago pouco nítida. Intestino isodiamétrico, com alça intestinal primária aberta, entre a 9ª e a 10ª fileira de fendas; alça secundária aberta, formando aproximadamente um ângulo de 90°. Presença de duas constrições no intestino, uma na metade e outra no final da região ascendente. Reto longo, em posição vertical. Ânus de margem bilobada a 1,0 mm de distância do anel de tentáculos (4ª fileiras de fendas).

Gônadas: não observadas (indivíduos imaturos).

Distribuição Geográfica: África do Sul, Moçambique, Djibouti, Egito (Mar Vermelho), Canal de Suez, Bahrein, Índia, Sri Lanka (Monniot C. 1997; Monniot C. & Monniot F. 1997; Gab-Alla 2008; presente estudo).

Comentários: *E. thurstoni* é encontrada principalmente na região do oceano Índico, com apenas um registro na Austrália feito por Kott (1985). No entanto, esse espécime é descrito sem a musculatura entre os sifões e sem o pós-estômago formado pelas constrições no intestino (Kott 1985) e por isso não deve ser considerada como *E. thurstoni* (Monniot C. & Monniot F. 1997). O material analisado encontrava-se imaturo, porém condizia com as descrições existentes. *Ecteinascidia thurstoni* é caracterizada por seus zooides incolores com um anel laranja ao redor de cada sifão em vida (tubo digestivo e gônadas igualmente pigmentados), sifão atrial próximo ao oral, musculatura corporal como a descrita acima, estômago com pregas helicoidais, ânus em posição anterior, e gônadas formadas por pequenos e numerosos folículos testiculares em anéis concêntricos ao redor do ovário (Monniot C. 1997; Monniot C. & Monniot F. 1997). A única diferença encontrada é com relação ao número de tentáculos orais: Monniot C. & Monniot F. (1997) citam cerca de 30 enquanto que no espécime analisado foram encontrados quase 80. Apesar da grande diferença, por ser o único carácter discordante e ser normalmente algo variável intraespecificamente, não foi considerado suficiente para pôr em dúvida a identidade do material.

Ecteinascidia turbinata Herdman, 1880

Material examinado: NHM 1887.2.4.188-200 – 1 colônia; Bermudas (32°18'N; 64°46'W); águas rasas; Challenger Collection (TIPO)

DZUP ECT 10 – 1 colônia; Marina Hemingway, La Havana, Cuba (23°05'N; 82°29'W); 07.VII.2010; col. R.M. Rocha

DZUP ECT 11 – 1 colônia; Sachen, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°21'11"N; 82°12'50"W); 14.VI.2009; col. R.M. Rocha

UF 1379 – 1 colônia; Ilhote de L'Embouchure, Saint Martin, Antilhas Francesas (18°04'01"N; 63°00'43"W); 0.0-1.0 m, em recifes; 17.IV.2012; col. G. Paulay, J. Slapcinsky, Arthur

Morfologia externa: colônias grandes; zooides fortemente agrupados em posição vertical (como em um “buquê”), com um curto e espesso pedúnculo na região posterior do corpo, unindo os zooides ao estolão. Presença de um anel laranja ao redor de cada sifão. Um pouco de sedimento fino e pequenos fragmentos calcários podem ser encontrados sobre os zooides. Zooide com até 20,0 mm de comprimento total. Túnica translúcida e incolor após a fixação, de superfície lisa e consistência pergaminosa, com 0,01-0,07 mm de espessura, sem projeções.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 5,9-14,25 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo (em geral a partir de 11,0 cm; zooides com aproximadamente 7,0 cm costumavam estar imaturos), e 2,2-5,5 mm de largura. Sifões apicais; oral com 0,6-2,8 mm de comprimento e atrial com 0,7-3,5 mm de comprimento. Presença de 5-6 lobos quase indistintos, de margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,07-0,6 mm da base do sifão oral, bem próximo a este.

Musculatura: musculatura de ambos os lados do corpo formada por fibras longas perpendiculares à margem dorsal, que se prolongam até pouco mais da metade do corpo ($\frac{1}{3}$ ventral livre de musculatura), desde a região da segunda ou terceira fileira de fendas até a 11^a-18^a fileira. No lado esquerdo do corpo, musculatura não se sobrepõe ao tubo digestório, com exceção do reto. Fibras musculares com 0,014-0,07 mm de espessura. Musculatura longitudinal dos sifões formada por fibras curtas não organizadas em feixes, que não se estendem pela parede do corpo. Fibras musculares circulares em densidade variável nos sifões; as fibras circulares do sifão atrial se estendem pelo corpo até se encontrarem com as corporais.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa, mas com uma estreita membrana logo após a abertura do sifão. Presença de 39-73 tentáculos orais (em geral acima de 50), de três ou quatro tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,8-1,5 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um estreito anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,2-0,7 mm de distância do anel de tentáculos, com distância similar em ambos os lados do corpo, sendo que quanto maior o zooide maior a distância; ausência de papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular ou horizontal, com 0,06-0,18 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular pequena, quase reta. Lâmina dorsal formada por longos prolongamentos dos vasos transversais, podendo apresentar uma lâmina na base, unindo-os. Lâmina

dorsal lisa e dupla na região anterior (0,2-0,4 mm); na extremidade posterior não ultrapassa a abertura esofágica. Ausência de papilas próximo no entorno ou de projeções à direita da abertura esofágica. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,7 mm em cada lado. Faringe lisa, com 16-27 vasos longitudinais de cada lado; 19-29 vasos transversais (20-30 fileiras de fendas); 2-4 fendas longitudinais por malha (45-88 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,06-0,26 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: pequeno, ocupa a região posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago ovalado, com 2-4 pregas externas helicoidais. Intestino isodiamétrico, com alça intestinal primária aberta, entre a 14^a-26^a fileiras de fendas; ausência de alça secundária, apenas uma suave curvatura em direção à região anterior do corpo. Presença de uma leve constrição no intestino, na região da alça primária. Reto longo; ânus de margem bilobada a 0,8-5,7 mm de distância do anel de tentáculos (entre 6^a-13^a fileiras de fendas).

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária. Ovário formado por 5-14 ovócitos agrupados na região central da alça intestinal primária; ovócitos com até 0,24 mm de diâmetro. Testículo formado por numerosos (cerca de 50) folículos piriformes pequenos, dispostos no interior da alça intestinal, formando um C ao redor da gônada feminina. Abertura do espermiduto pouco posterior ao ânus; oviduto não observado. Até 11 larvas de coloração alaranjada, em diferentes estágios de maturação, incubadas na cavidade atrial; maior larva com 0,88 mm de comprimento ântero-posterior, três papilas adesivas em posição linear e cauda completando $\frac{3}{4}$ de volta.

Distribuição Geográfica: México, Bermudas, EUA (Flórida), Bahamas, Jamaica, Cuba, Porto Rico, Guadalupe, St. Martin, St. Croix, St. Thomas, St. Vicent, Belize, Panamá, Bonaire, Aruba, Curaçao, Guiana, Suriname, Brasil (Amapá, Pará, Maranhão), Espanha, Grécia, Malta, Tunísia, Egito, Cabo Verde, Senegal, Serra Leoa (Pérès 1954; Monniot C. 1983; Goodbody & Cole 2006; Koutsogiannopoulos *et al.* 2012; Rocha *et al.* 2012; Maciver *et al.* 2016).

Comentários: as amostras dissecadas coincidem com a descrição de Goodbody & Cole (2006). As principais diferenças encontradas são o número de folículos testiculares (aproximadamente 100) e o comprimento da larva (até 1,2 mm) (Goodbody & Cole

2006). O testículo pode ser menor devido à própria maturidade dos zooides, que talvez ainda não estivessem em seu auge do período reprodutivo. O mesmo se aplica às larvas, que não se encontravam plenamente desenvolvidas.

López-Legentil & Turón (2007) citam a presença de dois morfotipos de *E. turbinata*, um incolor com um anel laranja ao redor de cada sifão comum no oceano Atlântico (Flórida e Espanha) e no Mar Mediterrâneo, e outro totalmente laranja coletado somente na região do Caribe. Apesar das diferenças de coloração, nenhuma outra diferença morfológica foi encontrada, assim como tampouco foram encontradas diferenças no gene mitocondrial COI, sendo portanto consideradas a mesma espécie. Mais recentemente, Maciver *et al.* (2016) confirmaram o status de *E. moorei* Herdman, 1891 como sinonímia junior de *E. turbinata*. Dessa forma, a espécie foi classificada como criptogênica, com distribuição disjunta em ambos os lados do Atlântico.

Ecteinascidia sp. nov. 1

Material examinado: 0112 – 1 colônia; Praia do Náutico, Fortaleza, CE, Brasil (03°43'45"S; 38°27'46"W); entremarés, em "beach rock"; 26.I.2012; col. C.L.B. Holanda. 01 – 1 colônia; entremarés; 24.XI.2011; col. R.R. Oliveira-Filho

DZUP ECT 15 – 1 colônia; Praia de Coqueirinho, Conde, PB, Brasil (07°19'14"S; 34°47'40"W); entremarés, sob rochas; 27.III.2013; col. L.M. Oliveira

UFPB TUN 200 – 1 colônia; Praia de Tabatinga, Conde, PB, Brasil (07°16'19"S; 34°48'07"W); 10.II.2009; Projeto Biota Paraíba

DZUP ECT 16 – 1 colônia; Ponta de Cabo Branco, João Pessoa, PB, Brasil (07°08'50"S; 34°47'51"W); entremarés, sob rochas; 28.III.2013; col. L.M. Oliveira

DZUP ECT 12 – 1 colônia; Marina Bonfim, Salvador, BA, Brasil (12°55'13"S; 38°30'30"W); 08.XII.2011; col. R.M. Rocha

DZUP ECT 13 – 1 colônia; Marina Itaparica, Salvador, BA, Brasil (12°53'21"S; 38°41'03"W); 02.III.2012; col. I.M. Neves

Morfologia externa: colônia fixada ao substrato pela região do estolão. Zooides em geral sem incrustações, mas podem estar recobertos por sedimento fino, bem como o

estolão; em duas colônias o estolão estava completamente recoberto por areia. Túnica incolor e transparente em vida, apenas com um anel de coloração laranja ao redor de cada sifão. A coloração permanece por até 16 meses em formaldeído, mas tende a desaparecer com o tempo. Zooides em posição vertical em relação ao substrato, agrupados próximos uns aos outros, unidos ao estolão por um pedúnculo longo e fino. Maiores indivíduos com até 12,5 mm de comprimento total. Túnica de superfície lisa e consistência pergaminosa, com 0,01-0,02 mm de espessura ou menos.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 5,2-8,9 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo (normalmente zooides a partir de 7,0 mm, apenas os espécimes provenientes da Paraíba tinham tamanho entre 5,2-6,1 mm), e 2,7-5,1 mm de largura. Sifões apicais; oral com 0,6-1,8 mm de comprimento e 5-7 lobos; atrial com 0,3-1,6 mm de comprimento e 5-6 lobos; lobos de ambos os sifões arredondados e de margem lisa. Ocelos não observados, porém a abertura de ambos os sifões possui forte coloração laranja (após até 16 meses em formol). Gânglio nervoso aproximadamente na metade da distância entre os sifões, a 0,2-0,7 mm da base do sifão oral.

Musculatura: em ambos os lados do corpo musculatura formada por fibras perpendiculares à margem dorsal, que se prolongam por até $\frac{3}{4}$ da largura corporal. Tais fibras se localizam desde a 2ª ou 3ª fileira de fendas até a região da 9ª-12ª fileiras de fendas da faringe, tendo aproximadamente 0,02-0,04 mm de espessura. Do lado esquerdo do corpo a musculatura não recobre o tubo digestório, com exceção do reto. Não há fibras entre os sifões. Musculatura longitudinal dos sifões formada por fibras curtas não organizadas em feixes que não se prolongam pela parede do corpo. Musculatura circular dos sifões não muito densa; as fibras mais basais do sifão atrial se encontram com as fibras mais anteriores da musculatura corporal.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa, mas com uma espessa membrana logo após a abertura do sifão (nos animais mais frescos, é possível observar que tal membrana localiza-se onde termina a coloração laranja do sifão). Presença de 43-103 tentáculos orais, de 3-4 tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,6-1,7 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,2-0,45 mm de distância do anel de tentáculos (em geral a 0,3-0,35 mm, com distância similar dos dois lados); região entre anéis lisa, mas às vezes

pequenas pontuações podem ser observadas após a coloração, que não correspondem a papilas. Abertura do tubérculo dorsal em fenda vertical ou horizontal, com 0,06-0,13 mm de diâmetro ântero-posterior, nem sempre visível. Área peritubercular quase reta. Lâmina dorsal formada por uma lâmina basal (às vezes ausente) com longas linguetas originadas pelo prolongamento dos vasos transversais; lâmina única anteriormente, terminando antes da abertura esofágica. Ausência de papilas no entorno ou de projeções à direita da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,8 mm do lado direito e 0,3-0,5 mm do lado esquerdo. Faringe com 15-21 vasos longitudinais no lado direito e 14-20 vasos no esquerdo; 12-17 vasos transversais (13-18 fileiras de fendas); 2-4 fendas por malha (39-52 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,05-0,15 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: não muito volumoso, localiza-se na região posterior do lado esquerdo do corpo; apenas o intestino se prolonga em direção à abertura atrial. Estômago alongado, com 3-5 pregas helicoidais. Intestino isodiamétrico, com alça primária e secundária abertas; alça primária na região da 8^a-12^a fileira de fendas; presença de uma constrição na metade da alça primária (nem sempre é conspícua). Ânus de margem lisa ou bilobada, entre a 3^a-8^a fileira de fenda (a 0,9-2,5 mm de distância dos tentáculos orais).

Gônadas: completamente inseridas na alça intestinal primária, visíveis tanto pela face externa quanto interna do corpo. Ovário formado por 5-12 ovócitos agrupados e rodeados por numerosos folículos testiculares arredondados. Ovócitos com até 0,2 mm de diâmetro. Espermiduto prolonga-se até a altura do ânus; oviduto não observado. Até quatro larvas (0,44-0,6 mm de diâmetro) foram encontradas em início de desenvolvimento sendo incubadas na cavidade atrial.

Distribuição Geográfica: Brasil (CE, PB, BA).

Comentários: apesar de claramente constituírem uma única espécie, é interessante notar a existência de um gradiente entre os espécimes observados. Todos eles possuem os zooides incolores com um anel laranja ao redor dos sifões em vida, aproximadamente 10,0 mm de comprimento total, sifões apicais, mesmo padrão de musculatura corporal, aparência do tubo digestório, e testículo formado por numerosos folículos, inseridos na

alça intestinal primária e disposto em C ao redor do ovário. No entanto, os espécimes do Ceará possuem maior número de tentáculos orais (71-103) e de vasos longitudinais na faringe (16-21), e menor número de fileiras de fendas (14-16) que nos espécimes da Bahia (43-60 tentáculos orais, 14-17 vasos longitudinais de cada lado e 16-18 fileiras de fendas). Os espécimes da Paraíba possuem um fenótipo intermediário a estes, podendo ser um indício de gradiente ao longo da costa brasileira.

Ecteinascidia turbinata, espécie comum nas águas tropicais do Atlântico oeste, também pode apresentar o mesmo aspecto em vida (corpo incolor com anel laranja ao redor dos sifões), musculatura corporal desde a 2ª até a 16ª fileira de fendas, 30-73 tentáculos orais, estômago com 3-4 pregas em espiral e ovário circundado por numerosos folículos testiculares dispostos em C, no interior da alça intestinal primária (Van Name 1945; Goodbody & Cole 2006; obs. pess.). As diferenças com *Ecteinascidia* sp. nov. 1 residem no maior comprimento do zooide em *E. turbinata* (até 20 mm), além da musculatura corporal, que deixa quase metade da largura do corpo livre de fibras, faringe com 20-35 fileiras de fendas, 45-88 fendas por fileira no lado direito, alça intestinal secundária ausente e abertura anal entre a 6ª e a 13ª fileira de fendas (Van Name 1945; Goodbody & Cole 2006; obs. pess.). Além das diferenças morfológicas, análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana utilizando o gene COI demonstram que *E. turbinata* e *Ecteinascidia* sp. nov. 1 correspondem a diferentes espécies, proximamente relacionadas (ver Capítulo I desta mesma tese).

Com o mesmo aspecto em vida que *Ecteinascidia* sp. nov. 1 e com zooides com fibras musculares corporais perpendiculares à margem dorsal na região posterior ao sifão atrial, outras três espécies são conhecidas no mundo: *E. thurstoni* Herdman, 1890, *E. diaphanis* Sluiter, 1885 e *E. venui* Meenakshi 2000. *Ecteinascidia thurstoni* assemelha-se também a *Ecteinascidia* sp. nov. 1 devido ao tamanho do zooide (até 12 mm), presença de 30 a 80 tentáculos orais, 15-17 vasos longitudinais de cada lado da faringe, 15-18 fileiras de fendas e pelo padrão gonadal (Monniot C. 1997; Monniot C. & Monniot F. 1997; obs. pess.). Entretanto a musculatura corporal difere do material analisado por possuir, além do padrão já citado, algumas fibras que se iniciam entre os sifões e curvam-se até tornarem-se paralelas às demais presentes na parede do corpo (Monniot C. 1997; Monniot C. & Monniot F. 1997; obs. pess.), o que diferencia as espécies. Já *E. diaphanis* apresenta em comum com *Ecteinascidia* sp. nov. 1 o número de vasos longitudinais em cada lado da faringe (20-22), de fendas por fileira no lado

direito (45-50) e de fileiras de fendas (13-20) (Tokioka 1950; Kott 1985; Monniot C. 1991); porém a presença de pontuações brancas na parede do corpo, menor número de tentáculo orais (20-32) e cinco pregas helicoidais (Tokioka 1950; Monniot C. 1991) a distingue da espécie brasileira. *Ecteinascidia venui* por sua vez possui 60-70 tentáculos orais, 18 fileiras de fendas e cerca de 40 fendas por fileira no lado direito da faringe (Meenakshi 2000). Os caracteres que a diferenciam de *Ecteinascidia* sp. nov. 1 são o maior comprimento dos zooides (até 20 mm) e faringe com 14 vasos longitudinais de cada lado (Meenakshi 2000).

Apesar de diferir no aspecto em vida por sua forte coloração arroxeadada na região anterior, *E. hedwigiae* Michaelsen, 1918 internamente se assemelha bastante a *Ecteinascidia* sp. nov. 1 por seus zooides com até 8,0 mm de comprimento, sifão atrial apical, mesmo padrão de musculatura corporal, 18 vasos longitudinais de cada lado da faringe e 15 fileiras de fendas, diferindo de *Ecteinascidia* sp. nov. 1 apenas pela coloração em vida e a presença incrustações na túnica (fragmentos calcários, briozoários e esponjas na região do estolão) (Michaelsen 1918). Michaelsen (1918) descreve 4-5 pregas longitudinais na parede estomacal, porém as credita a uma contração post-mortem. As pregas observadas nos espécimes dissecados eram claras formações naturais do estômago, em espirais bem desenhadas, não sendo possível que todos os zooides de várias colônias apresentassem o mesmo padrão somente por contração post-mortem. Seria necessário analisar o tipo de *E. hedwigiae* para confirmar a natureza de tais pregas, mas se forem realmente derivadas do estado de contração então a falta de pregas seria mais uma diferença entre as espécies.

Ecteinascidia sp. 2

Material examinado: TL 586 – 1 colônia; Praia do Leão, Fernando de Noronha, PE, Brasil (03°52'16"S; 32°26'11"W); 2.0 m; 28.II.2011; col. T.M.C. Lotufo & R.R. Oliveira-Filho

Morfologia externa: colônia composta por poucos zoóides, com um pedúnculo curto e fino ligando-os ao estolão pela região posterior do corpo. Túnica incolor e transparente. Estolão recoberto por areia; um pouco de areia também sobre o zoóide. Maior zoóide com até 4,8 mm de comprimento total. Túnica translúcida, de superfície lisa e

consistência pergaminosa, sem projeções. Túnica tão fina que não foi possível medir sua espessura.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 2,5-3,0 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,9-2,25 mm de largura. Sifão oral apical com 0,4-0,66 mm de comprimento e 8-9 lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,6-1,0 mm de distância do sifão oral (na altura da 3^a-4^a fileiras de fendas), com 0,4-0,5 mm de comprimento e oito lobos; lobos de ambos os sifões ligeiramente triangulares, longos e de margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,15-0,18 mm do tubérculo dorsal, próximo à base do sifão oral.

Musculatura: formada por longas fibras perpendiculares à margem dorsal, que se prolongam quase até a margem ventral do corpo, em ambos os lados. Fibras dispostas entre a 2^a e 8^a fileira de fendas faríngeas. No lado esquerdo do corpo a musculatura não se sobrepõe ao tubo digestório. Fibras musculares com até 0,014 mm de espessura. Musculatura longitudinal dos sifões formada por fibras curtas não organizadas em feixes, que não se prolongam pela parede do corpo. Presença de grande quantidade de fibras circulares em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa com uma estreita membrana logo após a abertura do sifão. Presença de 31-42 tentáculos orais, de quatro tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,54-0,62 mm de comprimento; tentáculos inseridos em fino anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a aproximadamente 0,2-0,25 mm de distância do anel de tentáculos, de forma similar em ambos os lados do corpo (no maior zooide a distância é maior); lâmina posterior mais ampla que a anterior. Ausência de papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,018-0,019 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular pequena, reta. Lâmina dorsal subdividida em linguetas; ausência de lâmina basal entre as linguetas. Lâmina dorsal dupla e lisa nos 0,19-0,26 mm anteriores, terminando antes da abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,21-0,26 mm no lado direito e 0,18 mm no esquerdo. Faringe lisa, com 13-15 vasos longitudinais de cada lado; 10 vasos transversais (11 fileiras de fendas); 2-3 fendas por malha (33-35 fendas por meia fileira); papilas primárias simples

com 0,07-0,15 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: pequeno, na região posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago alongado, com um sulco longitudinal visível através da parede do corpo. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada na altura da 8ª fileira de fendas e alça secundária aberta. Presença de duas constrições no intestino, uma logo após o estômago e outra aproximadamente na metade da porção ascendente do intestino. Ânus de margem lisa a 0,7-1,5 mm de distância do anel de tentáculos (entre a 5ª e 7ª fileira de fendas).

Gônadas: não observadas (zooides imaturos).

Distribuição Geográfica: Brasil (Fernando de Noronha).

Comentários: a amostra analisada se assemelha muito a *Ecteinascidia* cf. *styeloides* Morfotipo B, apresentando número de lobos dos sífões, musculatura corporal, número de vasos longitudinais na faringe e número de fendas por fileira semelhantes a esta espécie (obs. pess.). No entanto, *E. cf. styeloides* Morfotipo B apresenta uma lâmina dorsal estreita, com longas projeções dos vasos transversais, um tubo digestivo mais volumoso e intestino mais longo e com curvatura mais acentuada, diferentemente do presente material (obs. pess.). Além disso, *Ecteinascidia* sp. 2 possui grãos de areia incrustados na túnica, que também recobrem completamente o estolão, algo não observado em *E. cf. styeloides* Morfotipo B (obs. pess.). Descrita recentemente para a Guiana Francesa, *E. aranea* Monniot F., 2016 parece corresponder ao presente material, com sua túnica incrustada de areia (especialmente na região do estolão), o padrão de musculatura corporal, cerca de 45 de tentáculos orais, estômago liso e abertura anal na altura da 7ª fileira de fendas. As diferenças entre as espécies residem apenas no tamanho do zooide (até 16,0 mm de comprimento total), na presença de apenas seis lobos petaloides no sífão oral, cerca de 22 vasos longitudinais de cada lado da faringe e 15 fileiras de fendas. Como os zooides de *E. aranea* já possuíam gônadas, existe a possibilidade de que *Ecteinascidia* sp. 2 seja apenas um juvenil da espécie guianense, o que justificaria quase todas as diferenças, com exceção do número de lobos no sífão. A ausência de indivíduos sexualmente maduros tornam qualquer afirmação duvidosa e por isso considero mais prudente mantê-la como não identificada.

Ecteinascidia sp. 3

Material examinado: 62 B – 1 zooide; Praia do Leão, Fernando de Noronha, PE, Brasil (03°52'16"S; 32°26'11"W); 2.0 m; 28.II.2011; col. T.M.C. Lotufo & R.R. Oliveira-Filho.

Morfologia externa: apenas um único zooide foi encontrado em meio a outra colônia de *Ecteinascidia* e por isso não há dados sobre o aspecto em vida. Túnica não observada.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,35 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,5 mm de largura. Sifão oral apical com 0,6 mm de comprimento e aproximadamente 12 lobos triangulares, pequenos e de margem lisa. Sifão atrial localizado entre a 6^a-7^a fileiras de fendas (a 0,9 mm de distância do sifão oral), com 0,5 mm de comprimento; não foi possível contar o número de lobos por danos no sifão. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,16 mm do tubérculo dorsal, próximo à base do sifão oral.

Musculatura: no lado direito formada por fibras longitudinais curtas (alcançam até a 2^a fileira de fendas), que se prolongam do sifão oral e se juntam a fibras perpendiculares à margem dorsal, formando uma faixa muscular desde a região apical até a 12^a fileira de fendas. As fibras dorsais são também curtas, alcançando aproximadamente a região mediana do corpo. Fibras musculares do lado direito com até 0,019 mm de espessura. No lado esquerdo do corpo a musculatura é formada apenas por fibras perpendiculares à margem dorsal, distribuídas entre a 2^a e a 8^a fileira de fendas. Tais fibras são um pouco mais longas que as do lado direito, porém não se sobrepõe ao tubo digestivo. Musculatura longitudinal dos sifões formada por curtas fibras não organizadas em feixes. Musculatura circular em ambos os sifões densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 51 tentáculos orais, de quatro tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,7-0,8 mm de comprimento; tentáculos inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a aproximadamente 0,085 mm de distância do anel de tentáculos, medido no lado direito do corpo (um pouco mais estreito que o esquerdo). Ausência de papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,019 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular em um pequeno V. Lâmina dorsal

subdividida em linguetas, sem lâmina basal. Lâmina dorsal dupla e lisa nos 0,11 mm anteriores; termina antes da abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,17 mm no lado direito e 0,12 mm no esquerdo. Faringe lisa, com 16-17 vasos longitudinais de cada lado; 16 vasos transversais (17 fileiras de fendas); duas fendas por malha (aproximadamente 32 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,07-0,08 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestivo: pequeno, ocupa cerca de ¼ posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado, de parede lisa. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada na altura da 11ª fileira de fendas e alça secundária aberta. Presença de uma constrição no intestino, aproximadamente na metade da porção ascendente do intestino. Ânus localizado a 1,16 mm de distância do anel de tentáculos (entre a 8ª e 9ª fileira de fendas).

Gônadas: não observadas (indivíduo imaturo).

Distribuição Geográfica: Brasil (Fernando de Noronha).

Comentários: o único zooide encontrado foi coletado casualmente junto com *Ecteinascidia* sp. 2 e só descoberto já em laboratório. Tratam-se claramente de duas espécies, sendo diferenciadas pelo menor número de lobos no sifão oral (8-9), o sifão atrial posicionado mais anteriormente (3ª-4ª fileira de fendas), a musculatura corporal do lado direito formada por longas fibras perpendiculares à margem dorsal e ausência de fibras longitudinais, menor número de fileiras de fendas (11) e a posição da abertura anal mais anterior (5ª-7ª fileira de fendas) em *Ecteinascidia* sp. 2.

O padrão muscular encontrado no lado direito do corpo é algo incomum para o Atlântico, só sendo conhecido para *E. herdmani* (Lahille, 1890), espécie encontrada apenas na costa europeia. Além da musculatura, *E. herdmani* se assemelha a *Ecteinascidia* sp. 3 por apresentar o sifão atrial aproximadamente na altura da 5ª fileira de fendas, 15-25 vasos longitudinais de cada lado da faringe, parede do estômago lisa, alça intestinal primária entre a 7ª-10ª fileira de fendas e alça secundária aberta, e abertura anal entre a 5ª-9ª fileira de fendas (Médioni 1969; obs. pess.). Entretanto, *E. herdmani* possui o mesmo padrão muscular dos dois lados do corpo, apenas 12-30

tentáculos orais e papilas primárias da projetando-se no lúmen da faringe (Médioni 1969; obs. pess.), diferindo do presente material.

Ecteinascidia nexa Sluiter, 1904 também foi descrita com esse tipo de musculatura corporal no lado direito, porém parece haver uma certa discrepância entre os autores a esse respeito. De acordo com Nishikawa (1986), *E. nexa* apresenta exatamente essa disposição das miofibras, sendo que os zooides também podem ser encontrados isolados e possuem a túnica incolor e com grãos de areia incrustados. Apesar da túnica de *Ecteinascidia* sp. 3 não estar disponível para estudos, como a túnica de *Ecteinascidia* sp. 2 se assemelhava a essa descrição, existe a possibilidade de que *Ecteinascidia* sp. 3 também fosse assim e que por isso não tenha sido identificada antes da dissecação. De todas as formas, não pode ser considerada como *E. nexa sensu* Nishikawa por esta apresentar grânulos amarelados na parede do corpo, 20-24 tentáculos orais e alça intestinal secundária bem profunda (Nishikawa 1986). Já de acordo com Monniot C. (1991) e Kott (1985), *E. nexa* possui fibras musculares transversais (anteriores e posteriores ao sifão atrial), cerca de 50 tentáculos orais, 14 vasos longitudinais de cada lado, 13-22 fileiras de fendas, e abertura anal na 11ª fileira de fendas. Se pelo número de tentáculos orais e aparência da faringe *E. nexa sensu* Monniot C. e Kott se assemelha a *Ecteinascidia* sp. 3, o padrão muscular e o ânus mais posterior diferenciam as espécies.

Ecteinascidia sp. nov. 4

Material examinado: 122 – 1 colônia; Ilha Escalvada, Guarapari, Espírito Santo (20°42'00"S; 40°24'30"W); 10.0 m, sob rochas; 27.I.2012; col. G.A. Gamba. DZUP ECT 14 – 1 colônia; 10.0 m, sob rochas; 27.I.2012; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: colônias fixadas ao substrato pela região do estolão, com vários centímetros de diâmetro. Zooides sem incrustações, unidos por estolões finos e ramificados, em geral isolados uns dos outros, porém podem formar pequenos agrupamentos. Túnica de coloração amarelada, mas esta tende a desaparecer com o tempo após a fixação em formaldeído. Zooides fixos pela região posterior do corpo, inclinando-se sobre o substrato. Maiores indivíduos com até 4,3 mm de comprimento total. Túnica transparente, sendo possível observar o zoóide através dela. Túnica de

superfície lisa e consistência pergaminosa (espessura não mensurável), sem incrustações ou epibiontes.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 2,5-2,7 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,5-2,2 mm de largura. Sifão oral com 0,3-0,6 mm de comprimento e 7-9 lobos digitiformes; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,7-0,8 mm de distância da base do sifão oral (5^a-6^a fileira de fendas), com 0,2-0,3 mm de comprimento e 7-8 lobos digitiformes; margem dos lobos de ambos os sifões lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a aproximadamente 0,1 mm da base do sifão oral, bem próximo a este.

Musculatura: musculatura formada por fibras finas (0,019-0,024 mm de espessura) que partem do sifão oral e da região dorsal e se estendem obliquamente por todo o corpo até próximo ao endóstilo, onde podem sofrer algumas ramificações. Do lado esquerdo do corpo a musculatura está restrita à região anterior do corpo, não recobrando o tubo digestório. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes; musculatura circular constituída por poucas fibras, porém as mesmas encontram-se bem agrupadas.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral em geral lisa, mas pode apresentar uma membrana logo após a abertura do sifão. Presença de 26-32 tentáculos orais, de 2-3 tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,3-0,6 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um pequeno anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,04-0,1 mm de distância do anel de tentáculos; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em fenda vertical, com 0,07-0,12 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular forma um pequeno V. Lâmina dorsal não dupla anteriormente e subdividida em linguetas triangulares resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe; ausência de lâmina basal. Linguetas da lâmina dorsal se tornam progressivamente mais longas quanto mais se aproximam da abertura esofágica, terminando junto a esta. Ausência de papilas no entorno ou de projeções à direita da abertura do esôfago. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,1-0,26 mm do lado direito e 0,09-0,12 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 17-21 vasos longitudinais no lado direito e 16-20 vasos no esquerdo; 13-16 vasos transversais (14-17 fileiras de fendas); 1-2 fendas por malha (23-33 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,03-0,05 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos e

papilas secundárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: localizado na região média e posterior, ocupa cerca de metade da área do lado esquerdo do corpo. Estômago ovalado, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrictões no tubo digestivo, uma logo após o estômago e outra pouco anterior à alça intestinal primária. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada na altura da 8^a-9^a fileira de fendas; alça secundária aberta; ânus de margem lisa, a 0,8-1,1 mm de distância do anel de tentáculos (7^a-9^a fileira de fenda), próximo ao sifão atrial.

Gônadas: zooides imaturos. Gônadas e larvas não observadas.

Distribuição Geográfica: Brasil (ES).

Comentários: das espécies conhecidas para o Atlântico oeste, *Ecteinascidia* sp. nov. 4 possui musculatura corporal semelhante apenas a *Ecteinascidia* sp. nov. 5 e *Ecteinascidia* sp. 7 (ver descrições completas a seguir). Em comum com a primeira há ainda a coloração amarelada em vida, o número de vasos longitudinais da faringe (19-21) e o estômago com parede lisa. Entretanto, *Ecteinascidia* sp. nov. 5 apresenta 16-17 lobos no sifão oral, 10-12 no sifão atrial, 39-50 tentáculos orais, 18-20 fileiras de fendas, alça intestinal primária entre a 9^a e a 11^a fileira de fendas e ânus na altura da 10^a-12^a fileira de fendas, diferenciando-se assim de *Ecteinascidia* sp. nov. 4. Já *Ecteinascidia* sp. 7 compartilha também com a presente espécie o número de lobos no sifão oral, o número de fendas por meia fileira, a parede estomacal lisa e a posição da abertura anal. O que a separa de *Ecteinascidia* sp. nov. 4 é o menor número de lobos no sifão atrial (5-7), de tentáculos orais (21-25) e de vasos longitudinais de cada lado da faringe (12-15), além da alça intestinal primária ser mais posterior (entre a 9^a e a 11^a fileira de fendas).

Para o oceano Pacífico, há três espécies de pequeno porte que apresentam semelhanças com *Ecteinascidia* sp. nov. 4: *E. jacerens* Tokioka 1954, *E. faaopa* Monniot & Monniot 1987 e *E. imperfecta* Tokioka, 1950. A mais similar dentre estas é *Ecteinascidia imperfecta*, com sua coloração amarelada em vida, 7-8 lobos nos sifões, musculatura transversal recobrimdo o lado direito do corpo e estômago de parede lisa (Tokioka 1950). As diferenças com o presente material residem no menor número de

tentáculos orais (18), na faringe com 20-21 fileiras de fendas e vasos longitudinais incompletos, e a abertura do ânus na altura da 13ª fileira de fendas (Tokiooka 1950). *Ecteinascidia jacerens* possui em comum com *Ecteinascidia* sp. nov. 4 a musculatura do lado direito do corpo formada por fibras oblíquas que chegam até próximo ao endóstilo (Tokiooka 1954), porém difere do material brasileiro devido a presença de apenas 14-24 tentáculos orais, até 16 vasos longitudinais de cada lado da faringe e 7-14 fileiras de fendas (Tokiooka 1954; Nishikawa 1986; Monniot C. 1991). Já *E. faaopa* apresenta também fibras musculares por toda a parede do lado direito do corpo, 15 fileiras de fendas e estômago liso (Monniot C. & Monniot F. 1987; obs. pess.). No entanto se diferencia de *Ecteinascidia* sp. nov. 4 por possuir musculatura corporal menos densa, cerca de 20 tentáculos orais e 15-17 vasos longitudinais de cada lado da faringe (Monniot C. & Monniot F. 1987; obs. pess.).

Ecteinascidia sp. nov. 5

Material examinado: 18 – 1 colônia; Hospital Point, Ilha Solarte, Bocas del Toro, Panamá (09°20'04"N; 82°13'10"W); 5.2 m, em recife de coral; 16.VI.2011; col. R.M. Rocha

39 – 1 colônia; Crawl Cay, Ilha Bastimentos, Bocas del Toro, Panama (09°15'16"N; 82°08'10"W); 1.0 m, em recife de coral; 22.VI.2011; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: colônia fixada ao substrato pela região do estolão, com vários centímetros de diâmetro. Zooides sem incrustações, unidos por estolões finos e ramificados; zooides em geral isolados uns dos outros, porém podem formar pequenos agrupamentos. Túnica de coloração amarela, que desaparece após a fixação em formaldeído. Zooides fixos pela região posterior do corpo, inclinando-se sobre o substrato. Maiores indivíduos com até 5,0 mm de comprimento total. Túnica transparente após fixação, sendo possível observar o zooide através dela, de superfície lisa e consistência pergaminosa (espessura não mensurável).

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 3,0-4,3 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,7-2,8 mm de largura. Sifão oral com 0,5-0,6 mm de comprimento e 16-17 lobos, de tamanhos alternados (um maior, outro menor); sifão atrial deslocado posteriormente a 1,1-2,2 mm de distância da base do sifão

oral (aproximadamente na altura da 9ª fileira de fendas), com 0,15-0,25 mm de comprimento e 10-12 lobos, em geral de mesmo tamanho, mas em um indivíduo os lobos do sifão atrial também apresentavam o padrão alternado observado no sifão oral. Lobos de ambos os sifões alongados, com ponta arredondada e margem lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,3-0,5 mm da base do sifão oral, no terço anterior da distância entre os sifões.

Musculatura: musculatura formada por poucas fibras finas (0,01-0,03 mm de espessura) que partem da região dorsal e se estendem transversalmente até próximo ao endóstilo, desde a altura da primeira fileira de fendas até a região posterior do corpo. Do lado esquerdo do corpo a musculatura está restrita a fibras curtas perpendiculares à margem dorsal na região anterior do corpo até o sifão atrial, não recobrando o tubo digestivo. Nos sifões, a musculatura longitudinal é menos evidente, e não se encontra organizada em feixes e nem tampouco se estende pela parede do corpo; musculatura circular formada por uma grande quantidade de fibras.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa, sem papilas ou membrana. Presença de 39-50 tentáculos orais, de 3-4 tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,4-0,6 mm de comprimento; tentáculos inseridos em anel muscular estreito. Anel ciliado duplo, sendo que na membrana posterior é possível observar ondulações e, em algumas partes, pequenas endentações, região entre anéis lisa. Anel ciliado a 0,1-0,2 mm de distância do anel de tentáculos, em geral de forma similar dos dois lados do corpo, porém o lado esquerdo pode ser ligeiramente mais amplo. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular, com aproximadamente 0,03 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular curta, formando um pequeno V. Lâmina dorsal única anteriormente e subdividida em linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe; presença de uma estreita lâmina basal unindo as linguetas; lâmina dorsal termina logo antes da abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,12-0,26 mm em ambos os lados. Faringe com 19-21 vasos longitudinais em cada lado; 17-20 vasos transversais (18-20 fileiras de fendas); 1-3 fendas por malha (29-45 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,06-0,1 mm de altura. Vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: localizado principalmente na região posterior, ocupa menos da metade da área do lado esquerdo do corpo. Estômago ovalado, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestivo, uma logo após o estômago e outra pouco anterior à alça intestinal primária. Esta última apresenta a borda lobada, com os lobos projetando-se sobre o estômago posterior. Intestino isodiamétrico, com alças primária e secundária fechadas; alça primária na altura da 9^a-12^a fileira de fendas; ânus de margem lisa, entre a 10^a-12^a fileira de fenda (0,9-2,4 mm de distância do anel de tentáculos), próximo ao sifão atrial.

Gônadas: restritas ao interior da alça intestinal primária. Ovário formado por 3-12 ovócitos agrupados próximos à região descendente do intestino (quase na alça secundária), entre este e o estômago; maiores ovócitos com 0,08 mm de diâmetro. Testículo de aspecto arredondado, com numerosos folículos pequenos. Folículos masculinos localizados ventralmente em relação à gônada feminina, além de recobrir a mesma. Abertura do oviduto posterior ao ânus (13^a fileira de fendas). Espermiduto e larvas não observados.

Distribuição Geográfica: Panamá (Atlântico).

Comentários: o grande número de lobos nos sifões, alternados em tamanho e lembrando uma flor, é a principal característica de *Ecteinascidia* sp. nov. 5. Nenhuma outra espécie conhecida para o Atlântico apresenta tal aparência. Em vida, a espécie pode ser facilmente confundida com *E. minuta* devido ao tamanho dos zooides e sua coloração amarelo esverdeada (Goodbody & Cole 2006; obs. pess.). Além disso, ambas as espécies apresentam o testículo completamente inserido dentro da alça intestinal primária, não recobrimo o tubo digestório (Goodbody & Cole 2006). Entretanto, *E. minuta* possui o sifão atrial na região anterior do corpo (sem ser apical), musculatura corporal formada por um feixe de fibras transversais completas na região entre os sifões seguido posteriormente por fibras mais curtas perpendiculares à margem dorsal, 20-38 tentáculos orais, 10-14 vasos longitudinais de cada lado da faringe, 13-18 fileiras de fendas e 20-25 fendas por fileira no lado direito do corpo, diferindo completamente de *Ecteinascidia* sp. nov. 5 (Goodbody & Cole 2006; obs. pess.). *Ecteinascidia* sp. 7 também pode ser confundida em campo com o presente material pelo tamanho reduzido e a coloração amarelada, porém apresenta apenas 5-8 lobos em cada sifão, 21-25 tentáculos orais, 12-15 vasos longitudinais, número similar de fileiras de fendas, e o

testículo, apesar de também ser restrito ao interior da alça intestinal, não forma uma esfera compacta como em *Ecteinascidia* sp. nov. 5. Outra espécie do Atlântico que se assemelha ao presente material é *Ecteinascidia* sp. nov. 4, por possuir coloração amarelada em vida, fibras musculares oblíquas recobrimdo o lado direito do corpo, 16-21 vasos longitudinais de cada lado e estômago de parede lisa. As diferenças com *Ecteinascidia* sp. nov. 5 residem principalmente no menor número de tentáculos orais (26-32), fileiras de fendas (14-17) e de fendas por fileira (23-33), além dos lobos sifonais (apenas 7-9 em cada sifão).

Para o oceano Pacífico são conhecidas outras três espécies que com caracteres similares aos de *Ecteinascidia* sp. nov. 5: *E. flora* Kott, 1952, *E. imperfecta* Tokioka, 1950 e *E. faaopa* Monniot C. & Monniot F., 1987. No caso de *E. flora* a semelhança se deve ao tamanho dos zooides (até 4,0 mm de comprimento), presença de 14 lobos no sifão oral, 18 fileiras de fendas, cerca de 38 fendas por fileira do lado direito do corpo e estômago liso (Kott 1952); já as diferenças residem na colônia formada por zooides dispostos em ambos os lados de um estolão central, sifão atrial com apenas seis lobos e presença de fibras musculares longitudinais no corpo (Kott 1952, 1985). *Ecteinascidia imperfecta* se aproxima de *Ecteinascidia* sp. nov. 5 por sua coloração amarelada, musculatura formada por fibras transversais completas no lado direito e por fibras transversais curtas no lado esquerdo, cerca de 20 vasos longitudinais e 20-21 fileiras de fendas na faringe (Tokioka 1950, Kott 1985). Entretanto, os zooides alcançam no máximo 3,0 mm de comprimento total, possuem 7-8 lobos em cada sifão e apenas 18 tentáculos orais (Tokioka 1950, Kott 1985), o que diferencia as duas espécies. Já *E. faaopa* se assemelha devido aos zooides com apenas 4,0 mm de comprimento total, lobos dos sifões bem destacados, fibras transversais recobrimdo o lado direito do corpo e estômago liso; porém se diferencia por possuir menos lobos nos sifões, cerca de 20 tentáculos orais, 15-17 vasos longitudinais de cada lado da faringe, 15 fileiras de fendas e abertura anal na 7ª fileira de fendas (Monniot C. & Monniot F. 1987).

Ecteinascidia sp. nov. 6

Material examinado: 15 – 1 colônia; Paredão Sul, Arquipélago de São Pedro e São Paulo (00°55'01.4"N; 29°20'45.9"W); 25.0 m; 20.II.2011; col. T.M.C. Lotufo

35 – 1 colônia; Paredão Sul, Boca da Enseada, Arquipélago de São Pedro e São Paulo (00°55'01.4"N; 29°20'45.9"W); 13.0 m, sobre esponjas e algas; 21.II.2008; col. T.M.C. Lotufo. 37 – 1 colônia; 16.0 m, junto de hidrozoários; 22.II.2008; col. T.M.C. Lotufo

22 – 1 colônia; Enseada, Arquipélago de São Pedro e São Paulo (00°55'01.5"N; 29°20'44.5"W); 16.0 m, em face negativa de pedra; 13.V.2006; col. T.M.C. Lotufo & Ferreira

Morfologia externa: colônias pequenas, fixadas ao substrato pela região do estolão. Zooides sem incrustações, fixos pela região ventral posterior do corpo, por um pedúnculo longo e fino. Zooides comumente isolados uns dos outros, porém podem formar pequenos agrupamentos. Túnica incolor transparente; zooides com pontuações brancas pelo corpo, principalmente no sifão oral e na região dorsal, entre os sifões. Sifão oral com lobos triangulares bem marcados, como uma coroa. Maiores indivíduos com até 3,3 mm de comprimento total. Túnica de superfície lisa e consistência pergaminosa (espessura não mensurável).

Animal sem túnica: corpo alongado, com 1,2-2,1 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 0,6-1,1 mm de largura. Sifão oral com 0,1-0,26 mm de comprimento e 7-10 lobos; sifão atrial deslocado posteriormente a 0,6-1,2 mm de distância da base do sifão oral (ao redor da 7^a-8^a fileira de fendas; apenas em um zoóide o sifão atrial encontrava-se antes da metade do corpo), com 0,07-2,4 mm de comprimento e 6-8 lobos; lobos de ambos os sifões triangulares e de margem lisa. Em um dos zoóides examinados foi possível observar ocelos de coloração alaranjada entre os lobos do sifão oral. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a aproximadamente 0,07-0,38 mm da base do mesmo.

Musculatura: musculatura em ambos os lados do corpo formada por fibras de 0,01-0,04 mm de espessura, perpendiculares à margem dorsal, ao longo de todo o corpo. Tais fibras alcançam aproximadamente até metade da largura corporal, sendo que quanto mais posteriores, mais curtas. Presença de 13-17 fibras em cada lado, bem espaçadas entre si. Nos sifões a fraca musculatura longitudinal não se encontra organizada em feixes; a musculatura circular consiste de apenas 4-12 fibras espaçadas entre si.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral completamente lisa. Presença de 14-15 tentáculos orais, de 2-3 tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,2-0,3 mm de

comprimento; tentáculos inseridos em um fino anel muscular, às vezes inconspícuo. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,04-0,21 mm de distância do anel de tentáculos, medidos do lado direito (mais amplo que o esquerdo), sendo que quanto maior o zooide, maior a distância; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em U sem pontas enroladas ou em fenda circular, com 0,01-0,04 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular forma um pequeno V. Lâmina dorsal única anteriormente e subdividida em linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe, sem lâmina unindo as linguetas, e terminando junto à abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,07-0,14 mm do lado direito e 0,04-0,14 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 12-15 vasos longitudinais em cada lado do corpo; 10-12 vasos transversais (10-13 fileiras de fendas); 1-2 fendas por malha (19-24 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,04-0,11 mm de altura. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: localizado principalmente na região posterior, ocupa menos da metade da área do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestivo, uma pouco após o estômago e outra próxima à alça intestinal primária. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e secundária aberta, quase inexistente; alça primária na altura da 7^a-9^a fileira de fendas; ânus de margem lisa ou bilobada, a 0,4-1,3 mm de distância do anel de tentáculos (7^a-9^a fileira de fenda), próximo ao sifão atrial.

Gônadas: gônadas pouco desenvolvidas. Ovário contendo apenas sete pequenos ovócitos agrupados em flor dentro da alça intestinal primária, próximo ao estômago; abertura do oviduto na região da 11^a fileira de fendas. Testículo ventral ao ovário, formado por seis grandes folículos piriformes ou arredondados; espermiduto acompanha o oviduto. Larvas não observadas.

Distribuição Geográfica: Brasil (Arquipélago de São Pedro e São Paulo).

Comentários: o aspecto em vida de *Ecteinascidia* sp. nov. 6 – com zooides incolores com pontuações brancas, mais concentradas no sifão oral e na área intersifonal – é bastante peculiar e nunca antes reportado para o Atlântico oeste. Além disso, o tamanho reduzido dos zooides, a musculatura bem espaçada ao longo de toda margem dorsal e

não ultrapassando mais que a metade da largura do corpo, o pequeno número de tentáculos orais, de vasos longitudinais de cada lado da faringe, de fileiras de fendas e de fendas por fileira, bem como a alça intestinal secundária bem aberta, também são característicos da espécie. Com zooides igualmente pequenos há *Ecteinascidia* sp. nov. 4, porém difere do presente material pela musculatura corporal, maior número de tentáculos orais (26-35), vasos longitudinais (cerca de 20) e fileiras de fendas (14-17). *Ecteinascidia* sp. 2 e *E. minuta* (Berrill, 1932) também possuem zooides de pequeno porte, número de lobos nos sífões semelhante, bem como de vasos longitudinais em cada lado da faringe e aparência do estômago. No entanto, os padrões de musculatura corporal, o maior número de tentáculos orais e de fileiras de fendas (este último caracter apenas para *E. minuta*) são caracteres que separam ambas de *Ecteinascidia* sp. nov. 6. *Ecteinascidia* sp. 7 também apresenta fibras musculares bem espaçadas umas das outras, de forma regular, na parede do corpo, 12-15 vasos longitudinais de cada lado da faringe, parede do estômago lisa e abertura anal entre a 7ª e a 9ª fileira de fendas. Entretanto suas miofibras são mais longas, estendendo-se desde a margem dorsal até a ventral, e possui 21-25 tentáculos orais, 24-31 fendas por fileira e alça intestinal primária na altura da 9ª-11ª fileira de fendas.

Descrita para a costa atlântica europeia, *E. herdmani* (Lahille, 1887) se assemelha a *Ecteinascidia* sp. nov. 6 pela presença de 12-30 tentáculos orais, 10-16 fileiras de fendas, com 15-34 fendas por fileira e estômago de parede lisa (Lahille 1890; Médioni 1969; obs. pess.). As diferenças entre as espécies residem na coloração amarelo-esverdeada em vida, o maior comprimento dos zooides (até 7,0 mm), a presença de fibras musculares longitudinais curtas na região anterior do corpo, o número de vasos longitudinais (15-25 de cada lado) e as papilas primárias expostas ao lúmen da faringe encontradas em *E. herdmani* (Lahille 1890; Médioni 1969; obs. pess.).

Dentre as demais espécies de *Ecteinascidia* conhecidas para o mundo as que mais se assemelham ao presente material são *E. faaopa* Monniot C. & Monniot F., 1987, *E. jacerens* Tokioka, 1954 e *E. remanea* Monniot F. & Monniot C. 2001. Descrita para o Taiti, *E. faaopa* possui em comum com *Ecteinascidia* sp. nov. 6 o tamanho reduzido dos zooides, os lobos dos sífões bem marcados, a fraca musculatura circular dos sífões, o sífão atrial posicionado na região posterior do corpo, o estômago liso e a abertura anal na altura da 7ª fileira de fendas (Monniot C. & Monniot F. 1987). No entanto *E. faaopa* possui musculatura do lado direito do corpo formada por longas

fibras transversais não paralelas entre si, cerca de 20 tentáculos orais, lâmina dorsal formada por uma elevada lâmina, 15 fileiras de fendas, 15-17 vasos longitudinais de cada lado da faringe e testículo formado por somente dois lobos (Monniot C. & Monniot F. 1987), o que a diferencia de *Ecteinascidia* sp. nov. 6. Já *E. jacerens* apresenta 14-24 tentáculos orais, 8-16 vasos longitudinais, 7-14 fileiras de fendas, 15-30 fendas por fileira e ânus abrindo-se entre a 4ª e a 9ª fileira de fendas (Tokioka 1954; Nishikawa 1986; Monniot C. 1991). O seu aspecto em vida incolor ou amarelado/esverdeado somado à musculatura corporal formada por longas fibras transversais ou oblíquas (Tokioka 1954; Nishikawa 1986; Monniot C. 1991) é que distinguem esta espécie de *Ecteinascidia* sp. nov. 6. Por último, *E. remanea* também possui oito lobos em cada sifão, fibras musculares curtas perpendiculares à margem dorsal, 10-12 fileiras de fendas e parede do estômago lisa; suas diferenças com o material brasileiro são a posição do sifão atrial no terço anterior do corpo, musculatura ausente na região posterior do corpo, presença de 40 tentáculos orais e abertura do ânus na 5ª-6ª fileira de fendas (Monniot F. & Monniot C. 2001).

Ecteinascidia sp. 7

Material examinado: MNHN P2 49 – lâmina permanente, 1 zooide; St. David Island, Bermudas (32°22'20"N; 64°40'56"W); 1970. MNHN P2 50 – lâmina permanente, 1 zooide; 1970

MNHN P2 103/104 – lâminas permanentes, 1 zooide (104) e faringe (103); Walsingham Pond, Bermudas Island, Bermudas (32°20'53"N; 64°42'31"W); 1970. MNHN P2 106 – lâmina permanente, 1 zooide; 1970

Morfologia externa: sem dados em vida ou da túnica.

Animal sem túnica: corpo oblongo, com 2,8-4,4 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,5-2,1 mm de largura. Sifão oral apical com 0,2-0,5 mm de comprimento e 7-8 lobos triangulares alongados; sifão atrial deslocado posteriormente a 1,2-2,0 mm de distância da base do sifão oral (6ª-7ª fileira de fendas), com 5-7 pequenos lobos triangulares; em MNHN P2 50 e MNHN P2 104 os lobos do sifão atrial apresentavam extremidade bífida. Margem dos lobos de ambos os

sifões sem projeções. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,17-0,28 mm da base do mesmo.

Musculatura: musculatura do lado direito formada por poucas e finas fibras (0,01-0,02 mm de espessura) que atravessam toda a parede do corpo de forma oblíqua, paralelas umas às outras e igualmente espaçadas entre si. Padrão similar no lado esquerdo, porém as fibras chegam apenas até a altura da alça intestinal primária, não recobrimo o tubo digestivo. Musculatura longitudinal dos sifões não observada; musculatura circular pouco conspícua no sifão oral, formada por apenas cerca de 7-8 fibras bem separadas e não paralelas.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa, sem papilas ou membrana. Presença de 21-25 tentáculos orais, de três tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,24-0,28 mm de comprimento; tentáculos inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado duplo e liso, localizado a 0,1-0,7 mm de distância do anel de tentáculos (distância similar em ambos os lados do corpo), sendo a distância proporcional ao comprimento do zooide; região entre anéis lisa. Abertura do tubérculo dorsal em ferradura, sem pontas enroladas, com aproximadamente 0,02 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular curta, formando um pequeno V. Lâmina dorsal não dupla anteriormente e subdividida em curtas linguetas resultantes do prolongamento dos vasos transversais da faringe; presença de uma ampla lâmina basal unindo as linguetas. Lâmina dorsal terminando logo antes da abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,2-0,3 mm do lado direito e 0,1-0,2 mm do lado esquerdo. Faringe lisa, com 12-15 vasos longitudinais em cada lado; 11-14 vasos transversais (12-15 fileiras de fendas); 1-3 fendas por malha (mais comumente duas fendas) (24-31 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,05-0,08 mm de altura. Ausência de vasos parastigmáticos ou papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestivo: localizado principalmente na região posterior, ocupa menos da metade da área do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado, de parede lisa; presença de um pequeno estômago posterior formado por duas fortes constrições no tubo digestivo, uma no início e outra no final da região ascendente do intestino (pouco anterior à alça intestinal primária). Esta última forma apresenta a borda lobada, com os lobos

projetando-se sobre o estômago posterior. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada na altura da 9^a-11^a fileira de fendas; alça secundária aberta. Região ascendente do intestino curta, assim como o reto. Reto em posição vertical; ânus de margem lisa, a 1,3-2,2 mm de distância do anel de tentáculos (7^a-9^a fileira de fenda), posterior ao sifão atrial.

Gônadas: restritas ao interior da alça intestinal primária. Ovário formado por 8-9 ovócitos agrupados próximos à alça secundária do intestino, entre esta e o estômago; maiores ovócitos com até 0,14 mm de diâmetro. Testículo de aspecto arredondado, formado por 15-33 folículos oblongos, não muito alongados. Folículos masculinos localizados ventralmente em relação à gônada feminina, totalmente inseridos na região da alça intestinal primária. Abertura do oviduto aproximadamente na mesma altura do ânus (9^a fileira de fendas); espermiduto abrindo-se ligeiramente posterior a eles. Larvas não observadas.

Distribuição Geográfica: Bermudas.

Comentários: de acordo com Monniot C. (1972), os zooides encontram-se em posição ereta ou horizontal em relação ao substrato (conforme a turbulência da água) e apresentam coloração amarela, com seis pontos vermelhos nos sifões. Identificado primeiramente como *E. minuta* (Berrill, 1932), o material analisado possui caracteres que o diferenciam desta. *Ecteinascidia* sp. 7 apresenta musculatura corporal formada por longas fibras oblíquas, paralelas entre si e distribuídas uniformemente, linguetas dorsais unidas entre si por uma ampla lâmina, tubo digestivo pequeno com alças intestinais pouco marcadas, região ascendente do intestino curta, duas fortes constrições no intestino (a mais distal, lobada) e testículo completamente restrito ao interior da alça intestinal primária. O erro de identificação pode ter sido decorrente do fato de que, assim como *Ecteinascidia* sp. 7, *E. minuta* também possui coloração amarelada em vida, 21-38 tentáculos orais, 10-14 vasos longitudinais de cada lado do corpo, 13-18 fileiras de fendas (mais comumente 15), parede estomacal lisa, estômago posterior bem delimitado, ânus na altura da 6^a-11^a fileira de fendas e gônada masculina restrita ao interior da alça intestinal (Goodbody & Cole 2006; obs. pess.). No entanto, *E. minuta* possui musculatura corporal formada por um feixe de fibras circulares na região entre os sifões e fibras transversais entre a margem dorsal e a metade da largura do corpo, distribuídas desde o sifão atrial até a região posterior do corpo, além de 20-25 fendas

por meia fileira e intestino formando um S bem marcado (Goodbody & Cole 2006; obs. pess.).

Ainda para a região caribenha, *Ecteinascidia* sp. nov. 5 também se assemelha a *Ecteinascidia* sp. 7 por sua coloração amarelada em vida, zooides com até 5,0 mm de comprimento total, fibras musculares organizadas e relativamente paralelas entre si ao longo de todo o lado direito do corpo, parede interna do sifão oral lisa, estômago com parede lisa, região ascendente do intestino com duas fortes constrições sendo a mais distal com lobos voltados para o pós estômago, alça primária entre 9^a-12^a fileira de fendas, ânus de margem lisa, e testículo de formato arredondado e formado por pequenos folículos, limitado ao interior da alça intestinal primária. Entretanto, *Ecteinascidia* sp. nov. 5 possui 16-17 lobos no sifão oral e 10-12 no sifão atrial, musculatura corporal formada por fibras transversais mais numerosas e próximas entre si que em *Ecteinascidia* sp. 7, 39-50 tentáculos orais, 19-21 vasos longitudinais de cada lado da faringe, 30-45 fendas por meia fileira, 18-20 fileiras de fendas, e intestino com curvaturas bem acentuadas, o que a diferencia do presente material.

Para o Atlântico oeste há outra espécie de pequeno porte e coloração amarelada em vida: *Ecteinascidia* sp. nov. 4, que também apresenta 7-9 lobos no sifão oral, musculatura corporal formada por fibras oblíquas completas por todo o lado direito, 23-33 fendas faríngeas por meia fileira, 14-17 fileiras de fendas, parede do estômago lisa, intestino com duas fortes constrições na região ascendente, alça intestinal secundária ampla e abertura do ânus lisa na altura da 9^a fileira de fendas. As diferenças com *Ecteinascidia* sp. 7 residem na presença de uma membrana na parede interna do sifão oral próximo a abertura deste, ausência de lâmina basal entre as linguetas dorsais, no maior número de tentáculos orais (26-35) e de vasos longitudinais de cada lado da faringe (cerca de 20), e na posição da alça intestinal primária mais anterior (6^a-7^a fileira de fendas).

Tal padrão de musculatura corporal estendendo-se por toda a parede do corpo é descrita também para *E. imperfecta* Tokioka, 1950 e *E. faaopa* Monniot C. & Monniot F., 1987. A primeira compartilha com *Ecteinascidia* sp. 7 também a coloração amarelada em vida, o número de lobos em cada sifão (7-8) e a posição da alça intestinal primária (12^a fileira de fendas) (Tokioka 1950; Kott 1985). Entretanto, *E. imperfecta* pode ser facilmente diferenciada por ter apenas 18 tentáculos orais, 20 vasos

longitudinais de cada lado da faringe, até 21 fileiras de fendas e abertura anal na região da 13ª fileira de fendas (Tokioaka 1950; Kott 1985). Já *E. faaopa* apresenta 5-8 lobos no sifão atrial, 20 tentáculos orais, faringe com 15 fileiras de fendas, estômago com parede lisa e ânus na 7ª fileira de fendas (Monniot C. & Monniot F. 1987), assemelhando-se mais a *Ecteinascidia* sp. 7. Os lobos sifonais petaliformes, a presença de até 11 lobos no sifão oral e, principalmente, o testículo formado por apenas dois grandes lobos (Monniot C. & Monniot F. 1987) são as características que diferenciam *E. faaopa* da presente espécie.

Perophora Wiegmann, 1835

Espécie-tipo: *Perophora listeri* Wiegmann, 1835

Zooides com três a cinco fileiras de fendas na faringe, e poucos folículos testiculares grandes (Van Name 1945; Rocha *et al.* 2012). Algumas espécies apresentam vasos longitudinais completos na faringe, porém em outras os vasos são incompletos (Berrill 1950). Gênero com 22 espécies reconhecidas (WoRMS, acesso em 02 de agosto de 2016).

Perophora listeri Wiegmann, 1835

Material examinado: NHM 1898.5.7.306 – 1 colônia; Plymouth Sound, Plymouth, Devon, Inglaterra, (50°21'N; 04°08'W); VII.1889; col. Norman

Morfologia externa: colônia formada por zooides bem afastados uns dos outros, enfileirados e unidos por um estolão na região posterior ventral do corpo. Zooide com até 2,6 mm de comprimento total. Túnica translúcida e incolor após a fixação, de superfície lisa e consistência pergaminosa, extremamente fina (não foi possível medir sua espessura). Presença de um pedúnculo longo, largo próximo ao zooide e mais estreito junto ao estolão.

Animal sem túnica: corpo de formato arredondado, com até 1,8 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 2,4 mm de largura. Sifão oral com 0,9-1,0 mm de comprimento e seis lobos; sifão atrial na altura da primeira fileira de fendas (0,5 mm de distância da base do sifão oral), com 0,5-0,6 mm de comprimento e cinco lobos. Lobos digitiformes, longos e largos em ambos os sifões. Ocelos não

observados. Gânglio nervoso localizado a aproximadamente 0,14 mm da base do sifão oral, próximo a este.

Musculatura: musculatura de ambos os lados do corpo formada por 26-28 fibras finas (cerca de 0,018 mm de diâmetro), das quais 12-14 são longitudinais (perpendiculares à margem anterior do corpo) e as demais são perpendiculares à margem dorsal, distribuídas desde a região anterior (em continuação com as fibras longitudinais) até a altura da 3ª fileira de fendas. Fibras curtas, se estendem por $\frac{1}{4}$ da largura do corpo. No lado esquerdo do corpo a musculatura não se sobrepõe ao tubo digestório. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes; musculatura circular densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 15 tentáculos orais, de dois tamanhos diferentes, os maiores medindo aproximadamente 0,3 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um delicado anel muscular. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,14-0,15 mm de distância do anel de tentáculos (distância similar nos dois lados do corpo), sem papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,09-0,1 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal subdividida em linguetas formadas pelo prolongamento dos vasos transversais, unidas por uma estreita lâmina na base, e terminando junto à abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de aproximadamente 0,3 mm no lado esquerdo (lado direito não foi possível medir). Faringe lisa, sem vasos longitudinais (apenas as papilas estavam presentes, sobre os vasos transversais), mas com 7-8 papilas primárias de cada lado. Presença de três vasos transversais (quatro fileiras de fendas); 2-3 fendas longitudinais por malha (24 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,11 mm de altura. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: volumoso, ocupa metade da parede do lado esquerdo, na região média e posterior do corpo. Estômago periforme, de paredes lisas. Intestino isodiamétrico, com alça intestinal primária fechada na altura da 2ª-3ª fileira de fendas; alça secundária aberta; presença de uma forte constrição um pouco acima da metade da região ascendente do intestino. Ânus de margem bilobada a 0,8 mm de distância do anel de

tentáculos (entre a 2^a e a 3^a fileira de fendas, na mesma altura da alça intestinal primária).

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária. Ovário formado por aproximadamente quatro ovócitos agrupados próximo à região distal do estômago; maior ovócito com 0,06 mm de diâmetro. Testículo formado por cinco folículos alongados, restritos ao interior da alça intestinal primária; testículo ventral em relação ao ovário. Abertura dos gonodutos não observada. Presença de até 12 larvas em diferentes estágios de maturação, incubadas dentro de uma bolsa no interior da cavidade atrial, do lado direito do corpo do zooide. Larvas de corpo arredondado (aproximadamente 0,4 mm de diâmetro ântero-posterior), cauda completando ½ volta ao redor do corpo, e três papilas adesivas sésseis dispostas em triângulo; presença de grânulos hialinos distribuídos por todo o corpo.

Distribuição Geográfica: Ilhas Britânicas, Escócia, França, Itália, Senegal (Ärnback-Christie-Linde 1934; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: de acordo com a literatura, os zooides de *P. listeri* podem chegar a 4,0 mm de comprimento total, apresentam túnica incolor, pedúnculo como o descrito acima, até 40 tentáculos orais, faringe com 20-24 fendas por meia fileira e total ausência de vasos longitudinais ou rudimentos dos mesmos – sendo esta considerada a principal característica da espécie (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950). A musculatura corporal de *P. listeri* se assemelha bastante a de *P. viridis* Verrill, 1871, espécie do Atlântico americano. No entanto, em *P. viridis* os vasos longitudinais da faringe estão presentes, o que se considera razão suficiente para a separação das espécies (Ärnback-Christie-Linde 1934; Berrill 1950; Millar 1957). Outras diferenças morfológicas observadas durante este estudo encontram-se na descrição de *P. viridis*.

Perophora multiclathrata (Sluiter, 1904)

Material examinado: DZUP PER 1.2 – lâmina permanente, 1 zooide; Ponta do Baleeiro, São Sebastião, SP, Brasil (23°49'40"S; 45°25'22"W); 09.IV.1990; col. R.M. Rocha

DZUP PEROPH 1.4 – lâmina permanente, 1 zooide + larva; Guaratuba, PR, Brasil (25°53'15"S; 48°33'38"W); 20.II.2000

Morfologia externa: lâminas permanentes, zooides já dissecados e sem a túnica.

Animal sem túnica: corpo de formato oblongo, com 1,5-2,5 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,6-1,8 mm de largura. Sifão oral apical, com até 0,5 mm de comprimento; sifão atrial na região anterior do corpo, entre a 2ª e 3ª fileira de fendas (0,4-0,6 mm de distância da base do sifão oral), com até 0,4 mm de comprimento. Presença de 10 lobos digitiformes de margem lisa em cada sifão. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado aproximadamente na metade da distância entre os sifões, a 0,2-0,3 mm da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito do corpo com aproximadamente 12 fibras que se prolongam desde a margem dorsal do corpo (região intersifonal e posterior ao sifão atrial) até próximo ao endóstilo; tais fibras se agrupam na região mediana do corpo, formando um Y na horizontal. Fibras mais espessas com cerca de 0,019 mm de diâmetro. No lado esquerdo do corpo a musculatura segue o mesmo padrão, porém com menor número de fibras (oito); musculatura não se sobrepõe ao tubo digestório. Musculatura longitudinal dos sifões não organizada em feixes; musculatura circular formada por uma grande quantidade de fibras em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de aproximadamente 22 tentáculos orais, de dois tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,2-0,3 mm de comprimento; tentáculos inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado duplo, de margens lisas, levemente ondulado; anel ciliado a 0,15 mm de distância do anel de tentáculos, sem papilas na região entre anéis. Tubérculo dorsal pouco conspícuo. Área peritubercular reta. Lâmina dorsal subdivididas em linguetas longas e estreitas formadas pelo prolongamento dos vasos transversais; lâmina basal não observada; lâmina dorsal termina anteriormente à abertura esofágica. Ausência de papilas no entorno ou de projeções à direita da abertura esofágica. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,15 mm no lado direito e 0,24 no lado esquerdo. Faringe lisa, com 11 vasos longitudinais de cada lado; quatro vasos transversais (cinco fileiras de fendas); duas fendas longitudinais por malha (aproximadamente 23 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,09 mm de altura, sob os vasos longitudinais. Ausência de vasos parastigmáticos e papilas intermediárias. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: ocupa quase metade da parede corporal, na região média e posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago alongado ou em formato de barril, de paredes lisas, apenas com um sulco longitudinal. Intestino isodiamétrico, com alça intestinal primária fechada e alça secundária aberta; alça intestinal primária entre a 3^a-4^a fileira de fendas. Presença de uma constrição na região proximal do intestino, pouco após o estômago. Ânus a 0,4 mm de distância do anel de tentáculos (entre 2^a-3^a fileira de fendas), próximo ao sifão atrial.

Gônadas: testículo formado por um único folículo grande, piriforme, localizado no centro da alça intestinal primária (ocupa quase toda a área disponível). Ovário e gonodutos não observados. Presença de até duas larvas incubadas na região posterior da cavidade atrial do lado direito do corpo. Larvas de corpo arredondado (aproximadamente 0,56 mm de diâmetro ântero-posterior), três largas papilas adesivas sésseis e cauda completando $\frac{2}{3}$ de volta no corpo; oozóide com quatro fileiras de fendas, estômago liso e intestino com duas constrições.

Distribuição Geográfica: Bermuda, Cuba, Jamaica, Porto Rico, Guadalupe, Martinica, Belize, Panamá, Bonaire, Brasil (AL, ES, SP, PR, SC), Senegal, Serra Leoa, Gana, Moçambique, Madagascar, Timor Leste, Japão, Austrália, Micronésia, Nova Caledônia, Polinésia Francesa (Monniot C. 1983; Kott 1985; Monniot C. 1987; Monniot C. & Monniot F. 1987; Goodbody 1994; Monniot C. 1997; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: *P. multiclathrata* possui uma musculatura corporal peculiar que, aliada à presença de cinco fileiras de fendas na faringe, estômago alongado e ao testículo formado por um único lobo bem desenvolvido, torna sua identificação simples (Kott 1985; Goodbody 1994; Monniot C. 1997). Os zooides da espécie são incolores ou levemente amarelados, alcançam até 3,5 mm de comprimento total e são comumente sésseis, mas às vezes podem possuir um curto pedúnculo; apresentam sete lobos em cada sifão, 12-20 tentáculos orais, anel ciliado ondulado, lâmina dorsal com uma membrana na base unindo as quatro linguetas, faringe com 12-20 fendas por meia fileira, estômago alongado e com uma fenda longitudinal, ovário na região da base do espermiduto e incubação de larvas em uma bolsa dentro da cavidade atrial do lado direito do corpo (Nishikawa 1984; Kott 1985; Goodbody 1994). Apesar do maior número de lobos sifonais observado, isso por si só não é suficiente para pôr em dúvida a identidade dos materiais.

Perophora viridis Verrill, 1871

Material examinado: 48 – 1 colônia; Marina, Ilha Colon, Bocas del Toro, Panamá (09°20'08"N; 82°14'48"W); 25.VI.2011; col. R.M. Rocha

DZUP PERO 24 – 1 colônia; Marina Mercado Modelo, Salvador, BA, Brasil (12°58'21"S; 38°30'56"W); 02.III.2012; col. I.M. Neves

DZUP PEROPH 07 – 1 colônia; costão esquerdo, Itapema, SC, Brasil (27°05'57"S; 48°36'54"W); 13.X.1996; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: colônias formadas por pequenos zooides próximos entre si, mas não agrupados, unidos por um estolão na região posterior ventral do corpo. Um pouco de sedimento fino pode ser encontrado sobre a colônia. Zooide com até 2,5 mm de comprimento total. Túnica transparente e incolor após a fixação, de superfície lisa e consistência pergaminosa, extremamente fina (não foi possível medir a espessura). Ausência de projeções na túnica; os zooides se ligam ao estolão diretamente pela parede do corpo, sem pedúnculo.

Animal sem túnica: corpo de formato arredondado, quase quadrangular, com 1,0-2,1 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 0,9-1,3 mm de largura. Sifão oral apical e curto, com 0,07-0,15 mm de comprimento e 10-15 lobos; sifão atrial quase na metade do corpo, na região 2ª fileira de fendas (0,4-0,8 mm de distância da base do sifão oral), com 0,03-0,09 mm de comprimento e 6-10 lobos; Lobos de ambos os sifões longos, estreitos, de margem triangular e lisa. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado próximo ao sifão oral, a 0,06-0,2 mm da base do mesmo.

Musculatura: musculatura de ambos os lados do corpo formada por poucas fibras finas, espaçadas entre si (aproximadamente 7-13 fibras de cada lado, as mais espessas com 0,01-0,019 mm de diâmetro). As fibras se prolongam de forma oblíqua, principalmente desde a região intersifonal (pode haver algumas fibras posteriores ao sifão atrial) até no máximo $\frac{1}{3}$ da largura do corpo. No lado esquerdo do corpo, musculatura não se sobrepõe ao tubo digestório. Musculatura longitudinal dos sifões não observada; musculatura circular formada por poucas fibras, mas bem agrupadas.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 13-29 tentáculos orais (mais comumente até 20 tentáculos), de dois tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,1-0,3 mm de comprimento; tentáculos inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,06-0,15 mm de distância do anel de tentáculos, de forma similar nos dois lados do corpo; ausência de papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em U, sem pontas enroladas, com 0,01-0,02 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular formando um pequeno V. Lâmina dorsal subdividida em linguetas formadas pelo prolongamento dos vasos transversais, sem uma lâmina na base que as una; lâmina dorsal termina junto à abertura esofágica. Ausência de papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,16-0,26 mm no lado direito e 0,11-0,21 no lado esquerdo. Faringe lisa, com 7-9 vasos longitudinais de cada lado; três vasos transversais (quatro fileiras de fendas); 1-2 fendas longitudinais por malha (14-20 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,04-0,11 mm de altura, sob os vasos longitudinais. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: volumoso, ocupa a região média e posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado ou em formato de barril, de paredes lisas. Intestino isodiamétrico, com alça intestinal primária fechada na altura da 2ª e 3ª fileira de fendas; alça secundária aberta. Presença de duas fortes constrições na região ascendente do intestino, uma no início e outra no final desta. Ânus de margem bilobada a 0,5-0,8 mm de distância do anel de tentáculos (ao final da terceira fileira de fendas).

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária. Ovário formado por aproximadamente cinco ovócitos agrupados na região central da alça intestinal primária, em diferentes estágios de maturação; maior ovócito com 0,076 mm de diâmetro. Testículo formado por até seis folículos longos e grossos, pareados entre si, totalmente inseridos no interior da alça intestinal primária, próximos à mesma; testículo ventral em relação ao ovário. Abertura dos gonodutos não observada. Presença de até oito larvas incubadas na cavidade atrial; larvas de corpo arredondado com aproximadamente 0,3 mm de diâmetro ântero-posterior e cauda completando $\frac{3}{4}$ de volta no corpo.

Distribuição Geográfica: Bermuda, EUA (Maine até Carolina do Norte, Flórida), Jamaica, Porto Rico, Guadalupe, Belize, Panamá, Bonaire, Guiana, Suriname, Brasil

(BA até SC), Açores, Serra Leoa, Nova Caledônia, Polinésia Francesa (Van Name 1945; Monniot C. 1983, 1987; Monniot C. & Monniot F. 1987; Goodbody 1994; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: de acordo com a literatura, *P. viridis* é caracterizada por apresentar zooides com até 3,5 mm de comprimento total, seis ou mais lobos triangulares nos sífões, manto com cerca de 12 curtas fibras musculares que se estendem até aproximadamente $\frac{1}{4}$ do comprimento do zooide, 20-24 tentáculos orais, faringe com 17-20 fendas por meia fileira e oito vasos longitudinais incompletos, ânus bilobado, quatro folículos testiculares periformes e ovário dorsal à gônada masculina (Van Name 1945; Goodbody 1994).

O padrão de musculatura corporal de *P. viridis* é bastante diferente daquele encontrado em outras espécies do Atlântico oeste, porém é similar ao de *P. listeri* Wiegman, 1835, espécie comum no Atlântico europeu. No entanto, *P. listeri* pode ser diferenciada por possuir um longo pedúnculo que une os indivíduos ao estolão, zooides com até quatro milímetros de comprimento, apenas seis lobos no sífão oral e cinco no atrial, até 40 tentáculos orais, 20-24 fendas por fileira na faringe, ausência de vasos longitudinais (apenas as papilas estão presentes) e larvas incubadas em uma bolsa dentro da cavidade atrial.

Perophora sp.

Material examinado: DZUP PERO 16 – 1 colônia; Lado Norte, Ilha de Alcatrazes, SP, Brasil (24°07'02"S; 45°42'01"W); 03.V.2002; col. R.M. Rocha

DZUP PEROPH 13 – 1 colônia; Lado Sul, Ilha de Currais, PR, Brasil (25°44'12"S; 48°22'W); 12.0 m; 19.VII.2002; col. S.B. Faria

DZUP PERO 18 – 1 colônia; Ponta do Farol, Ilha do Arvoredo, SC, Brasil (27°16'55"S; 48°22'40"W); 09.XI.2003; col. R.M. Rocha

DZUP PEROPH 11 – 1 colônia; Saco d'Água, Ilha do Arvoredo, SC, Brasil (27°16'51"S; 48°22'42"W); 10.0 m; 27.I.2000; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: colônias formadas por zooides eretos, um pouco espaçados entre si, com um pedúnculo longo e espesso na região posterior do corpo que os une ao estolão. Pequenos fragmentos calcários podem estar aderidos ao estolão. Zooide com até 5,2 mm de comprimento total. Túnica transparente e incolor após a fixação, de superfície lisa e consistência pergaminosa, extremamente fina. Ausência de projeções na túnica, além do pedúnculo que une o zooide ao estolão.

Animal sem túnica: corpo de formato alongado, com 2,0-3,9 mm de comprimento do anel de tentáculos até a margem posterior do corpo, e 1,6-3,3 mm de largura. Ambos os sifões de tamanho similar (variando entre 0,16-0,7 mm de comprimento) e 6-8 lobos amplos, arredondados, curtos (em alguns zooides os lobos são quase indistintos) e de margem lisa. Sifão atrial anterior ao oral (0,4-0,6 mm de distância da base do sifão oral). Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado a 0,09-0,24 mm da base do sifão oral.

Musculatura: lado direito do corpo com 33-47 fibras longas, que, apesar de se cruzarem em alguns pontos, se mantém mais ou menos paralelas entre si. A musculatura se estende desde a região intersifonal e a margem ventral até o lado oposto do corpo, entre a base do sifão atrial até a região posterior do corpo. Fibras com até 0,023 mm de espessura. Lado esquerdo com o mesmo padrão, porém com 25-58 fibras que cobrem apenas metade da largura corporal (não se sobrepõe ao tubo digestivo). Musculatura longitudinal dos sifões não organizada; musculatura circular não muito densa, formada por 13-17 fibras.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 22-45 tentáculos orais (geralmente acima de 34 tentáculos), de três tamanhos diferentes, os maiores medindo 0,3-0,8 mm de comprimento; tentáculos inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado duplo, de margens lisas, a 0,07-0,18 mm de distância do anel de tentáculos, medidos pelo lado direito do corpo (lado esquerdo pode ser um pouco mais estreito), sem relação com o comprimento do zooide; ausência de papilas na região entre anéis. Abertura do tubérculo dorsal em fenda circular, com 0,02-0,05 mm de diâmetro ântero-posterior. Área peritubercular quase reta. Lâmina dorsal subdivididas em longas linguetas formadas pelo prolongamento dos vasos transversais, em geral sem uma lâmina na base que as une (apenas em um zooide de DZUP PERO 18 foi encontrada uma lâmina); lâmina dorsal termina pouco antes da abertura esofágica. Ausência de

papilas próximo à entrada do esôfago ou de projeções à direita da mesma. Distância da lâmina dorsal ao primeiro vaso longitudinal de 0,18-0,36 mm em ambos os lados do corpo. Faringe lisa, com 8-12 vasos longitudinais de cada lado, muitas vezes interrompidos; três vasos transversais (quatro fileiras de fendas); 2-3 fendas longitudinais por malha (24-36 fendas por meia fileira); papilas primárias simples com 0,08-0,14 mm de altura, sob os vasos longitudinais. Vasos parastigmáticos e papilas intermediárias ausentes. Faringe não se prolonga após o estômago. Endóstilo de margem lisa.

Tube digestório: volumoso, ocupa a região média e posterior do lado esquerdo do corpo. Estômago arredondado ou oblongo, de paredes lisas. Intestino isodiamétrico, com alça intestinal primária fechada na altura da 2^a-3^a fileira de fendas; alça secundária ausente. Presença de duas fortes constrições no intestino, uma no início da região ascendente do intestino e outra no meio desta. Ânus de margem lisa ou bilobada a 0,2-0,8 mm de distância do anel de tentáculos (2^a-3^a fileira de fendas).

Gônadas: localizadas no interior da alça intestinal primária. Ovário formado por 4-5 ovócitos agrupados na região entre o estômago e o intestino; maior ovócito com até 0,24 mm de diâmetro. Testículo completamente inserido no interior da alça intestinal primária, posterior ao ovário, formado por 15-24 folículos grandes, de formato irregular, agrupados formando uma massa compacta esférica. Abertura dos gonodutos e larvas não observadas.

Distribuição Geográfica: Brasil (SP, PR, SC).

Comentários: *Perophora regina* Goodbody & Cole, 1987 se assemelha a *Perophora* sp. por possuir zooides com até 6,0 mm de comprimento total, oito lobos lisos e quase indistintos no sifão oral, fibras musculares recobrimdo toda a parede do corpo, faringe com quatro fileiras de fendas, 11-12 papilas primárias de cada lado, intestino sem alça intestinal secundária, e gônadas restritas ao interior da alça intestinal primária (Goodbody & Cole 1987). Provavelmente por ser a única espécie do Atlântico com musculatura recobrimdo toda a parede do corpo somada a essas outras semelhanças, os materiais aqui estudados haviam sido inicialmente identificados como pertencentes a *P. regina*. Entretanto, a própria disposição das miofibras é distinta: em *P. regina* elas são oblíquas, partindo da base do sifão oral até a região posterior do corpo (Goodbody & Cole 1987); já em *Perophora* sp. as fibras são perpendiculares à margem ventral do

corpo e estendem-se até próximo à dorsal. Além disso, *P. regina* tem como segunda característica bem marcante a ausência de vasos longitudinais completos na faringe, existindo apenas papilas trífidas (Goodbody & Cole 1987). Nos zooides dissecados de *Perophora* sp. foram encontradas papilas trífidas em partes da faringe, principalmente do lado direito, porém sempre havia também regiões com vasos completos. Outras diferenças entre as duas espécies são a posição posterior do sifão atrial, o menor número de tentáculos orais (20-24), faringe com 35-40 fendas por meia fileira e testículo com apenas 12-15 folículos em *P. regina* (Goodbody & Cole 1987).

Se para o oceano Atlântico nenhuma outra espécie do gênero é conhecida com o sifão atrial posicionado anteriormente e fibras musculares recobrimdo toda a parede corporal, para o Pacífico há o registro de *P. namei* Hartmeyer & Michaelsen, 1928, que também apresenta 7-9 lobos nos sifões, 12-30 tentáculos orais, faringe com quatro fileiras de fendas e vasos longitudinais nem sempre completos (Van Name 1918; Kott 1985). As diferenças com *Perophora* sp. residem no menor tamanho dos zooides (até 4,0 mm de comprimento total), na presença de glóbulos amarelo amarronzados na parede do corpo e órgãos digestivos, sifões sésseis, 35-50 fendas por meia fileira (o número aumenta da primeira para a quarta fileira), 15-16 papilas primárias de cada lado, tubo digestivo pouco volumoso, localizado na região dorsal próxima ao sifão atrial, e ânus com margem lobada (Van Name 1918; Kott 1985).

Assim como o presente material, *P. modificata* Kott, 1985 também possui o corpo alongado, sifão atrial anterior, musculatura corporal formada por fibras que partem de toda a margem onde está o sifão oral até a margem oposta, quatro fileiras de fendas, 12-15 papilas primárias, vasos longitudinais às vezes interrompidos e tubo digestivo longo (Kott 1985). No entanto, por apresentar sifões sésseis, 10 lobos no sifão oral, projeção ventral da parede do corpo para dentro do pedúnculo de ligação com o estolão, faringe com cerca de 40 fendas por meia fileira, e apenas 10 folículos testiculares, *P. modificata* pode ser claramente diferenciada de *Perophora* sp. É possível que esta seja uma nova espécie para o gênero, porém ainda é necessária uma revisão mais detalhada da literatura.

Além das famílias aqui apresentadas, há ainda outras três que são tradicionalmente classificadas como parte de Phlebobranchia: Dimeatidae, Octacnemidae e Plurellidae. Nenhuma destas pôde ser amostrada nesta pesquisa e por isso não constam nas descrições acima. No entanto, um breve resumo de cada será apresentado abaixo a fim de torna-las conhecidas para uma revisão mais completa no futuro.

Dimeatidae Sanamyan, 2001

Formada por um único gênero (*Dimeatus*) e duas espécies (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016) encontradas exclusivamente em grandes profundidades, tem como principais características diagnósticas a presença de dois sifões atriais (um de cada lado do corpo) e a intrusão de ambos gonodutos na túnica, com múltiplas aberturas diretamente para o meio exterior – diferentemente de todos os outros Ascidiacea, cujos gonodutos abrem-se na cavidade atrial (Monniot C. & Monniot F. 1982; Sanamyan 2001). Além disso, possui a lâmina dorsal em linguetas, a faringe apresenta papilas simples sob os vasos longitudinais completos ou incompletos (as papilas estão sobre os vasos transversais), não há fendas, e o tubo digestivo e as gônadas encontram-se posteriores à faringe (Monniot C. & Monniot F. 1982; Sanamyan 2001).

Octacnemidae Herdman, 1888

Composta apenas por espécies de grandes profundidades, a família é composta por 27 espécies divididas em 10 gêneros: *Benthascidia*, *Cibacapsa*, *Cryptia*, *Dicopia*, *Kaikoja*, *Megalodicopia*, *Myopegma*, *Octacnemus*, *Polyoctacnemus*, *Situla*. São extremamente adaptados ao ambiente em que vivem e em pouco se assemelham às demais ascídias. Os sifões orais são hipertrofiados e adaptados para a macrofagia; já a faringe é bastante reduzida e as perfurações irregulares não são ciliadas (Monniot C. 1998). O tubo digestivo e as gônadas encontram-se na região posterior ventral do corpo (Monniot C. & Monniot F. 1983; Monniot F. & Monniot C. 2003).

Plurellidae Kott, 1973

Formada por apenas dois gêneros: *Plurella*, de espécies coloniais (sete espécies identificadas), e *Microgastra*, de uma única espécie solitária (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016). Tem como principais características a presença de aberturas acessórias, lâmina dorsal em membrana, faringe com vasos longitudinais completos, papilas expostas ao lúmen da faringe, fendas retas, tubo digestivo do lado esquerdo do corpo e gônadas próximas, mas não associadas à alça intestinal (tanto testículo quanto ovário encontram-se aderidos à parede do corpo, como em *Stolidobranchia*) (Kott 1973; Kott 1985). As espécies de Plurellidae não são encontradas em águas rasas (Kott 1973; Kott 1985).

Cionidae e Diazonidae

Tradicionalmente consideradas parte de Phlebobranchia, provavelmente não correspondem à ordem, conforme as análises filogenéticas apresentadas no capítulo I desta mesma tese. Dessa forma, as descrições das espécies destas famílias dissecadas no presente estudo serão aqui apresentadas em separado, ressaltando a dubiedade da validade de Cionidae e Diazonidae como Phlebobranchia.

Cionidae Lahille, 1887

Composta tradicionalmente por três gêneros (*Araneum*, *Ciona* e *Tantillulum*) e 18 espécies (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016), a família é representada por espécies solitárias, de túnica macia, tubo digestivo e gônadas posteriores à faringe (Van Name 1945; Monniot C. & Monniot F. 1973, 1984). Estas são características comuns aos três gêneros, o que deixa a descrição do grupo bastante vaga. Isso se deve ao fato de que tanto *Araneum* quanto *Tantillulum* serem bastante modificados. Ambos são restritos a grandes profundidades (apenas *Ciona* é encontrada em águas costeiras) e não possuem fendas ciliadas na faringe, sendo reduzidas a simples aberturas longitudinais (Monniot C. & Monniot F. 1973, 1984). Além disso, em *Araneum* há somente vasos transversais com papilas simples (Monniot C. & Monniot F. 1973) e em *Tantillulum* tanto os vasos longitudinais quanto as papilas da faringe estão ausentes (Monniot C. & Monniot F.

1984). Ambos os gêneros são classificados em Cionidae apenas devido ao hábito solitário e à posição do tubo digestivo e gônadas, sendo que o primeiro caracter não é significativo para determinar relações evolutivas. Além disso, a ausência de fendas ciliadas e de vasos longitudinais e papilas na faringe são também encontradas em outra família abissal, Hypobythiidae. Kott (1990) já considera que apenas *Ciona* representa Cionidae e sugere que *Araneum* seja parte de Ascidiidae (nenhum comentário a respeito de *Tantillulum* é feito). Não foi possível incluir nenhuma espécie de *Araneum* ou *Tantillulum* nas análises filogenéticas para determinar suas relações com outros gêneros, porém devido a pouca consistência de argumentação para a inclusão de ambos em Cionidae é possível que esta família seja realmente monogenérica, como proposto por Kott (1990).

Ciona Fleming, 1822

Espécie-tipo: *Ciona intestinalis* (Linnaeus, 1767)

Indivíduos com sífões próximos entre si, feixes musculares longitudinais bem desenvolvidos na parede do corpo, faringe com numerosas fileiras de fendas, papilas que se sobrepõem aos vasos longitudinais completos, fendas retas, presença de aberturas do epicárdio e alça intestinal na horizontal (Van Name 1945; Berrill 1950; Kott 1990). São reconhecidas 15 espécies de *Ciona* para o mundo (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016).

Ciona robusta Hoshino & Tokioka, 1967

Material examinado: DZUP CIO 04 – 1 ind.; Saco do Funil, Ilha de Alcatrazes, SP, Brasil (24°06'S; 45°42'W); 8.0-20.0 m; 03.V.2002; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: Indivíduo fixado ao substrato pela região posterior esquerda do corpo, apresenta a túnica recoberta por epibiontes (briozoários e colônias de Didemnidae). Indivíduo isolado, com 7,3 cm comprimento total. Túnica esbranquiçada e semitransparente, de consistência gelatinosa apesar de espessa (aproximadamente 4,0 mm de espessura). Apresenta projeções arredondadas nas laterais do corpo, principalmente na região anterior do corpo.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 5,8 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 2,2 cm de largura. Parede do corpo transparente. Sifões curtos (1,5-1,6 cm de comprimento cada); oral com oito lobos e atrial com seis; lobos de ambos os sifões arredondados, largos e de margem lisa. Sifão atrial no terço anterior do corpo, a 0,9 cm de distância da base do sifão oral. Ocelos não observados. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão oral, a 4,75 mm de distância do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal dos dois lados do corpo formada por finas fibras transversais completas que se cruzam com feixes de fibras longitudinais espessas (0,3 mm) que seguem até a margem posterior do corpo. Lado direito com quatro feixes longitudinais saindo do sifão oral e dois que partem do sifão atrial; do lado esquerdo há apenas dois feixes do sifão oral, outros dois do atrial e um feixe que parece partir da região mediana entre os sifões. Musculatura longitudinal nos sifões organizada também em feixes. Musculatura circular dos sifões densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 106 tentáculos orais simples, de dois tamanhos diferentes, os maiores medindo 5,2 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular espesso. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Distância entre anel ciliado e tentáculos orais similar ao longo de todo o perímetro (1,8-1,9 mm). Área peritubercular em um pequeno V. Abertura do tubérculo dorsal em U com as pontas enroladas para dentro, com 0,9 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal não dupla anteriormente, formada por linguetas longas unidas na base por uma lâmina; tais linguetas são resultado do prolongamento de vasos transversais da faringe, porém não de todos (entre cada lingueta há 1-2 vasos que não se prolongam além da faringe). Lâmina dorsal termina junto à abertura do esôfago, não se prolongando além do tubo digestório. Não há papilas na área próxima à abertura do esôfago ou projeções à direita desta (opostas à lâmina dorsal). Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de aproximadamente 0,6 mm em ambos os lados do corpo. Faringe lisa, com 35 vasos longitudinais à direita e 33 vasos à esquerda; 115 vasos transversais; 8-9 fendas longitudinais por malha; papilas primárias bilobadas com 0,4 mm de altura; presença de vasos parastigmáticos, porém não há papilas intermediárias. Endóstilo levemente sinuoso e de margem lisa; presença de uma extensão do endóstilo em forma de gancho, na região posterior do corpo.

Tube digestório: pequeno, restringe-se à região posterior do corpo. Estômago pequeno e alongado, com pelo menos 33 pregas internas (parte do estômago não observada). Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e alça secundária bem ampla; reto longo e em posição vertical; ânus de margem multilobada, localizado a 12,5 mm do anel de tentáculos orais, próximo ao sifão atrial.

Gônadas: ovário saculiforme, de coloração avermelhada mesmo após a fixação, totalmente inserido na alça intestinal primária, sendo visível tanto pela face interna do corpo quanto pela externa. Ovócitos com até 0,16 mm de diâmetro. Testículo ramificado sobre estômago e parte do intestino, com folículos piriformes um pouco alongados. Gonodutos conspícuos externa e internamente, abrem-se anteriormente ao ânus. Abertura do espermiduto com margem multilobada.

Distribuição Geográfica: Brasil (SP), Argentina, Inglaterra, Itália, Japão (Hoshino & Tokioka 1967; Rocha & Bonnet 2009; Brunetti *et al.* 2015).

Comentários: as principais características da espécie são a túnica mais espessa e a presença de tubérculos ao longo da superfície da mesma, em especial ao redor dos sifões (Hoshino & Tokioka 1967; Brunetti *et al.* 2015). Uma revisão do gênero sinonimizou *C. robusta* a *C. intestinalis* (Hoshino & Nishikawa 1985), porém análises genéticas recentes identificaram duas espécies crípticas sob o nome de *C. intestinalis*, denominadas Tipo A e Tipo B (Sato *et al.* 2012; Brunetti *et al.* 2015), que só agora puderam ser separadas por caracteres morfológicos e que corroboraram a existência de *C. robusta* (Brunetti *et al.* 2015). Provavelmente exemplares identificados como *C. intestinalis* na verdade correspondem a *C. robusta*, exigindo uma revisão dos materiais já descritos.

O indivíduo aqui estudado havia sido previamente identificado como *C. intestinalis* (ver Rocha & Bonnet 2009), tendo sido considerado as diferenças como variações intraespecíficas, conforme o trabalho de Hoshino & Nishikawa (1985). Com a revalidação de *C. robusta*, foi feita a reclassificação do espécime. No entanto, algumas diferenças permanecem, como o menor número de feixes musculares no lado esquerdo do corpo (cinco) e a grande quantidade de tentáculos orais (cerca de 106) – *C. robusta* é descrita com seis feixes musculares em ambos os lados do corpo e 30-60 tentáculos orais (Hoshino & Tokioka 1967). Nenhum autor descreve variações nesse número de feixes musculares de um dos lados do corpo, mas Brunetti *et al.* (2015) comentam que o

número de tentáculos varia conforme o tamanho do indivíduo, sem citar números. A presença de projeções na túnica é bastante característico de *C. robusta* e, como os demais caracteres estão de acordo com a literatura, preferiu-se identificar o material como pertencente a esta espécie.

Ciona cf. savignyi

Material examinado: DZUP CIO 05 – 5 ind.; Brudennel River, Prince Edward Island, Canadá (46°11'N; 62°35'W); cultivo de mexilhões; X.2007; col. R.M. Rocha

DZUP CIO 03 – 1 ind.; Port Vendres, França (42°31'N; 03°06'24"E); VII.1992; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: pode formar grandes agregados, com indivíduos de até 15,3 cm de comprimento total. Fixa-se ao substrato pela região posterior do corpo. Superfície da túnica lisa, livre de incrustações ou epibiontes. Túnica incolor e transparente, fina (0,12-0,2 mm de espessura), de consistência gelatinosa e superfície lisa. Ausência de projeções.

Animal sem túnica: corpo alongado, com 3,5-6,6 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior (geralmente entre 3,5-4,8 cm), e 1,0-2,3 cm de largura. Parede do corpo transparente; sífões apicais e curtos (com 0,5-1,2 cm de comprimento cada). Sífão oral com oito lobos e atrial com seis; lobos de ambos os sífões arredondados, largos e de margem lisa. Presença de ocelos de coloração laranja entre os lobos sifonais; em alguns espécimes também há um anel alaranjado ao redor da borda dos sífões. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sífão oral, distante 0,75-3,1 mm do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal dos dois lados do corpo formada por finas fibras transversais completas distribuídas ao longo de todo o corpo que se cruzam com feixes de espessas fibras longitudinais (0,2-0,3 mm). Presença de três ou quatro feixes saindo do sífão oral e outros dois que partem do sífão atrial, em cada lado do corpo. Nos sífões a musculatura longitudinal encontra-se organizada nos mesmos feixes que depois seguem ao longo do corpo. A musculatura circular dos sífões é pouco densa.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 18-62 tentáculos orais simples (mais comumente entre 40-55), de 2-3 tamanhos diferentes, com os maiores medindo 1,9-3,7 mm de comprimento; tentáculos inseridos em um anel muscular. Anel ciliado duplo, sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Distância entre anel ciliado e tentáculos orais de 0,9-2,4 mm, medidos do lado direito do corpo (similar em ambos os lados, sendo que quanto maior o indivíduo maior a distância entre anel ciliado e tentáculos orais). Área peritubercular pequena e arredondada; abertura do tubérculo dorsal em C ou U com as pontas levemente curvadas para dentro e com 0,5-0,9 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal simples anteriormente, dividida em longas linguetas unidas na base por uma lâmina, que terminam junto à abertura do esôfago; linguetas formadas pelo prolongamento de alguns vasos transversais da faringe (distância entre linguetas de 1-3 vasos transversais). Ausência de papilas na área próxima à abertura do esôfago ou projeções à direita desta. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,8 mm em cada lado. Faringe lisa, com 29-35 vasos longitudinais à direita e 26-31 vasos à esquerda; 136-241 vasos transversais; 6-9 fendas longitudinais por malha; papilas primárias bilobadas com 0,15-0,3 mm de altura; presença de vasos parastigmáticos. Em algumas partes da faringe podem ser observadas pequenas papilas intermediárias. Endóstilo bastante sinuoso e de margem lisa. Apêndice endostilar ausente.

Tubo digestório: pequeno, restrito à região posterior do corpo. Estômago alongado, com 32-40 pregas longitudinais internas. Intestino isodiamétrico, com alça primária fechada e alça secundária ampla; reto longo e em posição vertical; ânus de margem multilobada, localizado a 8,7-20,7 mm do anel de tentáculos orais, bem posterior ao sifão atrial.

Gônadas: ovário saculiforme, totalmente inserido na alça intestinal primária, sendo visível tanto pela face interna do corpo quanto pela externa. Ovócitos com até 0,2 mm de diâmetro. Testículo formado por folículos longos distribuídos sobre todo o tubo digestório. Abertura dos gonodutos anteriores ao ânus, sendo a do espermiduto com margem multilobada; ambos os gonodutos são conspícuos externa e internamente.

Distribuição Geográfica de *C. savignyi*: Japão, EUA (Pacífico), Canadá (Pacífico) (Hoshino & Nishikawa 1985; Nishikawa 1991; Lambert C. & Lambert G. 1998; Lambert G. 2003).

Comentários: bastante similar a *C. intestinalis*, *C. savignyi* se diferencia principalmente pela ausência do apêndice endostilar e as aberturas faríngeo-epicárdicas localizadas próximo ao esôfago (Hoshino & Nishikawa 1985; Lambert G. 2003). Além disso, *C. savignyi* possui nódos brancas na parede do corpo, 5-6 feixes de fibras musculares longitudinais de cada lado do corpo, até 50 tentáculos orais, aberturas genitais distantes do ânus e espermiduto não pigmentado (Hoshino & Nishikawa 1985; Lambert G. 2003). As amostras dissecadas concordam com a maior parte dessas características, diferindo apenas na ausência de pigmentação na parede do corpo e no maior número de tentáculos orais (até 62). Essa diferença no número de tentáculos não chega a ser muito grande, podendo ser considerada simplesmente uma variação intraespecífica. O que torna a identificação realmente duvidosa é o fato de não terem sido observadas as aberturas faríngeo-epicárdicas, sendo considerado preferível não afirmar com certeza a identidade dos espécimes.

Uma diferença notada entre *Ciona* cf. *savignyi* e *C. robusta* e o exemplar de *C. robusta* dissecado neste trabalho é na aparência do endóstilo: no primeiro ele é bastante sinuoso, enquanto que no segundo é quase reto. Esse é um caracter que não havia sido comentado até agora nas descrições. Como apenas um indivíduo de *C. robusta* foi analisado, pode ser que não seja algo significativo, mas seria interessante prestar atenção nisso no futuro. As papilas intermediárias encontradas na faringe de alguns indivíduos de *Ciona* cf. *savignyi* podem ser apenas indicativas do crescimento do indivíduo, não devendo ser considerado um caracter significativo.

Diazonidae Seeliger, 1906

Família composta por 38 espécies entre cinco gêneros, sendo dois gêneros de indivíduos solitários (*Rhopalaea* e *Pseudorhopalaea*) e os outros três tipicamente coloniais (*Diazona*, *Pseudodiazona*, *Tylobranchion*). Todas as espécies apresentam corpo dividido em tórax e abdome, faringe com vasos longitudinais completos ou incompletos, fendas retilíneas, lâmina dorsal subdividida em linguetas, tubo digestivo e gônadas localizados posteriormente à faringe, na região do abdome (Van Name 1945; Berrill 1950; Kott 1990).

Rhopalaea Philippi, 1843

Espécie-tipo: *Rhopalaea neapolitana* Philippi, 1843

Táxon caracterizado por indivíduos grandes, geralmente solitários, porém algumas espécies podem se reproduzir assexuadamente e formar pequenos grupos (máximo de 2-3 indivíduos juntos) (Van Name 1945; Berrill 1950). Possui no mínimo 50 fileiras de fendas na faringe (Berrill 1950) e a capacidade de regeneração de partes do corpo quando danificadas, especialmente no tórax (Kott 1990). São reconhecidas 20 espécies para o gênero (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016).

Rhopalaea abdominalis (Sluiter, 1898)

Material examinado: DZUP RHOP 07 – 1 ind.; STRI bay, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°21'04"N; 82°15'32"W); sobre *Herdmania* sp.; 09.VIII.2003; col. R.M. Rocha

DZUP RHOP 11 – 1 ind.; Mangrove Inn, Ilha Colón, Bocas del Toro, Panamá (09°19'55"N; 82°15'14"W); 07.VIII.2003; col. R.M. Rocha

Morfologia externa: Quando vivo possui coloração arroxeadada, e fixa-se ao substrato pela região posterior do corpo. Túnica livre de incrustações ou epibiontes. Maior indivíduo com 4,4 cm comprimento total. Túnica opaca, de consistência macia, apesar de bastante espessa (1,9-3,8 mm de espessura). Superfície lisa, apenas com grandes projeções digitiformes ou irregulares na região posterior do corpo.

Animal sem túnica: corpo dividido em tórax (faringe) e abdome (tubo digestório), separados por uma forte constrição. Tórax com 1,4-1,7 cm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 0,4-1,1 cm de largura. Abdome de comprimento similar ao tórax (1,5-1,9 cm), porém mais estreito. Sifões curtos (0,1-0,4 cm de comprimento cada); oral apical, com oito lobos; atrial deslocado posteriormente 0,5-0,6 cm de distância do sifão oral (no ¼ anterior do corpo) e com seis lobos. Lobos de ambos os sifões arredondados, largos e de margem lisa. Ocelos bem pequenos, de coloração avermelhada. Gânglio nervoso localizado próximo à base do sifão oral, a 0,5-0,9 mm de distância do anel de tentáculos orais.

Musculatura: musculatura corporal dos dois lados do corpo formada somente por fibras longitudinais ou oblíquas, que partem da base do sifão oral e da região entre os sifões e seguem até o final do tórax, quando se curvam em direção à margem dorsal ou ventral. Fibras com aproximadamente 0,03 mm de espessura. Musculatura longitudinal nos sifões não organizada em feixes. Musculatura circular mais densa no sifão oral que no atrial.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de 17-25 tentáculos orais simples, de 2-3 tamanhos diferentes, os maiores com aproximadamente 1,5 mm de comprimento, bem espaçados entre si. Tentáculos com uma lâmina ampla unindo-os na base. Anel ciliado sem projeções; área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado sem papilas. Distância entre anel ciliado e tentáculos orais similar ao longo de todo o perímetro (0,8-1,1 mm), sendo que no maior indivíduo essa distância é maior. Área peritubercular em um pequeno V. Abertura do tubérculo dorsal irregular ou em U invertido, sem pontas enroladas para dentro, com 0,2-0,5 mm de diâmetro ântero-posterior. Lâmina dorsal simples anteriormente, formada por longas linguetas, sem lâmina basal, terminando junto à abertura do esôfago, na extremidade posterior do tórax. Área próxima à abertura do esôfago sem papilas no entorno ou projeções à direita. Distância da lâmina dorsal até o primeiro vaso longitudinal de 0,3-0,4 mm em ambos os lados do corpo. Faringe lisa, com 54-63 vasos longitudinais completos à direita e 55-58 vasos à esquerda; 69-71 vasos transversais; 4-6 fendas longitudinais por malha; papilas primárias simples, com 0,12-0,24 mm de altura, sob os vasos longitudinais; vasos parastigmáticos e de papilas intermediárias ausentes. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestório: localizado no abdome, ocupa toda região (apenas o reto se estende pelo tórax, aproximando o ânus da abertura atrial). Estômago de formato trapezoidal, em posição vertical, com cerca de 20 pregas longitudinais internas. Intestino isodiamétrico, em U, com alça primária fechada; alça secundária ausente. Reto longo; ânus de margem multilobada, localizado a 6,0-7,5 mm do anel de tentáculos orais, pouco posterior ao sifão atrial.

Gônadas: não observadas.

Distribuição Geográfica: EUA (Flórida), Cuba, Guadalupe, México, Belize, Panamá, Venezuela, Brasil (MA) (Millar 1977; Rocha *et al.* 2012).

Comentários: caracteristicamente com a coloração violeta em vida, a espécie pode chegar a até 6,5 cm de comprimento total, sendo o tórax igual ou maior que o abdome (Monniot C. 1983). De acordo com a literatura, apresenta seis lobos em cada sifão; musculatura corporal como a descrita acima, bem regular, com fibras mais ou menos paralelas entre si; até 40 tentáculos orais unidos por uma membrana larga na base; linguetas dorsais podem estar unidas por uma lâmina basal; faringe com 40-90 vasos longitudinais de cada lado, 40-100 vasos transversais, 2-4 pequenas fendas por malha e estômago com pouco mais de 20 pregas internas (Van Name 1945; Monniot C. 1983). As gônadas masculina e feminina encontram-se mescladas no interior da alça intestinal, sendo o ovário sacular e o testículo formado por numerosos e pequenos folículos periformes (Van Name 1945; Monniot C. 1983). Apesar da presença de oito lobos no sifão oral, do menor número de tentáculos orais e da ausência de gônadas no material dissecado, a coloração em vida, o padrão de musculatura corporal, a lâmina unindo os tentáculos orais e o número de pregas no estômago são bastante característicos e confirmam a identificação do material.

Tylobranchion Herdman, 1886

Espécie-tipo: *Tylobranchion speciosum* Herdman, 1886

Apenas três espécies de *Tylobranchion* foram identificadas (WoRMS, aceso em 02 de agosto de 2016). O gênero é formado por zooides completamente embebidos na túnica, com corpo dividido em três regiões (tórax, abdome e pós abdome), musculatura longitudinal estendendo-se até o pós abdome, vasos longitudinais incompletos, estômago pregueado, gônadas no pós abdome, com ovário posterior ao testículo (Kott 1990; Moreno & Rocha 2008).

Tylobranchion speciosum Herdman, 1886

Material examinado: DZUP DIAZ 03 – 2 ind.; 11.III.1997; PROANTAR XVI

Morfologia externa: colônia em formato de triângulo invertido, fixado ao substrato pela região basal da colônia. Túnica translúcida, de consistência gelatinosa (1,4-1,5 mm de

espessura) e superfície lisa, livre de incrustações ou epibiontes. Maior colônia com 1,71 cm de altura.

Animal sem túnica: corpo dividido em tórax (faringe), abdome (tubo digestivo) e pós abdome (gônadas), sem constrição para separação. Tórax com 2,5-2,8 mm de comprimento, medidos desde o anel de tentáculos orais até a margem posterior, e 2,1-2,4 mm de largura. Abdome mais longo (5,25-10,6 mm) e mais estreito. Sifões curtos (0,4-0,6 mm de comprimento cada), apicais e com seis lobos. Lobos de ambos os sifões arredondados, largos e de margem lisa. Ocelos e gânglio nervoso não observados.

Musculatura: musculatura corporal dos dois lados do corpo formada por 6-12 fibras longitudinais ou oblíquas, que partem da base do sifão oral e da região entre os sifões e seguem até o final do pós abdome. Fibras transversais completas encontram-se distribuídas por toda a parede do tórax. Fibras mais espessas com 0,04-0,06 mm de diâmetro. Musculatura longitudinal nos sifões não organizada em feixes. Musculatura circular densa em ambos os sifões.

Região anterior e faringe: parede interna do sifão oral lisa. Presença de sete tentáculos orais simples, de um único tamanho, com aproximadamente 0,3 mm de comprimento; tentáculos bem espaçados entre si, inseridos diretamente na parede do corpo. Anel ciliado simples, sem projeções. Área entre a linha de tentáculos e o anel ciliado e área peritubercular não observadas. Abertura do tubérculo dorsal em fenda simples. Lâmina dorsal não dupla anteriormente, formada por longas linguetas, sem lâmina basal. Lâmina dorsal termina junto à abertura do esôfago, na extremidade posterior do tórax. Não foram observadas papilas na área próxima à abertura do esôfago nem projeções à direita desta (opostas à lâmina dorsal). Faringe lisa, com 1-2 fendas longitudinais por malha; papilas primárias simples, com 0,09-0,1 mm de altura, sob vasos longitudinais incompletos. Não foi possível contar o número de vasos longitudinais e nem transversais. Ausência de vasos parastigmáticos e de papilas intermediárias. Endóstilo de margem lisa.

Tubo digestivo: localizado na metade anterior do abdome, apenas o reto se estende pelo tórax, aproximando o ânus da abertura atrial. Estômago de formato retangular, em posição vertical, com 12-14 pregas longitudinais externas. Intestino isodiamétrico, em U, com alça primária fechada; alça secundária ausente; reto longo. Abertura anal não observada.

Gônadas: localizadas no abdome e pós abdome, sobre o tubo digestório e posterior ao mesmo. Ovário posterior ao testículo. Folículos testiculares numerosos, piriformes.

Distribuição Geográfica: Ilhas Kerguelen, Ilhas Malvinas, South Shetland Islands, Antártica (Terre Adélie, Arco de Scotia, Knox Coast, Ross Sea, Weddell Sea) (Kott 1969; Monniot C. 1978; Monniot C. & Monniot F. 1994; Monniot F. *et al.* 2011; Tatian *et al.* 2005).

Comentários: os indivíduos examinados estão de acordo com a literatura. As variações incluem a presença de até 12 tentáculos orais, 14-20 fileiras de fendas, 25-30 fendas por meia fileira, 8-19 pregas no estômago, reto largo na região do tórax, ânus de margem lisa e incubação de larvas na cavidade atrial (Kott 1969; Monniot F. *et al.* 2011). Kott (1969) cita a presença de uma colônia patagônica em que os zooides não possuíam pregas no estômago. Por ser uma diferença tão grande em relação ao padrão de *T. speciosum*, preferiu-se não incluí-la como pertencente a esta espécie. Apesar de que no presente material as gônadas encontravam-se essencialmente recobrando o tubo digestório e apenas uma parte delas se estendia posteriormente, pode-se considerar que o corpo dos zooides de *T. speciosum* encontra-se dividido em três regiões, diferentemente do esperado para *Phlebobranchia*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A grande diversidade de formas encontrada em Phlebobranchia é notável, principalmente entre os animais oriundos de grandes profundidades. Filogeneticamente há indícios de que realmente não se trate de um táxon monofilético, porém apenas Cionidae e, talvez, Diazonidae não estariam inclusos na ordem, mantendo mesmo assim a alta variabilidade morfológica do grupo.

Infelizmente nota-se que há uma dificuldade na identificação correta de espécies. Em parte, isso é decorrente da existência de descrições díspares para uma mesma espécie, incompletas ou com uma ampla variação intraespecífica. Nesses casos, o acesso a holótipos e descrições originais é de grande valia, ajudando a esclarecer esse tipo de dúvidas. Um exemplo é o caso da amostra do Panamá de *Ascidia* sp., identificada inicialmente como *Ascidia* cf. *gemmata*. *Ascidia gemmata* apresenta diversas incongruências entre suas descrições conforme o autor, tanto em número de tentáculos orais e fendas por malha, quanto na aparência do tubérculo dorsal e do tubo digestivo, e por isso já havia sido impossível determinar exatamente se o espécime analisado correspondia ou não a *A. gemmata* (Bonnet *et al.* 2013). A comparação com a descrição original da espécie permitiu esclarecer a dúvida e chegar à conclusão de que o material panamenho não corresponde a *A. gemmata*, embora ainda não se saiba a qual espécie pertence. Revisões recentes de algumas espécies também auxiliam na identificação de algumas amostras (ex.: *Ciona robusta*). Já a análise de holótipos permite completar as descrições de várias espécies, o que foi importante principalmente no caso de espécies comuns (facilmente coletadas), uma vez que foram incluídos caracteres pouco ou nunca citados (aparência da parede interna do sifão oral e margem do endóstilo, por exemplo) e que revelaram ter certa estabilidade intraespecífica. Tais caracteres podem ajudar na correta identificação de amostras, evitando erros futuros.

A análise de espécimes de diferentes localidades é também bastante importante, pois permite a observação de variações intraespecíficas. Essas observações possibilitaram a distinção de espécies anteriormente identificadas sob o mesmo nome, como nos casos de *Ecteinascidia* sp. nov. 5 e *Ecteinascidia* sp. 7 – ambas identificadas previamente como *E. minuta* devido a caracteres gerais: coloração em vida, tamanho dos zooides e posição do testículo. Apenas ao comparar diretamente as amostras é que foi possível reconhecê-las como três espécies diferentes. Já tinha sido demonstrado que

a prática de utilizar somente poucos caracteres como diagnóstico muitas vezes pode resultar em identificações equivocadas (Vandepas *et al.* 2015; obs. pess.), porém ainda tem sido uma prática comum. Além disso, há poucos taxonomistas especializados em Ascidiacea, o que leva pesquisadores a fazerem identificações incorretas por falta de conhecimento adequado.

Ainda que não tenha havido tempo suficiente para examinar exemplares de todas as espécies conhecidas de Phlebobranchia, a revisão parcial do grupo foi suficiente para revelar a existência de cinco espécies novas (quatro delas só para o Atlântico) e várias identificações incorretas, inclusive de materiais já depositados em coleções. Isso demonstra o quanto ainda resta por aprender da diversidade de Phlebobranchia, tanto a partir de novas coletas quanto do que já existe em laboratórios ou museus. Muitas vezes as coleções científicas são negligenciadas e, por vezes, perdidas por falta de manutenção. Neste trabalho foi mais uma vez demonstrado o quão importantes são tais coleções, uma vez que informações relevantes para a taxonomia como um todo estão ali guardadas: dúvidas a respeito de espécies podem ser solucionadas e, às vezes, espécies novas podem ser encontradas à medida que as análises ficam mais robustas e detalhadas. A correta identificação dos organismos é básica em trabalhos de levantamento de biodiversidade, biogeografia e detecção de bioinvasões, por exemplo. A descoberta de novas espécies mostra o quanto ainda resta por conhecer da diversidade do grupo. Trabalhos moleculares recentes com foco no reconhecimento de espécies têm ajudado muito a identificar espécies crípticas, o que também traz uma reavaliação de suas distribuições geográficas. Assim, a formação de bons taxonomistas, treinados no uso de ferramentas de análises morfológicas e moleculares, continua sendo essencial para a ciência, apesar da pouca valorização desta área da biologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul-Jaffar-Ali, H., Sivakumar, V. & Tamilselvi, M. (2009) Distribution of alien and cryptogenic ascidians along the Southern coasts of Indian Peninsula. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1(4), 305–312.
- Abbott, DP. (1961) The ascidians of Point Barrow, Alaska, Part I. Suborder Phlebobranchia (Enterogona). *Pacific Science*, XV, 137–143.
- Alder, J. & Hancock, FLSA. (1905) *The British Tunicata, an unfinished monograph*. London, Ray Society, 1, 146 pp.
- Appeltans, W., Ahyong, ST., Anderson, G. Angel MV., Artois, T., Bailly, N., Bamber, R. Barber, A., Bartsch, I., Berta, A. Blazewicz-Paszkowycz, M., Bock, P., Boxshall, G., Boyko, CB., Brandão, SN., Bray, RA., Bruce, NL., Cairns, SD., Chan, TY., Cheng, L., Collins, AG., Cribb, T., Curini-Galletti, M., Dahdouh-Guebas, F., Davie, PJ., Dawson, MN., DeClerck, O., Decock, W., De Grave, S., de Voogd, NJ., Domning, DP., Emig, CC., Erséus, C., Eschmeyer, W., Fauchald, K., Fautin, DG., Feist, SW., Fransen, CH., Furuya, H., Garcia-Alvarez, O., Gerken, S., Gibson, D., Gittenberg, A., Gofas, S., Gómez-Daglio, L., Gordon, DP., Guiry, MD., Hernandez, F., Hoeksema, BW., Hopcroft, RR., Jaume, D., Kirk, P., Koedam, N., Koenemann, S., Kolb, JB., Kristensen, RM., Kroh, A., Lambert, G., Lazarus, DB., Lemaitre, R., Longshaw, M., Lowry, J., Macpherson, E., Madin, LP., Mah, C., Mapstone, G., McLaughlin, PA., Mees, J., Meland, K., Messing, CG., Mills, CE., Molodtsova, TN., Mooi, R., Neuhaus, B., Ng, PK., Nielsen, C., Norenburg, J., Opresko, DM., Osawa, M., Paulay, G., Perrin, W., Pilger, JF., Poore, GC., Pugh, P., Read, GB., Reimer, JD., Rius, M., Rocha, RM., Saiz-Salinas, JI., Scarabino, V., Schierwater, B., Schmidt-Rhaesa, A., Schnabel, KE., Schotte, M., Schuchert, P., Schwabe, E., Segers, H., Self-Sullivan, C., Shenkar, N., Siegel, V., Sterrer, W., Stöhr, S., Swalla, B., Tasker, ML., Thuesen, EV., Timm, T., Todaro, MA., Turon, X., Tyler, S., Uetz, P., van der Land, J., Vanhoorne, B., van Ofwegen, LP., van Soest, RW., Vanaverbeke, J., Walker-Smith, G., Walter, TC., Warren, A., Williams, GC., Wilson, SP. Costello, MJ. (2012) The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology*, 22, 1–14.

- Ärnäck-Christie-Linde, A. (1934) Northern and Arctic invertebrates in the collection of the Swedish State Museum. XII. Tunicata. 4. Cionidae, Ascidiidae, Agnesiidae, Rhodosomatidae. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 13(3), 4–91.
- Ärnäck-Christie-Linde, A. (1938) Ascidiacea. In: Further zoological results of the Swedish Antarctic expedition 1901-1903, under the direction of Dr. Otto Nordenskjöld. *Stockholm*, III(4), 1–54.
- Berrill, NJ. (1932) Ascidians of the Bermudas. *Biological Bulletin*, 62, 77–88.
- Berrill, NJ. (1950) *The Tunicata with an account of the British species*. London, Ray Society.
- Bonnet, NYK. & Lotufo, TMC. (2015) Description of *Ascidia paulayi* sp. nov. (Phlebobranchia: Ascidiidae) from French Polynesia, with a discussion about the *Ascidia sydneiensis* Stimpson, 1855 group. *Zootaxa*, 3994 (2), 283–291.
- Bonnet, NYK. & Rocha, RM. (2011a) The Family Ascidiidae Herdman (Tunicata: Ascidiacea) in Bocas del Toro, Panama. Description of six new species. *Zootaxa*, 2864, 1–33.
- Bonnet, NYK. & Rocha, RM. (2011b) The Ascidiidae (Ascidiacea: Tunicata) of coastal Brazil. *Zoological Studies*, 50 (6), 809–825.
- Bonnet, NYK., Rocha, RM. & Carman, MR. (2013) Ascidiidae Herdman, 1882 (Tunicata: Ascidiacea) on the Pacific coast of Panama. *Zootaxa*, 3691 (3), 351–364.
- Brunetti, R., Gissi, C., Pennati, R., Caicci, F., Gasparini, F. & Manni, L. (2015) Morphological evidence that the molecularly determined *Ciona intestinalis* type A and type B are different species: *Ciona robusta* and *Ciona intestinalis*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53(3), 186–193.
- Carman, MR., Bullard, SG., Rocha, RM., Lambert, G., Dijkstra, JA., Roper, JJ., Goodwin, A., Carman, MM. & Vail, EM. (2011) Ascidians at the Pacific and Atlantic entrances to the Panama Canal. *Aquatic Invasions*, 6 (4), 371–380.
- Collin, SB., Oakley, JA., Sewell, J. & Bishop, JDD. (2010) Widespread occurrence of the non-indigenous ascidian *Corella eumyota* Traustedt, 1882 on the shores of

- Plymouth Sound and Estuaries Special Area of Conservation, UK. *Aquatic Invasions*, 5(2), 175–179.
- Costa, HR. (1969) Notas sobre os Ascidiacea brasileiros. IV. Ordem Phlebobranchia (Lahille, 1887). Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, 12(5-6), 289–292.
- Gab-Alla, AA-FA. (2008) Distribution of the sea squirt *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1890 (Ascidiacea: Perophoridae) along Suez Canal and Egyptian Red Sea coasts. *Oceanologia*, 50(2), 239–253.
- Goodbody, I. (1994) The tropical western Atlantic Perophoridae (Ascidiacea): I. The genus *Perophora*. *Bulletin of Marine Science*, 55(1), 176–192.
- Goodbody, I. (2003) The ascidian fauna of Port Royal, Jamaica. I. Harbor and mangrove dwellings species. *Bulletin of Marine Science*, 73(2), 457–476.
- Goodbody, I. & Cole, L. (1987) A new species of *Perophora* (Ascidiacea) from the western Atlantic, including observations on muscle action in related species. *Bulletin of Marine Science*, 40(2), 246–254.
- Goodbody, I. & Cole, L. (2006) The tropical western Atlantic Perophoridae (Ascidiacea). II. The genus *Ecteinascidia*. *Bulletin of Marine Science*, 79(1), 49–70.
- Hawkins, CJ., Kott, P., Parry, DL. & Swienhart, JH. (1983) Vanadium content and oxidation state related to ascidian phylogeny. *Comparative Biochemistry Physiology*, 76B(3), 555–558.
- Herdman, WA. (1880) Preliminary report on the Tunicata of the Challenger Expedition. *Proceedings of the Royal Society of Edimburgh*, 10, 458–472.
- Herdman, WA. (1882) Report on the Tunicata collected during the voyage of H.M.S. Challenger during the years 1873-1876, part 1, Ascidae simplices. *Report of the Scientific Results of the Voyage of H.M.S. Challenger During the Years 1873-76*, 6(17), 1–296.
- Hoshino, ZI. & Nishikawa, T. (1985) Taxonomic studies of *C. intestinalis* (L.) and its allies. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 30(1/3), 61–79.

- Hoshino, ZI. & Tokioka, T. (1967) An unusually robust *Ciona* from the northeastern coast of Honsyu Island, Japan. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 15(4), 275–190.
- Izquierdo-Muñoz, A., Díaz-Valdéz, M. & Ramos-Esplá, AA. (2009) Recent non-indigenous ascidians in the Mediterranean Sea. *Aquatic Invasions*, 4(1), 59–64.
- Kott, P. (1952) The ascidians of Australia. I. Stolidobranchiata Lahille and Phlebobranchiata Lahille. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 3(3), 205–333.
- Kott, P. (1968) A review of the family Agnesiidae Huntsman, 1912; with particular reference to *Agnesia glaciata* Michaelsen, 1898. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 93, 444–456.
- Kott, P. (1969) Antarctic Ascidiacea. *Antarctic Research Series*, 13, 1–239.
- Kott, P. (1973) Plurellidae, a new phlebobranchiate family of the Ascidiacea. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 97, 258–261.
- Kott, P. (1981) The Ascidians of the Reef Flats of Fiji. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 105(3), 147–212.
- Kott, P. (1985) The Australian Ascidiacea. Part 1. Phlebobranchia and Stolidobranchia. *Memories of the Queensland Museum*, Brisbane, 23(1), 440 pp.
- Kott, P. (1990) The Australian Ascidiacea. Part 2. Aplousobranchia (1). *Memories of the Queensland Museum*, Brisbane, 29(1), 266 pp.
- Kott, P. & Goodbody, I. (1980) The ascidians of Hong Kong. *Proceedings of the First International Marine Biological Workshop: the marine flora and fauna of Hong Kong and Southern China*, 1, 503–554.
- Koutsogiannopoulos, D., Zenetos, A. & Ramos-Esplá, AA. (2012) New ascidians records (Chordata: Tunicata) for the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). In: M. Thessalou-Legaki, M., Aydogan, Ö., Bekas, P., BILGE, G., Boyaci, YÖ., Bruneli, E., Circosta, V., Croceta, F., Durucan, F., Erdem, M., Ergolavou, A., Filiz, H., Fois, F., Gouva, E., Kapiris, K., Katsanevakis, S., Kljajić, Z., Konstantinidis, E., Konstantinou, G., Koutsogianopoulos, D., Lamon, S., Mačić, V., Mazete, R.,

- Meloni, D., Muredu, A., Paschos, I., Perdikaris, C., Piras, F., Poursanidis, D., Ramos-Esplá, AA., Roso, A., Sordino, P., Sperone, E., Sterioti, A., Taşkin, E., Toscano, F., Tripepi, S., Tsiakiros, L. & Zenetos, A. *Mediterranean Marine Science*, 13(2), 312–327.
- Lahille, F. (1886) Sur la classification des Tuniciers. *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences*, 102, 1573–1575.
- Lahille, F. (1890) *Contributions a l'étude anatomique et taxonomique de tuniciers*. Toulouse, 330 pp.
- Lambert, CC. & Lambert, G. (1998) Non-indigenous ascidians in southern California harbors and marinas. *Marine Biology*, 130, 675–688.
- Lambert, G. (2002) Nonindigenous ascidians in tropical waters. *Pacific Science*, 56(3), 291–298.
- Lambert, G. (2003) New records of ascidians from the NE Pacific: a new species of *Trididemnum*, range extension and redescription of *Aplidiopsis pannosum* (Ritter, 1899) including its larva, and several non-indigenous species. *Zoosystema*, 25(4), 665–679.
- Lambert, G. (2004) The south temperate and Antarctic ascidian *Corella eumyota* reported in two harbours in north-western France. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 84, 239–241.
- Lee, SS., Teo, SL. & Lambert, G. (2013) New records of solitary ascidians on artificial structures in Singapore waters. *Marine Biodiversity Records*, 6, e93, 1–18.
- López-Legentil, S. & Turón, X. (2007) Lack of genetic variation in the mtDNA sequences over the amphiatlantic distribution range of the ascidian *Ecteinascidia turbinata*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 405–408.
- Maciver, SK., Evans, J., Borg, JA., Ramos-Esplá, AA. & Schembri, PJ. (2016) Status of the 'mangrove tunicate' *Ecteinascidia turbinata* (Ascidacea: Perophoridae) in the Mediterranean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, doi:10.1017/S0025315416000473, 1–8.

- Médioni, A. (1969) Redescription d'une espèce d'ascidie: *Ecteinascidia herdmani* (Lahille, 1890) (= *Perophoropsis herdmani* Lahille, 1890). *Vie et Milieu*, 20(2A), 439–446.
- Meenakshi, VK. (2000) *Ecteinascidia venui* sp. nov., a colonial ascidian (Perophoridae) from Tuticorin, southeast coast of India. *Indian Journal of Marine Sciences*, 29, 83–85.
- Meenakshi, VK. (2009) New records of five species of colonial ascidians of the genus *Ecteinascidia* Herdman, 1880, from the Gulf of Mannar, India. *Journal of Bombay Natural History Society*, 106(1), 107–112.
- Michaelsen, W. (1898) Vorläufige mittheilung über einige Tunicaten aus dem Magalhaensischen Gebiet, sowie von Süd-Georgian. *Zoologischer Anzeiger*, 21, 363–371.
- Michaelsen, W. (1918) Die Ptychobranchen und Diktyobranchen ascidien des westlichen Indischen Ozeans. *Jahrbuch Wissenschaftliche Anstalten des Staates Hamburg*, 35(2), 1–73.
- Millar, RH. (1956) Notes on some ascidians from Sierra Leone and Gambia. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 12, 9, 409–417.
- Millar, RH. (1957) Further notes on ascidians from Sierra Leone. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 12, 10, 369–377.
- Millar, RH. (1960) Ascidiacea. *Discovery Reports*, 30, 1–160.
- Millar, RH. (1966) Tunicata. Ascidiacea. *Marine Invertebrates of Scandinavia*, 1, 1–123.
- Millar, RH. (1975) Ascidians from the Indo-West-Pacific region in the Zoological Museum, Copenhagen (Tunicata, Ascidiacea). *Steenstrupia*, 3(20), 205–336.
- Millar, RH. (1977) Ascidians (Tunicata: Ascidiacea) from the northern and north-eastern Brazilian shelf. *Journal of Natural History*, 11, 169–223.
- Millar, RH. (1988) Ascidians collected during the International Indian Ocean Expedition. *Journal of Natural History*, 22, 823–848.

- Monniot, C. (1972) Ascidiés phlébobranches des Bermudes. *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 3^a sér., 82, Zoologie 61, 939–948.
- Monniot, C. (1974) Ascidiés littorales et bathyales récoltées au cours de la campagne Biaçores: phlébobranches et stolidobranches. *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 3^a sér., 251, Zoologie 173, 1327–1352.
- Monniot, C. (1978) Ascidiés phlébobranches et stolidobranches du sud de l'océan Indien. *Annales de l'Institut Océanographique*, 54(2), 171–224.
- Monniot, C. (1983) Ascidiés littorales de Guadeloupe. II. Phlébobranches. *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 4^a sér., 5, section A, 1, 51–71.
- Monniot, C. (1987) Ascidiés de Nouvelle-Calédonie. I. Phlébobranches du lagon. *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 4^a sér., 9, section A, (1), 3–31.
- Monniot, C. (1991) Ascidiés de Nouvelle-Calédonie. VIII. Phlébobranches (*suite*). *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 4^a sér., 12, section A, 3-4, 491–515.
- Monniot, C. (1992) Ascidiés de Nouvelle-Calédonie. XI. Phlébobranches et stolidobranches du plateau des Chesterfield. *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 4^a sér., 14, section A, (1), 3–22.
- Monniot, C. (1994) Quelques ascidiés récoltées par le M.S. 'Marion-Dufresne' (Campagne Jasus, Réunion et Brésil). *Vie Millieu*, 44(34), 229–242.
- Monniot, C. (1997) Ascidiés phlébobranches du canal du Mozambique. *Zoosystema*, 19(4), 557–571.
- Monniot, C. (1998) Abyssal ascidians collected from the proximity of hydrothermal vents in the Pacific Ocean. *Bulletin of Marine Science*, 63(3), 541–558.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1972) Clé mondiale des genres d'ascidiés. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, 113, 311–367.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1973) Ascidiés abyssales récoltées au cours de la campagne océanographique Biaçores par le "Jean-Charcot". *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 3^a sér., 121, Zoologie 93, 389–475.

- Monniot, C. & Monniot, F. (1982) Some Antarctic deep-sea tunicates in the Smithsonian collections. *Antarctic Research Series*, 32, 95–130.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1983) Ascidiées antarctiques et subantarctiques: morphologie et biogéographie. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 125 (A), 1–168.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1984) Tuniciers benthiques récoltés au cours de la campagne abyssale au large de Madère. *Annales de l'Institut Océanographique*, 60(2), 129–142.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1987) Les ascidiées de Polynésie Française. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 136 (A), 1–155.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1994) Ascidiées collectées en mer de Weddell par le RV "Polarstern" (EPOS croisière lég 3). *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, 4^a sér., 16, section A, 1, 13–37.
- Monniot, C. & Monniot, F. (1997) Records of ascidians from Bahrain, Arabian Gulf with three new species. *Journal of Natural History*, 31, 1623–1643.
- Monniot, C., Monniot, F., Griffiths, CL. & Schleyer, M. (2001) South African ascidians. *Annals of the South African Museum*, 108(1), 1–141.
- Monniot, F. (2013) The genus *Corella* (Ascidiacea, Phlebobranchia, Corellidae) in the Southern Hemisphere with description of a new species. *Zootaxa*, 3702(2), 135–149.
- Monniot, F. & Monniot, C. (1996) New collections of ascidians from the western Pacific and southeastern Asia. *Micronesica*, 29(2), 133–279.
- Monniot, F. & Monniot, C. (2001) Ascidiées de la zone tropicale occidentale du Pacifique. *Zoosystema*, 23(2), 201–383.
- Monniot, F. & Monniot, C. (2003) Ascidiées de la pente externe et bathyales de l'ouest Pacifique. *Zoosystema*, 25(4), 681–749.
- Monniot, F. & Monniot, C. (2008) Compléments sur la diversité des ascidiées (Ascidiacea, Tunicata) de l'ouest Pacifique tropical. *Zoosystema*, 30(4), 799–872.

- Monniot, F., Dettai, A., Eleaume, M., Cruaud, C. & Ameziane, N. (2011) Antarctic ascidians (Tunicata) of the French-Australian survey CEAMARC in Terre Adélie. *Zootaxa*, 2817, 1–54.
- Moreno, TR. & Rocha, RM. (2008) Phylogeny of the Aplousobranchia (Tunicata: Ascidiacea). *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(2), 269–298.
- Moseley, HN. (1876) On the two new forms of deep-sea ascidians, obtained during the voyage of H.M.S. ‘Challenger’. *Transactions of the Linnean Society*, 1, 287–194.
- Müller, OF. (1776) *Zoologiae Danicae prodromus: seu Animalium Daniae et Norvegiae indigenarum; characteres, nomina, et synonyma imprimis popularium. Ascidiacea. Havniae: typis Hallageriis, Copenhagen, pp. 224–226.*
- Nagar, AE., Huys, R. & Bishop, JDD. (2010) Widespread occurrence of the Southern Hemisphere ascidian *Corella eumyota* Traustedt, 1882 on the Atlantic coast of Iberia. *Aquatic Invasions*, 5(2), 169–173.
- Nishikawa, T. (1984) Ascidians from the Truk Islands, Ponape Island and Majuro Atoll (Tunicata, Ascidiacea). *Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology*, 27, 107–140.
- Nishikawa, T. (1986) Ascidians from the Gilbert and Solomon Islands and Nauru. I. Perophoridae, Ascidiidae and Corellidae. *Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology*, 32, 30–78.
- Nishikawa, T. (1991) The ascidians of the Japan Sea. II. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 35(1/3), 25–170.
- Paiva, SV., Oliveira Filho, RR. & Lotufo, TMC. (2015) Ascidians from Rocas Atoll, northeast Brazil. *Frontiers in Marine Science*, 2, 39, 1–20.
- Pérès, JM. (1954) Contribution a l’étude des ascidies de Tunisie. *Bulletin de la Station Océanographique de Salammbo*, 49, 3–20.
- Pyo, J., Lee, T. & Shin, S. (2012) Two newly recorded invasive alien ascidians (Chordata, Tunicata, Ascidiacea) based on morphological and molecular phylogenetic analysis in Korea. *Zootaxa*, 3368, 211–228.

- Rocha, RM. & Bonnet, NYK. (2009) Ascídias (Tunicata, Ascidiacea) introduzidas no Arquipélago de Alcatrazes, São Paulo. *Iheringia*, sér. Zoologia, 99(1), 27–35.
- Rocha, RM., Guerra-Castro, E., Lira, C., Paul, SM., Hernández, I., Pérez, A., Sardi, A., Pérez, J., Herrera, C., Carbonini, AK., Caraballo, V., Salazar, D., Diaz, MC. & Cruz-Motta, J.J. (2010) Inventory of ascidians (Tunicata, Ascidiacea) from the National Park La Restinga, Isla Margarita, Venezuela. *Biota Neotropica*, 10, 209–218.
- Rocha, RM., Zanata, TB. & Moreno, TR. (2012) Keys for the identification of families and genera of Atlantic shallow water ascidians. *Biota Neotropica*, 12 (1), 1–35.
- Sanamyan, KE. (1998) Ascidians from the North-Western Pacific region. 5. Phlebobranchia. *Ophelia*, 49(2), 97–116.
- Sanamyan, KE. (2001) Dimeatidae, a new family of the Ascidiacea, with description of a new species of the genus *Dimeatus*. *Zoosystematica Rossica*, 9(1), 37–41.
- Sanamyan, KE. & Sanamyan, NP. (2002) Deep-water ascidians from the south-western Atlantic (RV *Dmitry Mendeleev*, cruise 43 and *Academic Kurchatov*, cruise 11). *Journal of Natural History*, 36, 305–359.
- Sanamyan, KE. & Sanamyan, NP. (2005) Deep-water ascidians from the North Atlantic (RV *Academic Keldysh*, cruise 46 and 49). *Journal of Natural History*, 39(22), 2005–2021.
- Sato, A., Satoh, N. & Bishop, JDD. (2012) Field identification of “types” A and B of the ascidian *Ciona intestinalis* in a region of sympatry. *Marine Biology*, 159, 1611–1619.
- Shenkar, N. & Loya, Y. (2009) Non-indigenous ascidians (Chordata: Tunicata) along the Mediterranean coast of Israel. *Marine Biodiversity Records*, 2, e166, 1–7.
- Sluiter, CP. (1887) Einfache ascidien aus der Bai Von Batavia. *Natuurkundig Tijdschrift voor Nederlandsch Indië*, XLVI, 242–266.
- Sluiter, CP. (1895) Tunicaten. In: Semon R. Zoologische Forschungsreisen in Australien und den malagischen Archipel. *Denkschriften Gesellschaft Jenaische*, 8, 163–186.

- Tatiàn, M., Antacli, J.C. & Sahade, R. (2005) Ascidians (Tunicata, Ascidiacea): species distribution along the Scotia Arc. *Scientia Marina*, 69(2), 205–214.
- Tokioka, T. (1950) Ascidians from the Palao Islands. I. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 1(3), 115–150.
- Tokioka, T. (1954) Invertebrate fauna of the intertidal zone of the Tokara Islands. VII. Ascidians. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 3(3), 239–264.
- Tokioka, T. (1970) Ascidians from Mindoro Island, the Philippines. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 18(2), 75–107.
- Tokioka, T. (1972) On a small collection of ascidians from the Pacific coast of Costa Rica. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 19(6), 383–408.
- Traustedt, MPA. (1882) Vestindiske Ascidae Simplicis, Forste Afdeling (Phallusiadae). Videnskabelige Meddelelser fra den Naturhistoriske Forening Kjobenhavn, 1881, 257–288.
- Turon, X. (1985) Ascidas del Cabo de Creus (costa NE española). *Miscellanea Zoologica*, 9, 265–271.
- Turon, X. (1987) Las ascidas de Tossa del Mar (Girona). I. Generalidades. Faunística y taxonomia. *Miscellanea Zoologica*, 11, 221–231.
- Turon, X. (1988) Some ascidians from Namibia (SW Africa). *Monografía de Zoología Marina*, 3, 267–291.
- Vandepas, LE., Oliveira, LM., Lee, SSC., Hirose, E., Rocha, RM. & Swalla, BJ. (2015) Biogeography of *Phallusia nigra*: is it really black and white? *The Biological Bulletin*, 228, 52-64.
- Van Name, WG. (1918) Ascidians from Philippines and adjacent waters. *Bulletin of United States National Museum*, 100, 49-174.
- Van Name, WG. (1945) The North and South American Ascidians. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 84, 1-476.