

Licia Sales Oliveira

A problemática em torno de *Okenia zoobotryon*
(Smallwood, 1910) (Gastropoda: Nudibranchia):
redescrições de espécies similares com base em
anatomia e morfologia

The issues around *Okenia zoobotryon*
(Smallwood, 1910) (Gastropoda:
Nudibranchia): redescription of similar species
based on anatomy and morphology



São Paulo

2014

Licia Sales Oliveira

A problemática em torno de *Okenia zoobotryon*
(Smallwood, 1910) (Gastropoda:
Nudibranchia): redescritções de espécies
similares com base em anatomia e morfologia

The issues around *Okenia zoobotryon*
(Smallwood, 1910) (Gastropoda:
Nudibranchia): redescriptions of similar species
based on anatomy and morphology

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências da Universidade de
São Paulo, para a obtenção de Título
de Mestre em Ciências Biológicas, na
Área de Zoologia.

Orientador: Dr. Alvaro Esteves
Migotto

São Paulo

2014

Sales, Licia.

A problemática em torno de *Okenia zoobotryon* (Smallwood, 1910) (Gastropoda: Nudibranchia): redescrições de espécies similares com base em anatomia e morfologia.

x + 88 págs.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia.

1. *Okenia zoobotryon* 2. Morfologia e taxonomia 3. Anatomia comparada 4. Sistemática. 5. Análise molecular. 6. Mollusca. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr. Alvaro Esteves Migotto
Orientador

Aos meus pais, Lourdes e Gilberto,
e à minha irmã Letícia, por todo
apoio, amor e carinho.

“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”.

(Roger Von Oech).

Agradecimentos

Primeiramente à Deus, por me conceder o dom da vida, saúde e força para seguir em frente sempre, buscando a concretização de todos os meus objetivos. Por ter iluminado meus caminhos e aberto sempre uma janela a cada porta fechada.

Aos meus pais (Maria de Lourdes S. Oliveira e Gilberto S. C. Oliveira) e minha irmã (Letícia S. Oliveira) pelo apoio incondicional, incentivo, amor, carinho, torcida e por se fazerem sempre presentes em todas as etapas da minha vida, mesmo quando longe apenas geograficamente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Álvaro Esteves Migotto, pela orientação e por todo apoio, solicitude, paciência e incentivo.

Ao meu co-orientador, Dr. Carlo Magenta Cunha, por todos os ensinamentos, paciência, incentivo e apoio.

À CAPES e FAPESP (Processo 2013/08425-0) pelo financiamento da pesquisa.

Ao CEBIMAR pelo suporte estrutural para coletas e trabalhos laboratoriais.

Ao Prof. Dr. Luiz Ricardo Lopes de Simone (Museu de Zoologia da USP) e ao Prof. Dr. Antônio Carlos Marques (Instituto de Biociências da USP) pelo suporte estrutural para realização desse trabalho, e ao primeiro ainda por possibilitar a solicitação de empréstimos de espécimes de outros museus.

Ao Dr. Terrence M. Gosliner (CASIZ) e Dr^a Mandy Reid (AM) pelos empréstimos de espécimes para estudo.

Ao Dr. Juan Lucas Cervera, Dr. Terrence M. Gosliner (CASIZ) e Dr. Manuel Caballer Gutiérrez pelas fotos do topótipo de *O. zoobotryon* e do tipo de *O. polycerelloides*, respectivamente.

À todos os técnicos da USP, tanto do IB quanto do CEBIMAR e MZSP, que contribuíram para realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Pedro Gnaspini (IB-USP) pela solicitude em esclarecer minhas dúvidas.

Aos colegas do LEM, CEBIMAR e do Laboratório de Malacologia do MZSP por tornarem a rotina de trabalho mais alegre, e em especial a alguns (Bárbara, Bruno, Karine, e Maria Bezerra) por toda ajuda, amizade e apoio.

À todos meus familiares, tanto os que residem em São Paulo quanto os de outros estados, por todo amor, apoio e carinho sempre demonstrados para comigo. Em especial à Dinda Del, tia Irene e tio Caetano por toda ajuda e por tornarem minha vida em SP muito mais leve e aconchegante.

Aos meus amigos de Salvador, BA, especialmente Beatriz, Patrícia e Marcelo, por me apoiarem e me darem força mesmo estando longe, sempre provando que para amizades verdadeiras as barreiras geográficas não fazem diferença.

Aos novos amigos feitos em SP, que residem comigo, por me proporcionarem dias bem mais alegres, por todo apoio e amizade.

À família de Vinicius Queiroz, especialmente à Nalva e Têi, que já considero como parte da minha família também, por todo apoio e carinho durante esses dois anos.

Um agradecimento muito especial a Vinicius Queiroz, por todo amor, apoio, carinho, companheirismo, cumplicidade, conselhos e ajuda em todos os aspectos da minha vida. Agradeço ainda por fazer com que essa etapa em SP seja muito mais fácil e feliz.

Resumo

O gênero *Okenia* possui cerca de 50 espécies distribuídas ao redor do mundo, o qual claramente necessita de uma profunda revisão taxonômica. No Brasil, até então, são reportadas apenas três espécies: *Okenia impexa*, *O. evelinae* — ambas com localidade-tipo em São Paulo — e *O. zoobotryon* que foi originalmente descrita para Bermudas. Entretanto os registros de *O. zoobotryon* em águas brasileiras são ainda questionáveis. Esta espécie tem sido considerada durante muitos anos uma das mais problemáticas dentro do gênero, com outras como *O. evelinae* e *O. polycerelloides* já tendo sido propostas como sinônimas de *O. zoobotryon* e revalidadas por diferentes autores. Adicionalmente, *O. zoobotryon* tem sido reportada em diferentes partes do mundo, supostamente apresentando uma distribuição praticamente cosmopolita. Nesse contexto, este estudo apresenta uma análise morfológica e molecular de espécimes previamente identificados como *O. zoobotryon* procedentes de Bermudas, Austrália e Brasil. Além disso, exemplares de *O. evelinae* também foram analisados, com o intuito de esclarecer a possível sinonímia entre estas espécies. A análise morfológica revelou que os exemplares da Austrália são de fato uma espécie diferente, recentemente descrita como *Okenia harastii*, enquanto os espécimes do Brasil pertencem à espécie *O. polycerelloides*, que é claramente diferente de *O. zoobotryon* proveniente das Bermudas. Os principais caracteres anatômicos que corroboram a distinção entre as espécies aqui estudadas estão presentes na rádula e nos sistemas reprodutor e nervoso. A coloração é muito diferente entre *O. evelinae* e *O. zoobotryon*, porém a morfologia não as separou claramente, o que foi conseguido através de estudos moleculares preliminares. Dessa forma, ao contrário do que se pensava, *O. zoobotryon* parece estar restrita ao Oceano Atlântico Norte.

Abstract

The genus *Okenia* has about 50 species distributed around the world, which clearly need a deep taxonomic revision. In Brazil only three species are reported: *Okenia impexa*, *O. evelinae* — both with type locality in São Paulo, Brazil — and *O. zoobotryon*. Originally described from Bermuda, the records of the latter on the Brazilian waters are still questionable. In fact this species has been one of the most problematic in the genus. *Okenia evelinae* and *O. polycerelloides* have already been considered as synonyms of *O. zoobotryon* and were revalidated by different authors. Additionally, *O. zoobotryon* has been reported in different parts of the world, with a supposed cosmopolitan distribution. Thus, this study presents a morphological and molecular analysis of specimens previously identified as *O. zoobotryon* from Bermuda, Australia, and Brazil. We also studied specimens of *O. evelinae* in order to clarify the possible synonymy of these species. The morphological analysis revealed that the specimens from Australia are indeed a different species, recently described as *Okenia harastii*, while the ones from Brazil belong to *Okenia polycerelloides*, which is clearly distinct from *O. zoobotryon*. The distinctive anatomical characteristics that justify the separation among the species studied here are present in the radula, and reproductive and nervous systems. The color is very different between *O. evelinae* and *O. zoobotryon*, but the morphology did not clearly separate these two taxa. However, preliminary molecular data reveal that they are two distinct species. Thus, contrary to what was thought *O. zoobotryon* have no cosmopolitan distribution and seems to be restricted to the North Atlantic Ocean.

Índice

Agradecimentos	vi
Resumo	viii
Abstract.....	ix
INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVOS.....	07
MATERIAL & MÉTODOS	08
Análise Morfológica	08
Amostragem dos táxons	08
Método de estudo	09
Análise Molecular.....	10
Amostragem dos táxons	10
Extração de DNA, amplificação e sequenciamento.....	11
Lista de abreviações utilizadas no presente trabalho	11
Tabela 1. Relação do material analisado	13
RESULTADOS	16
Análise Morfológica	16
<i>Okenia polycerelloides</i> (Ortea & Bouchet, 1983).....	16
Figura 1. Holótipo	27
Figura 2. Espécimes vivos, adulto e jovem.....	27
Figura 3. Morfologia externa	28
Figura 4. Massa visceral e sistema circulatório	29
Figura 5. Sistema digestório	30
Figura 6. Sistemas digestório e reprodutor	31
Figura 7. Rádula e mandíbula	32
<i>Okenia harastii</i> Pola, Roldán & Padilla, 2014.....	33
Figura 8. Espécimes vivo e fixado.....	36
Figura 9. Morfologia externa e massa visceral	37
Figura 10. Massa visceral, sistemas digestório e reprodutor	38
Figura 11. Sistema nervoso.....	39
Figura 12. Rádula e pênis.....	40
<i>Okenia evelinae</i> Marcus, 1957.....	41
Figura 13. Espécimes vivos e fixado	45
Figura 14. Morfologia externa e massa visceral	46
Figura 15. Massa visceral, sistemas digestório e reprodutor	47
Figura 16. Rádula e massa bucal.....	48
<i>Okenia zoobotryon</i> (Smallwood, 1910).....	49
Figura 17. Espécimes vivo e fixado.....	50
Figura 18. Massa visceral e sistema reprodutor.....	51
Tabela 2. Sumário comparativo das diferenças morfológicas	52
Análise Molecular.....	54
Tabela 3. Percentual de diferença genética entre as espécies estudadas.....	55
Figura 19. Mapa com registros de ocorrência das espécies estudadas	55
DISCUSSÃO	56
CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

INTRODUÇÃO

Opisthobranchia é uma subclasse composta por moluscos gastrópodes predominantemente marinhos e bentônicos, que apresentam graus variados de distorção e tendências à redução, internalização ou perda completa da concha. Esta característica levou ao desenvolvimento de mecanismos defensivos secundários, como defesas químicas e coloração aposemática ou críptica (Camacho-García *et al.*, 2005). Muitos desses mecanismos são atribuídos a interações com outros organismos, como, por exemplo, a coloração críptica, onde opistobrânquios apresentam-se extremamente camuflados por possuírem padrão de cor muito semelhante ao de sua presa, sobre a qual geralmente vivem (Rudman, 1998; Gianguzza *et al.*, 2002; Ellingson & Krug, 2006; Faucci *et al.*, 2007).

O táxon Opisthobranchia é atualmente constituído pelas ordens Cephalaspidea, Acochliidae, Sacoglossa, Anaspidea, Thecosomata, Gymnosomata, Pleurobranchomorpha, Runcinacea, Umbraculida e Nudibranchia (Gofas, 2014). Esta última é a maior e a mais diversa, apresentando distribuição global, ocorrendo desde regiões polares até os trópicos, onde é mais representativa (Wollscheid-Lengeling *et al.*, 2001; Wägele & Klussmann-Kolb, 2005). A ordem é exclusivamente marinha e de vida livre (Wägele & Willan, 2000), tendo como características marcantes a perda completa da concha e do opérculo na fase adulta, embora espículas calcárias possam estar presentes na epiderme (Thompson & Brown, 1984).

Dentre os Nudibranchia, a família Goniodorididae Adams & Adams, 1854 caracteriza-se por apresentar papilas e um tufo de brânquias dorsais, cabeça com véu oral que pode apresentar tentáculos laterais, rinóforos lamelados não retráteis, borda do manto reduzida, mandíbulas reduzidas ou ausentes e por uma estrutura de sucção na região bucal utilizada na alimentação (Edmunds & Just, 1985; Thompson & Brown,

1984; Rios, 2009). Segundo Gosliner (2004), a família permanece pobremente estudada, mas à medida que trabalhos têm sido realizados com o grupo, novas espécies são descritas e o estado de conhecimento do grupo aumenta (*e.g.* Marcus, 1957; Sigurdsson, 1991; Camacho-García & Gosliner, 2004; Fahey, 2004; Gosliner & Bertsch, 2004; Rudman, 2007; Pola *et al.*, 2014).

O gênero *Okenia* Menke, 1830, pertencente aos Goniadorididae, é constituído por espécies que apresentam fórmula radular N x 1.1.0.1.1., corpo alongado e arranjo simétrico de papilas dorsolaterais em torno da margem do corpo. Em muitos casos tais estruturas surgem de um pequeno rebordo, que representa a borda do manto, enquanto em outros, emergem diretamente da parede do corpo. Podem ocorrer também dorsalmente, usualmente dispostas em padrão simétrico. Os rinóforos costumam ser compridos e com numerosas lamelas oblíquas em forma de copo. As brânquias são usualmente unipinadas ou bipinadas, retráteis, mas sem proteção de bolsa branquial (Leuckart, 1828; Abbott, 1974; Thompson, 1988; Rudman, 2004a).

O gênero possui cerca de 50 espécies (Bouchet & Gofas, 2014) que reconhecidamente necessitam de revisão taxonômica, a partir de estudos morfológicos e dados moleculares (Pola *et al.*, 2014). A maioria está registrada para o Indo-Pacífico (Gosliner, 2004; Rudman, 2004a; 2007), algumas são conhecidas para o Pacífico Leste (Lance, 1966; Millen *et al.*, 1994; Camacho-García & Gosliner, 2004; Gosliner & Bertsch, 2004) e outras ocorrem no Atlântico (Marcus, 1957; Marcus & Marcus, 1970; Schmekel & Portmann, 1982; Cervera *et al.*, 1991; Ortea & Espinosa, 2000; Ortea *et al.*, 2009; Gosliner, 2010).

No Brasil são reportadas até o presente apenas três espécies: *Okenia impexa* Marcus, 1957, *O. evelinae* Marcus, 1957, ambas com localidade-tipo em São Paulo (Marcus, 1957), e *O. zoobotryon* (Smallwood, 1910), originalmente descrita para as

ilhas Bermudas (Smallwood, 1910; García *et al.*, 2008; Rios, 2009). Entretanto, os registros de *O. zoobotryon* em águas brasileiras são ainda discutíveis (García *et al.*, 2008; Rios, 2009). Esta última tem sido por muitos anos uma das mais problemáticas espécies do gênero (*e.g.* Clark, 1984; Edmunds & Just, 1985; Valdés & Ortea, 1995; Rudman, 2004a; 2004b; Valdés *et al.*, 2006; García *et al.*, 2008; Rios, 2009; Pola *et al.*, 2014).

Okenia zoobotryon foi descrita para as Bermudas (Smallwood, 1910) no oceano Atlântico Norte, como pertencente ao gênero *Polycerella* Verrill, 1880, com base em dados de morfologia externa e coloração, tendo sido encontrada em grande número associada a colônias do briozoário *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1828) (Ctenostomata, Vesiculariidae). Adicionalmente, Smallwood (1912) descreveu características morfológicas internas dessa espécie a partir de dissecação e cortes histológicos. Entretanto, sua descrição não parece fazer sentido uma vez que o autor confunde estruturas reprodutoras masculinas com femininas, fato anteriormente notado por Rudman (2004a). As estruturas reprodutoras de opistobrânquios apresentam caracteres que são úteis na taxonomia do grupo em geral (*e.g.* Wägele, 1989; Schuelze & Wägele, 1998; Schrödl & Wägele, 2001; Gosliner & Behrens, 2006); portanto a falta de conhecimento sobre o sistema reprodutor dessa espécie pode gerar dúvidas na identificação de espécimes coletados em outros locais e que apresentam morfologia externa e coloração similares às de *O. zoobotryon* (*e.g.* Rudman, 2004a).

Odhner (1941) retirou *O. zoobotryon* do gênero *Polycerella* com base principalmente em características radulares e devido à presença do bulbo suctorial, uma estrutura não encontrada em *Polyceridae* Alder & Hancock, 1845 (*strictu sensu*), criando o gênero *Bermudella* Odhner, 1941. Por monotipia, *Polycerella zoobotryon* Smallwood, 1910 passou a ser a espécie-tipo do novo gênero. Décadas depois, Clark

(1984) redescreveu *B. zoobotryon* com base em espécimes procedentes da localidade-tipo e reportou populações para a Flórida, EUA. A redescricao, baseada apenas em caracteres morfológicos e rádula, concorda com a de Smallwood (1910) em relação à morfologia, exceto por reportar a presença de duas papilas em cada lado do pericárdio, em vez de um único par. Contudo, Clark (1984) corrigiu a fórmula radular, que havia sido descrita como N x 3.1.0.1.3, para N x 1.1.0.1.1, transferindo então a espécie para o gênero *Okenia*. Ainda neste trabalho, Clark sinonimizou *O. evelinae* com *O. zoobotryon* devido à similaridade radular e morfologia externa idêntica. Posteriormente, diversos autores publicaram estudos com pontos de vista contrastantes, alguns concordando com a sinonímia previamente proposta (Edmunds & Just, 1985; Valdés & Ortea, 1995) e outros não apenas discordando da mesma, mas propondo que *O. polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), uma espécie descrita para as Ilhas Canárias, seria sinônimo de *O. zoobotryon* (Rudman, 2004a; García *et al.*, 2008; Valdés *et al.*, 2006). Entretanto, Ortea *et al.* (2009) discordam e voltam a afirmar que estas três espécies são válidas. Esse desacordo entre diferentes autores acaba por influenciar e confundir os registros de ocorrência dessas espécies.

A existência de *O. zoobotryon* no Brasil é ainda incerta, uma vez que foi referida apenas em catálogos (García *et al.*, 2008; Rios, 2009), sem portanto embasamento sistemático. Além disso, uma vez que *O. evelinae* seja considerada sinônimo de *O. zoobotryon* (como ocorre em Rios, 2009), obviamente os registros da primeira passam a valer para a segunda. Sendo assim, muito possivelmente Rios (2009) considera a existência de *O. zoobotryon* no litoral de São Paulo e Rio de Janeiro com base no que seria a ocorrência de *O. evelinae*. Em contrapartida, García *et al.* (2008), que aceita a sinonímia com *O. polycerelloides* mas não com *O. evelinae*, registra *O. zoobotryon* apenas para São Paulo, mais especificamente em São Sebastião.

De fato, *O. zoobotryon* é uma espécie com distribuição geográfica intrigante, tendo sido registrada não apenas no Atlântico Norte (Smallwood, 1910; Clark, 1984; Edmunds & Just, 1985; Valdés & Ortea, 1995; Ortea *et al.*, 1996; Redfern, 2001) e Atlântico Sul (García *et al.*, 2008; Rios, 2009), mas também no Indo-Pacífico, em águas australianas (Rudman, 2004a). Entretanto, devido à falta de informação sobre o sistema reprodutor da espécie, o próprio autor que a cita para a Austrália (Rudman, 2004a) pondera que o conhecimento taxonômico sobre *O. zoobotryon* necessita ser melhorado para que essa identificação possa ser confirmada.

Adicionalmente, fotografias de espécimes identificados como *O. zoobotryon* de diferentes localidades do mundo têm sido publicadas (*e.g.* Redfern, 2004; Poddubetskaia, 2004; Grune, 2005; Ianniello, 2007), levando a uma confusão geral e indicando que a espécie teria distribuição praticamente cosmopolita. Porém, a variação nas características externas desses espécimes pode ser um indício de que várias espécies estão atualmente agrupadas sob o nome de *O. zoobotryon*, a maioria das quais são relatadas como sendo encontrada associada ao briozoário *Zoobotryon verticillatum* (Edmunds, 2009).

O fato de *O. zoobotryon* viver em associação com *Z. verticillatum* é possivelmente um fator complicador na compreensão de sua distribuição, pois este último tem sido reportado como bioinvasor em diversas partes do mundo (*e.g.* Gossett *et al.*, 2004; Hayes *et al.*, 2005; Wirtz1 & Canning-Clode, 2009). Este briozoário é atualmente considerado como uma das várias espécies que apresentam distribuição artificial resultante de atividade antrópica (Amat & Tempera, 2009; Elkhorn, 2002), provavelmente tendo se dispersado através de cascos de embarcações, onde são comumente encontrados (Minchin, 2012). Portanto, uma vez que colônias de *Z. verticillatum* podem ser transportadas dessa forma, muito possivelmente organismos

que estejam associados a elas, como *O. zoobotryon* e outros nudibrânquios, poderiam ter também sua distribuição alterada.

Sendo assim, existem duas possíveis explicações para essa distribuição incomum de *O. zoobotryon*: (1) trata-se de fato de uma única espécie que tem sua distribuição relacionada à dispersão do briozoário *Z. verticillatum*; (2) as populações do Atlântico Norte, Atlântico Sul e Indo-Pacífico são espécies distintas, crípticas ou não, não tendo sido possível distingui-las adequadamente até o momento devido à falta de informação taxonômica acurada sobre espécimes dessas localidades. Esta segunda possibilidade pode ser evidenciada pelo trabalho de Pola *et al.* (2014) que descreveram uma nova espécie de *Okenia* para a Austrália com base em dados morfológicos e moleculares. Esta nova espécie, *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, foi anteriormente considerada como *O. zoobotryon* por Atkinson & Atkinson (2008), o que corrobora a hipótese de que diferentes espécies têm sido erroneamente identificadas sob o mesmo nome e evidencia novamente a problemática acerca da espécie *O. zoobotryon*.

OBJETIVOS

1. Caracterizar a morfologia externa e interna de exemplares previamente identificados como *Okenia zoobotryon* oriundos do Atlântico Norte (localidade-tipo), Atlântico Sul (Brasil) e Indo-Pacífico (Austrália), assim como de espécimes de *Okenia evelinae* procedentes do Brasil, a fim de determinar se compreendem uma única espécie ou um grupo de espécies, e redescrevê-las.

2. Compreender a variação interespecífica de *Okenia zoobotryon*, *Okenia evelinae* e eventuais outras espécies do grupo, por meio de estudo morfológico e molecular.

MATERIAL E MÉTODOS

Análise Morfológica

Amostragem dos táxons

Foram estudados espécimes previamente identificados como *O. zoobotryon* procedentes do Brasil, Bermudas (localidade-tipo) e Austrália. Grande parte do material analisado foi proveniente de empréstimos: Museu de Zoologia da USP, São Paulo, Brasil (MZSP); California Academy of Sciences, São Francisco, EUA (CASIZ); Australian Museum, Sidney, Austrália (AM). Além disso, foram realizadas coletas em diversas localidades nos estados de São Paulo (São Sebastião, Ilhabela, Ubatuba, Santos, São Vicente) e Bahia (Salvador). Adicionalmente, exemplares e lâminas de cortes histológicos (possíveis sítipos) de *Okenia evelinae* presentes na coleção malacológica do MZSP e identificados pelo autor da espécie (Ernst Marcus), assim como alguns espécimes coletados, foram estudados para comparação e análise da proposta de sinonímia entre essas duas espécies.

Devido ao tamanho diminuto desses nudibrânquios, assim como à sua coloração que permite uma ótima camuflagem, as coletas foram realizadas de forma indireta através dos organismos aos quais vivem associados, os briozoários *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1822) e *Amathia vidovici* (Heller, 1867). Estes animais foram coletados em locais abrigados, por meio de mergulho livre ou durante períodos de maré baixa, sempre em píeres ou próximos a tais estruturas, onde esses briozoários são normalmente encontrados. Após a coleta, as colônias foram mantidas vivas em baldes e bandejas com circulação de água do mar, até que todo o material fosse examinado sob microscópio estereoscópico para a separação dos espécimes de *Okenia* spp. Os espécimes foram mantidos vivos em laboratório, em recipientes com água do mar filtrada, para observação e documentação, e posteriormente anestesiados

adicionando-se progressivamente uma solução de cloreto de magnésio 7,5% à água do mar, fixados em etanol 70% e/ou etanol 100%. Parte do material coletado já se encontra depositada no MZSP (MZSP 109952; MZSP 109953; MZSP 109954), enquanto a outra parte permanece em coleção pessoal de estudo (representada pela sigla “LSO”) e será depositada no MZSP em breve (LSO 001; LSO 002; LSO 003; LSO 004; LSO 005; LSO 006; LSO 007; LSO 008; LSO 009).

Método de estudo

Parte do material proveniente tanto de coletas quanto de empréstimos foi analisada apenas externamente, a fim de estabelecer as variações no padrão de cor (apenas para os espécimes observados vivos) e morfologia externa, enquanto outra parte foi dissecada para realização das descrições morfológicas internas. Para descrição do padrão de cor, caráter importante e que é perdido após a fixação, os animais coletados durante o presente estudo foram fotografados ainda vivos em laboratório, em um estereomicroscópio com câmera fotográfica digital acoplada. O exemplar procedente das Bermudas teve sua coloração descrita com base em fotos cedidas pelo Dr. Juan Lucas Cervera (Universidad de Cádiz, Espanha), tiradas pelo Dr. Terrence M. Gosliner, ambos presentes na coleta do mesmo. O lote da Austrália foi examinado com base na fotografia publicada por Rudman (2004a).

As características morfológicas foram analisadas em um microscópio estereoscópico com câmara clara acoplada, utilizada para realização de desenhos anatômicos. A nomenclatura foi baseada em diversos trabalhos relacionados à anatomia e sistemática de Nudibranchia (*e.g.* Marcus, 1957; Ghiselin, 1965; Wägele & Willan, 2000) e adaptada quando necessário. As dissecções foram feitas através de uma primeira incisão lateral esquerda na região do tegumento localizada entre a massa

visceral e o pé. Após a retirada do tegumento, a massa visceral foi examinada por completo a fim de estabelecer as relações entre os sistemas; estes foram posteriormente individualizados e estudados isoladamente. A massa bucal foi aberta para retirada da rádula e mandíbula, que foram imersas em solução aquosa de KOH 5% em banho-maria para dissolução do tecido adjacente. Posteriormente à limpeza, essas estruturas foram lavadas com água destilada em placa de Petri e desidratadas através de imersões em concentrações crescentes de etanol, até etanol 100%. Por fim, foram transferidas para um *stub* com fita dupla face e encaminhadas para metalização e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Adicionalmente, realizou-se também MEV de algumas partes moles dos espécimes, utilizando-se os métodos rotineiramente empregados para esse fim, incluindo secagem pela técnica do “ponto crítico”.

Análise molecular

Amostragem dos táxons

A amostragem inicial para análise molecular incluiu 12 espécimes representando 3 espécies de *Okenia*, quatro dos quais foram amplificados com sucesso: dois de *O. polycerelloides* (São Sebastião, SP, Brasil), um de *O. evelinae* (São Sebastião, SP, Brasil) e um de *O. zoobotryon* (Bermudas). Além disso, uma sequência do gene COI (citocromo c oxidase subunidade I) de outro topótipo de *O. zoobotryon* disponível no GenBank (Pola *et al.*, 2014) foi utilizada nas análises. Os exemplares de *O. harastii* procedentes da Austrália estão fixados em formol, o que impossibilitou que os mesmos fossem utilizados na análise molecular.

Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

DNA genômico foi extraído do tecido do pé e quando possível do espécime inteiro utilizando o kit Instagene. Sequências dos genes citrocomo c oxidase subunidade I (COI) e 16S rRNA foram amplificadas pela reação em cadeia da polimerase (PCR) conduzida no Termociclador usando os seguintes primers: LCO1490 (GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G) e HCO2198 (TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA) para o COI; 16S SHA (TCG ACT GTT TAC CAA AAA CAT AGC) e 16S SHB (ACG GAA TGA ACT CAA ATC ATG TAA G) para 16S rRNA. As amplificações foram realizadas em uma reação com volume total de 25 µl composto por 22,4 µl de água Milli-Q, 1 µl de DNA e 0,8 µl de cada primer para ambos os genes COI e 16S. Foram efetuados 35 ciclos a uma temperatura de 54°C, cada ciclo com duração de cerca de 3 min.

Os produtos amplificados passaram por eletroforese em gel de TAE agarose 1,5%. Amostras amplificadas com sucesso foram purificadas com illustra GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare). Os fragmentos amplificados foram enviados para o Instituto de Química da USP onde foram sequenciados. As sequências obtidas serão devidamente depositadas no GenBank antes da publicação do artigo.

Lista de abreviações utilizadas no presente trabalho

aa: aorta anterior; **ad:** ducto do aloesperma; **ag:** glândula de albúmen; **am:** ampola; **AM:** Australian Museum; **an:** ânus; **ap:** papilas anteriores; **apt:** aorta posterior; **au:** aurícula; **bc:** bursa copulatória; **bd:** ducto da bursa copulatória; **bg:** gânglio bucal; **blg:** glândula de sangue; **bm:** massa bucal; **bu:** bulbo suctorial; **CASIZ:** Califórnia Academy of Sciences; **cbg:** comissura bucal; **cc:** câmara cecal; **ccb:** conectivo cérebro-bucal; **cce:**

comissura cerebral; **cep**: conectivo cérebro-pedioso; **ce**: gânglio cerebral; **cp**: comissura pediosa; **cpr**: conectivo pleuro-visceral; **csc**: comissura subcerebral; **dd**: ducto da glândula digestiva; **dg**: glândula digestiva; **dp**: papilas dorsais; **ebr**: vaso branquial eferente; **ef**: pregas esofágicas; **eg**: glândula esofageal; **es**: esôfago; **ey**: olho; **fc**: câmara de fertilização; **ft**: pé; **gf**: pregas gástricas; **gi**: brânquia; **go**: gônada; **gp**: poro genital; **hd**: ducto hermafrodita; **in**: intestino; **ip**: papila ímpar posterior; **jw**: mandíbula; **kd**: rim; **lp**: papilas laterais; **m1**: músculos protratores da massa bucal; **m2**: músculos retratores ventrolaterais da massa bucal; **m3**: músculos superficiais posteriores da massa bucal; **m10**: músculos protratores ventrais da massa bucal; **mb**: músculos intrínsecos do bulbo suctorial; **mc**: músculo circular da massa bucal; **mg**: glândula de muco; **MNHN**: Muséum National d'Histoire Naturelle; **mo**: boca; **mp**: músculo protrator do odontóforo; **ms**: músculos retratores do bulbo suctorial; **mt**: metapódio; **MZSP**: Museu de Zoologia da USP; **na**: abertura nidimental; **ne**: nefróstoma; **no**: notum; **nr**: anel nervoso; **od**: odontóforo; **og**: glândula oral; **ot**: tentáculo oral; **p**: pênis; **pc**: pericárdio; **pd**: gânglio pedioso; **pl**: gânglio pleural; **pp**: comissura parapediosa; **pr**: próstata; **ps**: bainha do pênis; **ra**: rádula; **rd**: ducto do receptáculo seminal; **rg**: gânglio rinoforal; **ri**: rinóforo; **rin**: nervo rinoforal; **rn**: núcleo radular; **rp**: ducto renopericárdico; **sc**: estatocisto; **scc**: conexão entre estômago e câmara cecal; **sg**: glândula salivar; **sr**: receptáculo seminal; **st**: estômago; **tf**: tiflossole; **ud**: ducto uterino; **va**: vagina; **vd**: ducto deferente; **ve**: ventrículo; **vf**: pregas ventrais; **vg**: gânglio visceral; **vs**: seio venoso; **YCI**: Yacht Club de Ilhabela.

Tabela 1. Relação do material analisado das espécies de *Okenia* Menke, 1830 estudadas.

Espécie	Nº de coleção	Localidade	Data de coleta	Coletor (s)	Nº de espécimes	Nº de espécimes dissecados/sequenciados	Nº de acesso GenBank
<i>O. polycerelloides</i>	MNHN	Ilhas Canárias, Tenerife, Los Cristianos	1983	---	1 (análise por imagem)	---	---
<i>O. polycerelloides</i>	MZSP 32460	Brasil, São Paulo, Santos, Porto Alemoa	09/v/2000	P. P. Pinho	1	---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 001	Brasil, São Paulo, São Sebastião, Araçá	25/x/2011	A. E. Migotto	4	4/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	MZSP 103213	Brasil, São Paulo, São Sebastião, Praia do Segredo	17/i/2012	P. O. V. Lima	7	---	---
<i>O. polycerelloides</i>	MZSP 103278	Brasil, São Paulo, São Sebastião, Itaçucê	20/i/2012	Y. Tibiriça	30	5/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 002	Brasil, São Paulo, São Sebastião, Araçá	20/vii/2012	C. Thiago	6	2/2	---
<i>O. polycerelloides</i>	MZSP 109952	Brasil, São Paulo, São Vicente, Canto da Ilha Porchat	11xi/2012	C. M. Cunha	28	2/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	MZSP 109953	Brasil, São Paulo, São Vicente, Canto da Ilha Porchat	11xi/2012	C. M. Cunha	1	---	---

Continua

Tabela 1. Continuação

Espécie	Nº de coleção	Localidade	Data de coleta	Coletor (s)	Nº de espécimes	Nº de espécimes dissecados/sequenciados	Nº de acesso GenBank
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 003	Brasil, São Paulo, Ihabela, Yacht Club de Ihabela	28/ii/2012	L. Sales, B. Sayão	78	10/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 004	Brasil, São Paulo, Ihabela, Yacht Club de Ihabela	16/i/2013	L. Sales	5	4/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 005	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Marina Kawai	21/i/2013	L. Sales, B. Sayão, K. Nascimento	38	6/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 006	Brasil, São Paulo, Ihabela, Yacht Club de Ihabela	11/ix/2013	L. Sales	6	2/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 007	Brasil, São Paulo, Ihabela, Yacht Club de Ihabela	18/ix/2013	L.Sales	4	---	---
<i>O. polycerelloides</i>	MZSP 47262	Brasil, Santa Catarina, Porto Belo, Praia do Araçá	31/i/2005	---	11	1/---	---
<i>O. polycerelloides</i>	LSO 008	Brasil, Bahia, Salvador, Praia da Ribeira	06/xi/2013	L. Sales, B. Sayão, K. Nascimento	20	1/---	---
<i>O. harastii</i>	AM C. 145165	Austrália, Península Yorke, Point Turton Jetty	19/ii/1985	W. B. Rudman	~100: 45 analisados	16/---	---

Continua

Tabela 1. Continuação

Espécie	Nº de coleção	Localidade	Data de coleta	Coletor (s)	Nº de espécimes	Nº de espécimes dissecados/sequenciados	Nº de acesso GenBank
<i>O. evelinae</i> *	MZSP 118003	Brasil, São Paulo, Ubatuba e Ilhabela	vii/1955	---	7 (lâminas)	---	---
<i>O. evelinae</i> *	MZSP 25340	Brasil, Rio de Janeiro, Cabo Frio, Praia do Però	vii/1957	L. R. Tommasi	1	---	---
<i>O. evelinae</i>	MZSP 109954	Brasil, Rio de Janeiro, Ilha Grande	17/x/2012	A. E. Migotto	1	---	---
<i>O. evelinae</i>	LSO 009	Brasil, São Paulo, Ilhabela, Yacht Club de Ilhabela	11/ix/2013	L. Sales	6	4/1	---
<i>O. evelinae</i> *	MZSP 37937	---	---	---	~65	18/---	---
<i>O. evelinae</i> *	MZSP 75105	---	---	---	11	---	---
<i>O. evelinae</i> *	MZSP 76220	---	---	---	37	5/---	---
<i>O. zoobotryon</i>	CASIZ 18105	Ilhas Bermudas, Hamilton Parish, "Tom Moore Pond"	vi/2009	M. Pola, G. Calado, M. A. Malaquias, J L. Cervera	1	---/1	KF744241.1
<i>O. zoobotryon</i>	CASIZ 18106	Ilhas Bermudas, Hamilton Parish, "Tom Moore Pond"	vi/2009	M. Pola, G. Calado, M. A. Malaquias, J L. Cervera	1	1/1	---

*Espécimes identificados pelo Dr. Ernst Marcus.

RESULTADOS

Análise Morfológica

Um total de 406 espécimes foi analisado externamente, dentre os quais 81 foram dissecados. A análise morfológica revelou que os espécimes previamente identificados como *O. zoobotryon* se tratam de pelo menos três espécies diferentes, caracterizadas em detalhe logo abaixo. Posteriormente, encontra-se a Tabela 2 (página 52) que apresenta um sumário comparativo das diferenças entre elas.

Ordem Nudibranchia Cuvier, 1817

Goniodorididae H. Adams & A. Adams, 1854

Okenia Menke, 1830

Diagnose: Ver Rudman, 2004a: 6.

Espécie-tipo: *Idalia elegans* Leuckart, 1828, por monotipia.

Lista sinonímica: Ver Rudman, 2004a: 5.

Okenia polycerelloides (Ortea & Bouchet, 1983)

(Figuras: 1–7)

Bermudella polycerelloides Ortea & Bouchet, 1983: 49–54, figs. 1–2; Ortea *et al.*, 1996:

128, 2009: 76, 79–83, pl. 2 fig. B.

Okenia polycerelloides: Caballer, 2014.

Okenia zoobotryon: Poddubetskaia, 2004; Grune, 2005; Valdés, 2006; Valdés *et al.*,

2006: 126–127, 1 fig.; Ianniello, 2007; García *et al.*, 2008: 102–103, 2 figs. (*non* Smallwood, 1910).

Localidade-tipo: Los Cristianos, Tenerife, Ilhas Canárias.

Material Tipo: Holótipo, MNHN (Figura 1) [Análise feita por imagens].

Material examinado: Ilhas Canárias, Tenerife, Los Cristianos, 1983, 1 m prof., J. Ortea, P. Bouchet det., holótipo, espécime analisado via imagem, **MNHN**; Brasil, São Paulo: Santos, Porto Alemoa, 09/v/2000, 10–12 m prof., P. P. Pinho col., L. Sales det., 1 espécime, 4 mm comprimento preservado, **MZSP 32460**; São Sebastião, Araçá, 25/x/2011, A. E. Migotto col., L. Sales det., 4 espécimes, 3–5 mm comprimento preservados, 4 dissecados, **LSO 001**; São Sebastião, Praia do Segredo, 17/i/2012, P. O. V. Lima col., L. Sales det., 7 espécimes, 3–5 mm comprimento preservados, **MZSP 103213**; São Sebastião, Itaçuçê, 20/i/2012, Y. Tibiriça col., L. Sales det., 30 espécimes, 1–4 mm comprimento preservados, 5 dissecados, **MZSP 103278**; São Sebastião, Araçá, 20/vii/2012, C. Tiago col., L. Sales det., 6 espécimes, 1–2 mm preservados, 2 dissecados e sequenciados, **LSO 002**; São Vicente, Canto da Ilha Porchat, 11/xi/2012, 0,5 m prof., C. M. Cunha col., L. Sales det., 28 espécimes, 3–8 mm comprimento preservados, 2 dissecados, **MZSP 109952**; São Vicente, Canto da Ilha Porchat, 11/xi/2012, 0,5 m prof., C. M. Cunha col., L. Sales det., 1 espécime, 7 mm comprimento preservado, **MZSP 109953**; Ilhabela, Yacht Club de Ilhabela (YCI), 28/ii/2012, 1–2 m prof., L. Sales, B. Sayão col., L. Sales det., 78 espécimes, 1–7 mm comprimento preservados, 10 dissecados, **LSO 003**; Ilhabela, YCI, 16/i/2013, 1–2 m prof., L. Sales col., L. Sales det., 5 espécimes, 3–5 mm comprimento preservados, 4 dissecados, **LSO 004**; Ubatuba, Marina Kawai, 21/i/2013, 1–2 m prof., L. Sales, B. Sayão, K. Nascimento col., L. Sales det., 38 espécimes, 3–6 mm comprimento preservados, 6 dissecados, **LSO 005**; Ilhabela, YCI, 11/ix/2013, 1–2 m prof., L. Sales col., L. Sales det., 6 espécimes, 2–4 mm comprimento preservados, 2 dissecados, **LSO 006**; Ilhabela, YCI, 18/ix/2013, 1–2 m prof., L. Sales col., L. Sales det., 4 espécimes, 6–8 mm comprimento preservados, **LSO 007**; Brasil, Santa Catarina, Porto Belo, Praia do

Araçá, 31/i/2005, L. Sales det., 11 espécimes, 1–4 mm comprimento preservados, 1 dissecado, **MZSP 47262**; Brasil, Bahia, Salvador, Praia da Ribeira, 06/xi/2013, 1 m prof., L. Sales, B. Sayão, K. Nascimento col., L. Sales det., 20 espécimes, 1–3 mm comprimento vivos, 1 dissecado, **LSO 008**.

Diagnose: Espículas tegumentares ausentes; papila central posterior contínua com papilas laterais; brânquia com 7–9 filamentos bipinados; tiflossole estendendo-se a partir da câmara cecal até cerca de 4/5 do comprimento total do intestino; pênis cerca de 4 vezes o comprimento da vagina, subindo a partir de sua base na região lateroventral direita posterior à massa bucal, para região dorsal do animal, enovelado com voltas irregulares e descendo para região lateral direita; bainha do pênis cerca de 2 vezes mais largada na extremidade distal em relação à abertura; bursa copulatória e receptáculo seminal com forma oval.

Morfologia externa (Figuras: 1A–E; 2A; 2D; 3A–C): **Forma do corpo** (Figuras: 1A–E; 2A; 3A–C) alongada, cerca de 3–8 mm de comprimento (jovem ~1 mm); terço anterior e posterior tão altos quanto a largura do corpo; terço médio mais alto, formando leve corcunda (Figuras: 1A; 1D; 2A; 2D; 3C) com cerca de 1,5 vez a largura do corpo. **Brânquia** (Figuras: 2A; 3A; 3C; 4C: gi) no terço posterior do corpo, com 7–9 filamentos bipinados nos adultos e 5 no jovem analisado, circundando o ânus; de tamanho decrescente no sentido posterior; par anterior cerca de 2 vezes mais longo que par posterior. **Pé** (Figuras: 1E; 2B–C: ft) ultrapassando a largura do corpo cerca de 1/8 da largura total do pé em cada lado; **metapódio** (Figuras: 3A; 3C: mt) se estendendo cerca de 1/4 do comprimento do corpo, além do limite posterior do corpo, triangular, levemente afilado posteriormente. **Poro genital** (Figuras: 3C; 4A: gp) na lateral direita do corpo, em posição que varia entre anterior à segunda papila lateral à intermediária entre a segunda e a terceira, comumente abaixo da segunda. **Notum** (Figuras: 3A–C:

no) variável, limitado à largura do corpo; delimitado pela presença de papilas laterais ou com presença de borda distinta, rodeada pelas papilas. **Papilas** cilíndricas, com base ligeiramente mais larga que ápice arredondado, medindo cerca de 1/4–1/3 do comprimento do rinóforo; **papilas anteriores** (Figuras: 3A–C: ap), 2–3 anteroventrais à base dos rinóforos, duas laterais e uma central, frequentemente menor, com até 1/4 do tamanho das demais; **papilas laterais** (Figuras: 3A–C: lp), 9–12 no total, um dos lados do corpo podendo apresentar uma a menos que outro, ou em números equivalentes; **papila ímpar posterior** contínua com a linha das papilas laterais (Figuras: 3A; 3C: ip); **papilas dorsais** (Figuras: 3A; 3C: dp) 2–7 (usualmente 6-7) sobre o notum, entre rinóforos e brânquia, constantes em posição; variação no número de papilas pela ausência de até 5 na disposição geral; quando em número máximo (7), se dispõem em dois triângulos com 3 papilas cada, mais uma anterior aos triângulos, comumente mais curta cerca de até 1/3 das demais, paralela em relação às centrais; demais 6 papilas de dimensão semelhante às papilas laterais; **jovem** (Figura: 2D) com quatro papilas dorsais dispostas formando um losango. **Região cefálica** (Figura: 3B) no terço anterior do corpo, composta por: **boca** (Figura: 3B: mo) anteroventral, próxima a borda anterior do pé; **tentáculos orais** (Figuras: 3A–C) lisos, curtos, cerca de 1/3 do comprimento do rinóforo, dorsolaterais em relação à boca, forma e largura similares às papilas, até cerca de 1,5 vez mais largos que as papilas; **rinóforos** (Figuras: 3A–C: ri) dorsais, comprimento cerca de 1–1,5 vez a largura do corpo, com 5–9 lamelas que podem variar em número entre os rinóforos do mesmo espécime; lamela na forma de meia-taça, voltada para cima, cobrindo cerca de 2/4 médios da face posterior do rinóforo; **jovem** (Figura: 2D) com rinóforos lisos.

Coloração (Figuras: 2A–B; 2D): **Corpo** esbranquiçado, translúcido, com máculas em tons de marrom claro e escuro, e manchas formadas por aglomerados de

raios branco opacos, irregularmente distribuídas; pigmentação azulada irregular presente ou não em menor número. **Papilas, brânquia e rinóforos** com coloração similar ao resto do corpo, porém com manchas marrons mais concentradas nas bases dos rinóforos e hastes dos filamentos branquiais, até a metade proximal; aglomerados de raios branco opacos mais concentrados na extremidade distal dos rinóforos. Superfície ventral do **pé** branca translúcida. Face dorsal do metapódio com coloração semelhante ao corpo. **Jovem** (Figura: 2D) predominantemente branco translúcido, com poucas manchas marrons e aglomerados branco opacos.

Massa visceral (Figuras: 4A–B): **Massa bucal** (bm) anterior; **anel nervoso** (nr) circum-esofágico, posterodorsal à massa bucal. **Sistema reprodutor** no 1/3 anterior da massa visceral, posterior ao sistema nervoso; **gônada** (go) posterior ao sistema reprodutor, envolvendo completamente a glândula digestiva, ocupando cerca de 2/3 do comprimento total da massa visceral; **câmara cecal** (cc) dorsal ao sistema reprodutor e anterior ao pericárdio; **esôfago** (es) parcialmente ventral à câmara cecal e dorsal à ampola; **intestino** (in) à direita do rim, dorsal ao sistema reprodutor e gônada; **rim** (kd) ventral ao pericárdio; **seio_venoso** à esquerda do ânus e posterior ao rim.

Sistema circulatório e excretor (Figuras: 4A; 4C): **Pericárdio** (Figura: 4A; 4C: pc) alongado, relativamente grande, cobrindo cerca de 1/4 do comprimento e 1/2 da largura da massa visceral, entre câmara cecal e brânquia, dorsal ao rim; círculo branquial dividido em anéis aferente e eferente na base da brânquia (Figura: 4C: ebr). **Seio venoso** (Figura: 4A: vs) conectado ventralmente ao anel aferente. **Aurícula** (Figura: 4C: au) na região posterior da cavidade pericárdica, com 1,5–2 vezes o tamanho do ventrículo, triangular; região posterior cerca de 3 vezes mais larga que a anterior, com parede fina, muito trabeculada. **Ventrículo** (Figura: 4C: ve) aproximadamente losangular, conectado posteriormente à porção anterior da aurícula, e

com região anterior ligada à parede ventral do pericárdio, emitindo ventralmente o tronco aórtico que se bifurca em aortas anterior e posterior. **Aorta anterior** (Figura: 4C: aa) disposta dorsolateralmente à direita do sistema reprodutor e conectando-se à glândula de sangue que se situa dorsalmente à glândula de muco. **Aorta posterior** (Figura: 4C: apt) disposta ventralmente ao rim em sentido posterior, mergulhando na porção central da glândula digestiva. **Rim** (Figura: 4A: kd) com parede fina, granulosa, parcialmente ligada posteriormente à parede ventral do pericárdio, conectado ao mesmo pelo ducto **renopericárdico** (Figura: 4A; 4C: rp) que se abre internamente na região ventrolateral direita posterior do pericárdio. **Nefróstoma** (Figura: 4A: ne) pequeno, próximo à borda anterolateral direita do ânus.

Sistema digestório (Figuras: 4A; 5A–D; 6A; 7A–F): **Massa bucal** (Figuras: 4A–B; 5A: bm) pequena, ocupando cerca de 1/11 do comprimento da massa visceral: **bulbo suctorial** (Figuras: 4A; 5A; 5C; 6A: bu) muscular, dorsal, cerca de 1/2 da massa bucal; **glândula oral** (Figuras: 4A; 5C: og) com forma cônica, composta de vários lobos alongados com extremidade posterior livre, e anteriormente conectada ao redor da borda interna da conexão da massa bucal com a parede interna da hemocele, circundando e cobrindo cerca de 1/2 da superfície anterior da massa bucal. **Músculos da massa bucal** (Figura: 5D): **músculo protrator do odontóforo** (mp) originando-se na superfície ventral da massa bucal, com inserção ao redor do odontóforo; **músculo circular da massa bucal** (mc), esfíncter peribucal circundando cerca de 1/3 anterior da massa bucal; **músculos protratores da massa bucal** (m1) com várias fibras musculares, estreitas e longas, originando na superfície lateral da massa bucal e com inserção ao redor da boca; **músculos retratores ventrolaterais da massa bucal** (m2), par de músculos largos, com cerca de 1/2 do diâmetro da boca e tão longos quanto o comprimento da massa bucal, originando na superfície ventrolateral ao redor da boca e

com inserção na superfície ventrolateral interna da parede do corpo; **músculos superficiais posteriores da massa bucal** (m3), várias fibras finas, entrelaçadas, recobrimdo cerca de 2/3 da superfície posterior dorsal do saco radular; **músculos protratores ventrais da massa bucal** (m10), par de músculos cerca de 2 vezes mais largos que os retratores ventrolaterais da massa bucal (m2), originando-se na superfície ventral da boca, seguindo ventralmente e cobrindo quase toda superfície ventral da massa bucal, com inserção na região anteroventral do saco radular; **músculos retratores do bulbo suctorial** (ms), par de músculos curtos, cerca de 4 vezes mais longos que largos, originando na porção posteroventral do bulbo suctorial, seguindo ventralmente sobre os músculos superficiais posteriores da massa bucal (m3), com inserção na superfície lateral da massa bucal sobre músculo protrator do odontóforo (mp); **músculos intrínsecos do bulbo suctorial** (mb), série de fibras grossas, recobrimdo as laterais do bulbo suctorial e conectando extremidades dorsal e ventral do mesmo. **Mandíbula** (Figuras: 6A; 7F: jw), um par na extremidade anteroventral da cavidade bucal, lisa, pequena, cerca de 1/3 do diâmetro da boca, bordas anteriores separadas e posteriores próximas. **Par de pregas da massa bucal** (Figura: 6A: vf), na superfície ventral e longitudinal da massa bucal, borda anterior próxima às bordas laterais das mandíbulas, seguindo posteriormente, espaçadas na porção mediana, juntas e estreitas na extremidade posterior. **Odontóforo** (Figura: 6A: od) levemente elipsoide, na 2ª metade posterior da massa bucal e ocupando cerca de 1/3 do volume desta. **Saco radular** (Figuras: 5A; 5C; 6A: rn) alongado, cerca de 1/2 do comprimento total do odontóforo. **Rádula** (Figuras: 6A; 7A–E: ra), 29–31 x 1.1.0.1.1.; dentes laterais com base longa, cerca de 2 vezes mais larga que cúspide; cúspide alongada, extremidade cerca de 4 vezes mais estreita que base, superfície interna côncava, com sulco raso, borda interna coberta por denticulação pectinada, cerca de 15–18 dentículos,

relativamente longos e finos, menores nas extremidades da fileira e mais compridos em direção à região central; dentes marginais cerca de 1/3 do comprimento dos dentes laterais; base larga, retangular; extremidade recurvada bicúspide, cúspides paralelas ou podendo se cruzar nas pontas, cerca de 1/2 do tamanho do dente. **Esôfago** (Figuras: 4B; 5A: es) cilíndrico, cerca de 3/4 do comprimento do intestino; dois pares de **pregas esofágicas** (Figura: 6A: ef) internas originando na base superior da abertura interna do bulbo suctorial, nos lados direito e esquerdo. **Glândulas salivares** (Figuras: 5C–D: sg), um par, arredondadas, localizadas na porção lateral posterior da massa bucal, próximo ao ponto de conexão com esôfago, cerca de 2 vezes maior que gânglios bucais. **Par de glândulas esofageais** (Figuras: 5C–D: eg) com forma similar às glândulas salivares, cada uma localizada entre glândula salivar, esôfago e gânglio bucal, em cada lado da massa bucal. **Estômago** (Figura: 5A: st) conectado anteriormente ao esôfago e posteriormente à câmara cecal, ventral à glândula digestiva e conectado com esta por dois ductos (dd), um lateral direito e outro ventral à parede do estômago. **Câmara cecal** (Figuras: 4A–B; 5A–B: cc) com pregas internas a partir da conexão com estômago até começo do intestino; **tiflossole** (Figuras: 5A–B: tf) originando na parede interna superior e estendendo-se pelo intestino até cerca de 4/5 do comprimento total do mesmo. **Intestino** (Figuras: 4A; 5A–B: in) iniciando-se a partir do final da câmara cecal, com diâmetro similar ao do esôfago, terminando no ânus, situado no centro do círculo branquial.

Sistema reprodutor (Figuras: 4A–B; 6B): posterior ao anel nervoso, anterior à glândula digestiva, ocupando cerca de 1/3 do comprimento total da massa visceral (Figuras: 4A–B). **Gônada** (Figuras: 4A–B: go) fina, recobrimdo toda glândula digestiva, estendendo-se por cerca de 2/3 do comprimento da massa visceral. **Ducto hermafrodita** (Figura: 6B: hd) fino e longo, conectado à extremidade anterolateral direita da gônada,

ventral ao intestino; conectado à ampola na região lateral subterminal da mesma. **Ampola** (Figuras: 4B; 6B: am) alongada e tubular, dorsal às **glândulas de muco** (mg) e **albúmen** (ag); emitindo ducto curto, cerca de 1/6 do comprimento da ampola, que surge na extremidade anterior, inserindo-se entre glândulas femininas, onde bifurca-se e conecta-se com câmara de fertilização e próstata. **Próstata** (Figuras: 4B; 6B: pr) tubular, ventral à glândula de muco, cerca de 2 vezes o comprimento da ampola, curvando-se na região mediana, estreitando no sentido posterior, formando ducto deferente. **Ducto deferente** (Figuras: 4A–B; 6B: vd) longo (cerca de 3 vezes mais longo que próstata) e fino, extremidade distal imersa na bainha do pênis onde se conecta à base do mesmo. **Pênis** (Figuras: 4A; 6B: p) cilíndrico, alongado, cerca de 4 vezes o comprimento da vagina; revestido em toda extensão por **bainha** (Figuras: 4B; 6B: ps) cerca de 2 vezes mais larga na extremidade da base do pênis; base do pênis localizada ventrolateralmente do lado direito do corpo, posterior à massa bucal; pênis seguindo a partir da base para região dorsal do animal, disposto de forma enovelada dando voltas irregulares e descendo para região lateral direita, abrindo externamente no poro genital, em átrio comum à vagina e abertura nidimental (Figura: 4A). **Câmara de fertilização** (Figura: 6B: fc) parcialmente imersa no centro, entre glândulas e ductos do sistema hermafrodita, abrindo na abertura nidimental, ventralmente à vagina no átrio comum do poro genital. **Ducto uterino** (Figura: 6B: ud) emergindo da câmara de fertilização anterolateral à inserção do ducto da ampola; bifurca-se em curto ducto do receptáculo seminal e ducto do aloesperma. **Ducto do receptáculo seminal** (Figura: 6B: rd) cerca de duas vezes mais largo e mais curto que ducto uterino. **Ducto do aloesperma** (Figura: 6B: ad) com largura similar à do ducto do receptáculo seminal e variando entre 2,5–3 vezes o comprimento da vagina. **Receptáculo seminal** (Figuras: 4A; 6B: sr) e **bursa copulatória** (Figuras: 4A–B; 6B: bc) com forma oval. **Vagina** (Figuras: 4A; 6B: va)

com forma e largura similares às da bainha do pênis e cerca de 1/4 do comprimento deste, dorsolateral à glândula de muco e paralela à bainha do pênis na região próxima ao poro genital.

Sistema nervoso (Figuras: 4A–B; 5A; 5C; 6C–D): **Anel nervoso** (Figuras: 4A–B; 5A; 5C: nr) posterior à massa bucal, circundando o esôfago anteriormente. **Gânglios cerebrais e pleurais** fundidos, formando os gânglios cérebro-pleurais (Figuras: 5C; 6C–D: ce; pl), dorsolaterais ao esôfago; **comissura cerebral** (Figuras: 6C–D: cce) curta com cerca de 1/3 da largura do gânglio; **conectivos pleuroviscerais** (Figuras: 5C; 6C–D: cpr) curtos, esquerdo tão longo quanto o comprimento do gânglio cérebro-pleural e direito cerca de 1/3 desse comprimento; ambos com origem na face interna e posterior dos gânglios cérebro-pleurais. **Gânglio visceral** (Figuras: 5C; 6D: vg) alongado, ventral ao esôfago, tão longo quanto conectivo pleurovisceral esquerdo. **Gânglios pediosos** (Figuras: 5C; 6C–D: pd) ventrolaterais ao esôfago, ventrais e ligeiramente posteriores aos gânglios cérebro-pleurais; **conectivo cérebro-pleural-pedioso** indistinto; porção anterodorsal do gânglio pedioso encostada na porção anteroventral do gânglio cérebro-pleural; **comissura pediosa** (Figuras: 6C–D: cp) de 2–3 vezes mais larga e com mesmo comprimento da **comissura parapediosa** (Figuras: 6C–D: pp), em posição paralela, ventral ao esôfago; comissuras pediosa e parapediosa variando em comprimento de 1/5–1/2 da largura do gânglio pedioso. **Gânglios bucais** (Figuras: 5C; 6C–D: bg) dorsais à massa bucal, ventrais ao esôfago e posterolaterais às glândulas salivares e esofageais; **comissura bucal** (Figuras: 6C–D: cbg) curta; **conectivos cérebro-bucais** (Figuras: 5C; 6C–D: ccb) com origem na face anteroventral dos gânglios cérebro-pleurais, longos, cerca de 2 vezes o comprimento do conectivo pleurovisceral esquerdo, passando lateralmente ao esôfago e glândulas salivares, cruzando ventralmente os músculos superficiais posteriores da massa bucal (Figura 5D: m3) e se conectando na

face lateroventral dos gânglios bucais. **Gânglios rinoforais** (Figuras: 6C–D: rg), presentes como bulbos nas extremidades anterolaterais dos gânglios cerebrais, ponto de emissão do nervo rinoforal. **Olhos** (Figuras: Figuras: 5C; 6C–D: ey) encostados diretamente e lateralmente nos gânglios cerebro-pleurais, num ponto próximo ao conectivo cérebro-pleural-pedioso. **Estatocistos** (Figura: 5C: st) dorso-posteriores aos gânglios pediosos, próximos aos conectivos cérebro-pleurais-pediosos, recobertos pelos gânglios cérebro-pleurais.

Distribuição (Figura: 19): Ilhas Canárias (Ortea & Bouchet, 1983; Ortea *et al.*, 2009); Senegal (Poddubetskaia, 2004); Venezuela (Grune, 2005; Valdés *et al.*, 2006); Flórida, EUA (Ianniello, 2007); Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, Brasil (García *et al.*, 2008; presente trabalho).

Notas biológicas: Vive associada a colônias do briozoário *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1822), do qual se alimenta e onde deposita suas massas de ovos. A alimentação aparentemente ocorre por sucção dos zooides do briozoário, provavelmente proporcionada pelo bulbo de sucção presente na massa bucal. As massas de ovos são cilíndricas, com tamanho variável (4–10 mm), translúcidas e com ovos brancos (Figura: 2C). Os indivíduos apresentam comportamento de cópula promíscuo, copulando diversas vezes com diferentes espécimes. A troca de esperma aparenta ser recíproca durante as cópulas. Desovam continuamente quando em aquário.

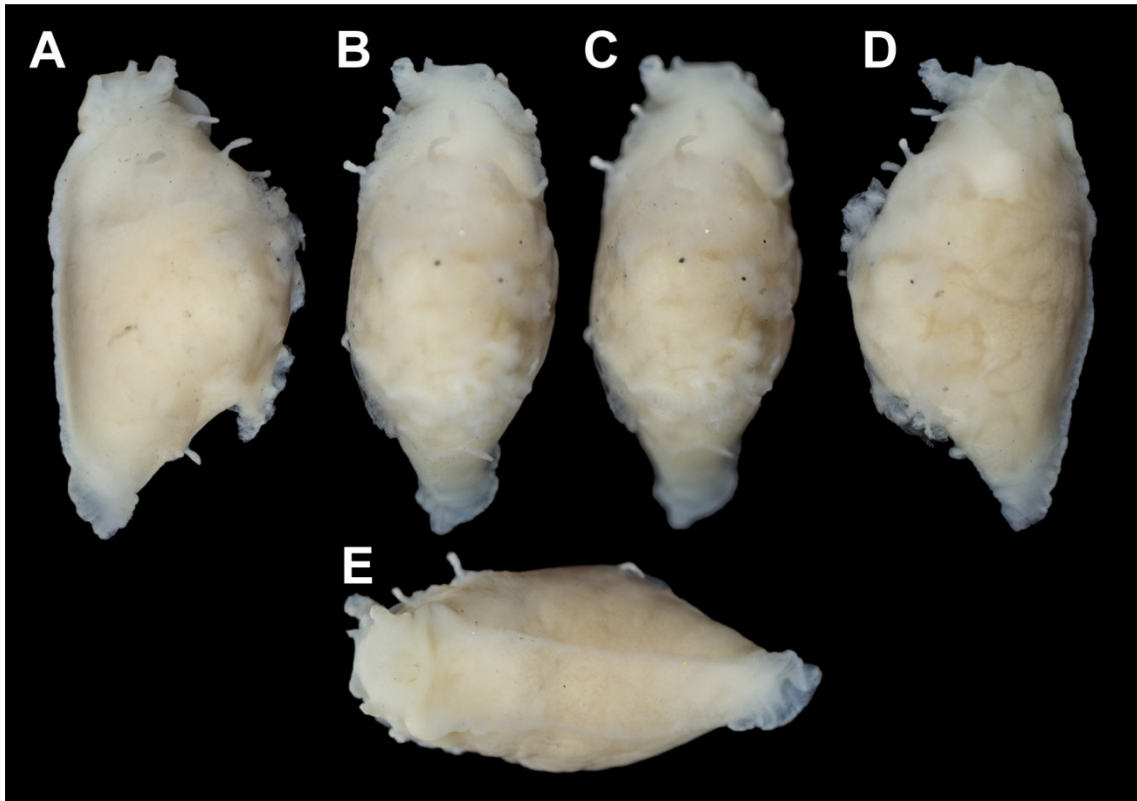


Figura. 1. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), holótipo depositado no MNHN, Los Cristianos Tenerife, Ilhas Canárias: **A.** Vista lateral esquerda; **B–C.** Vista dorsal; **D.** Vista lateral direita; **E.** Vista ventral. (Foto: M. C. Gutierrez).

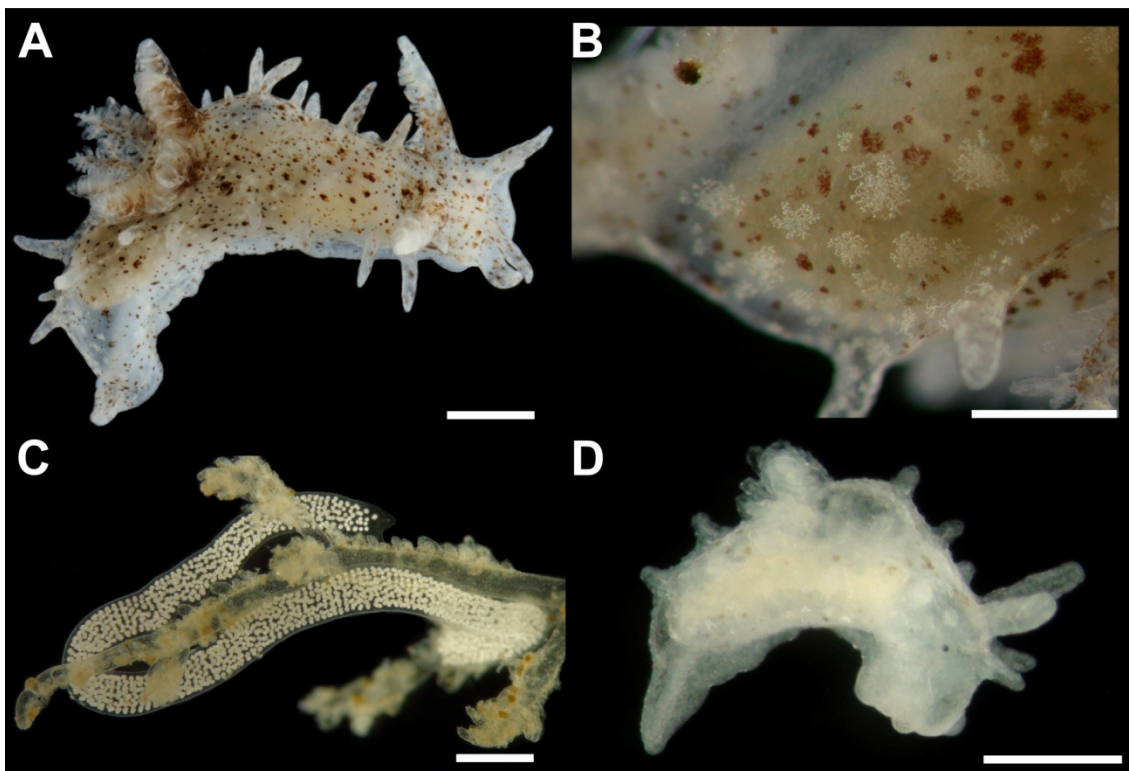


Figura. 2. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), São Sebastião, Brasil: **A.** Espécime vivo; **B.** Detalhe da coloração; **C.** Desova; **D.** Jovem. Escalas: A e C = 1mm; B = 500 μ m; D = 250 μ m.

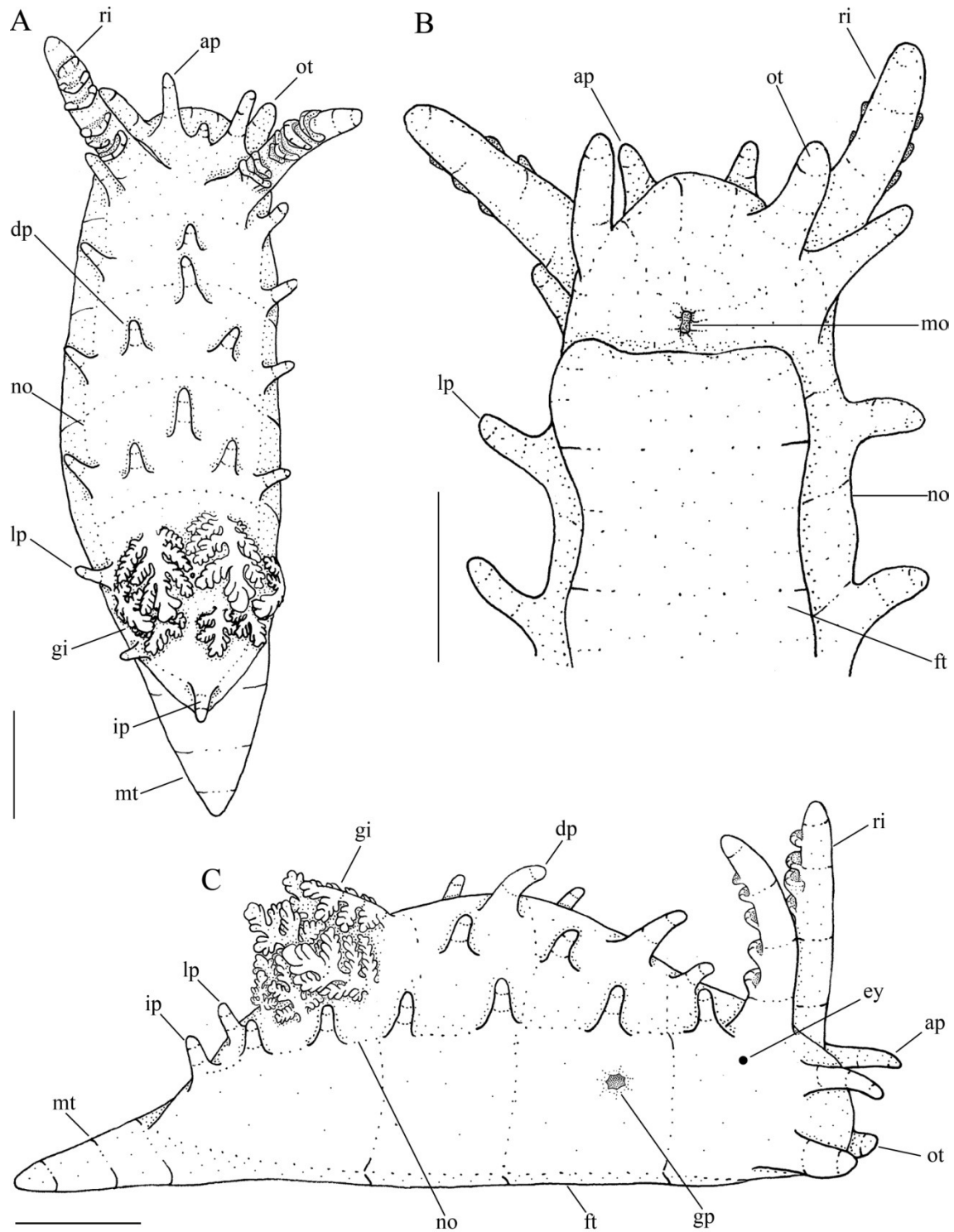


Figura. 3. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), Brasil. Morfologia externa: **A.** Vista dorsal; **B.** Vista ventral anterior; **C.** Vista lateral direita. **Escala:** 1mm. **Abreviações:** **ap**, papilas anteriores; **dp**, papilas dorsais; **ey**, olho; **ft**, pé; **gi**, brânquia; **gp**, poro genital; **ip**, papila ímpar posterior; **lp**, papilas laterais; **mo**, boca; **mt**, metapódio; **no**, notum; **ot**, tentáculo oral; **ri**, rinóforo

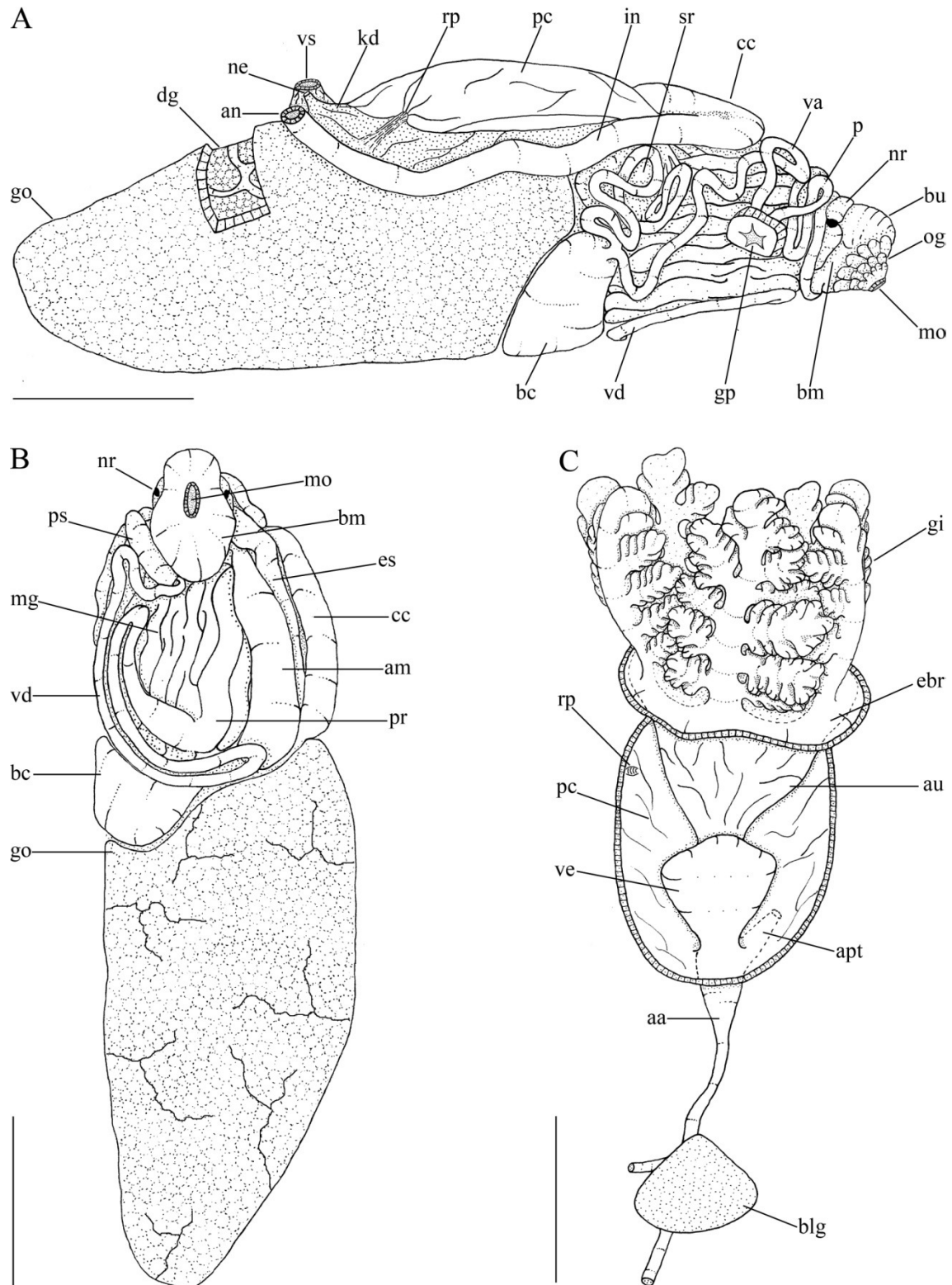


Figura. 4. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), Brasil: **A–B.** Massa visceral. **A.** Vista lateral direita; **B.** Vista ventral. **C.** Sistema circulatório com brânquia associada, vista dorsal. **Escala:** 1 mm. **Abreviações:** **aa**, aorta anterior; **ag**, glândula de albúmen; **am**, ampola; **an**, ânus; **apt**, aorta posterior; **au**, aurícula; **bc**, bursa copulatória; **blg**, glândula de sangue; **bu**, bulbo suctorial; **cc**, câmara cecal; **dg**, glândula digestiva; **ebr**, vaso branquial eferente; **es**, esôfago; **gi**, brânquia; **go**, gônada; **gp**, poro genital; **in**, intestino; **kd**, rim; **mo**, boca; **ne**, nefróstoma; **nr**, anel nervoso; **og**, glândula oral; **p**, pênis; **pc**, pericárdio; **pr**, próstata; **ps**, bainha do pênis; **rp**, ducto renopericárdico; **sr**, receptáculo seminal; **va**, vagina; **vd**, ducto deferente; **ve**, ventrículo; **vs**, seio venoso.

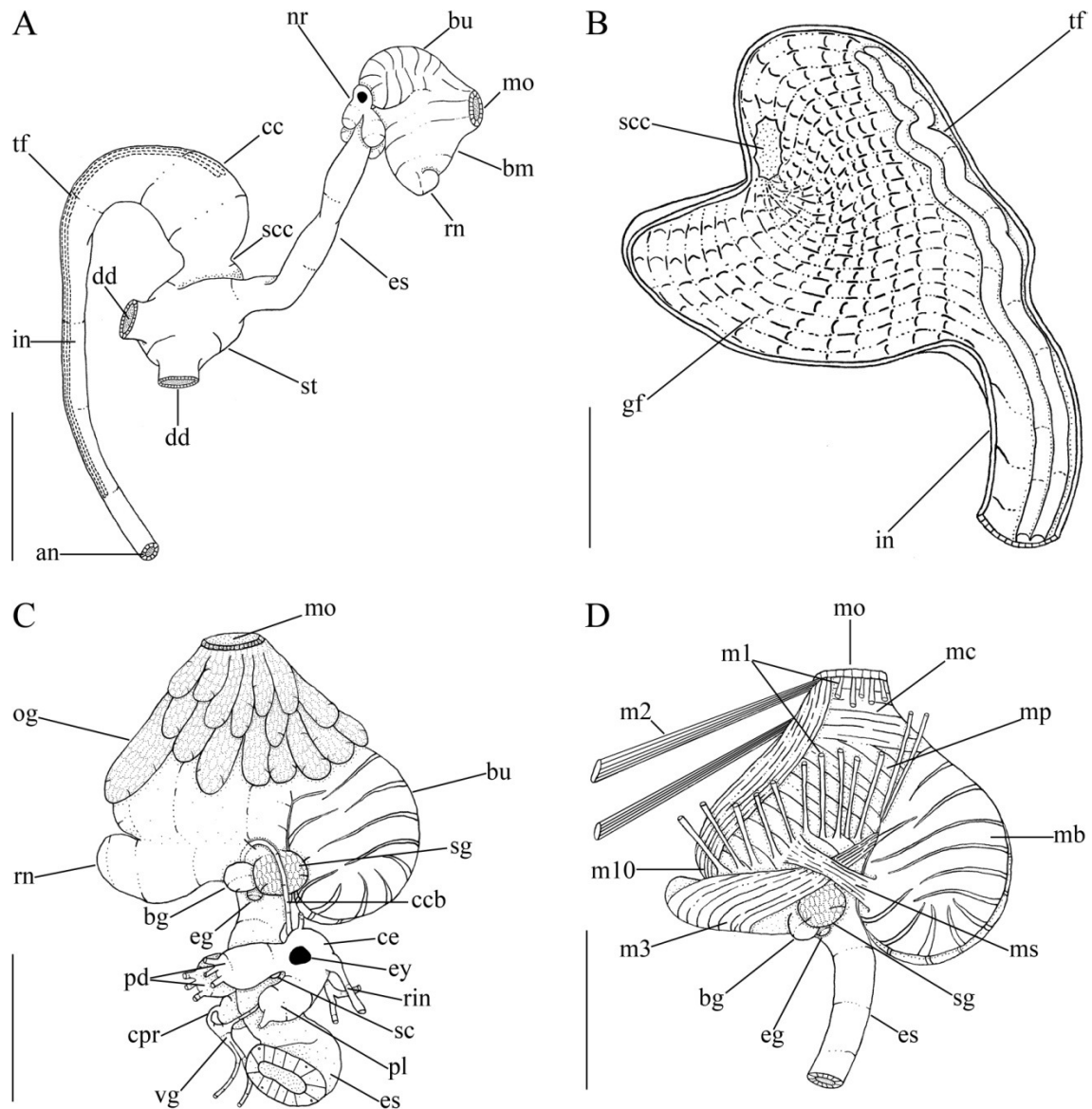


Figura. 5. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), Brasil. Sistema digestório: **A.** Esôfago e massa bucal rebatidos, vista ventral; **B.** Câmara cecal aberta, vista dorsal; **C.** Massa bucal com sistema nervoso, vista lateral esquerda; **D.** Músculos da massa bucal, vista lateral esquerda. **Escala:** A = 1 mm; B–D = 500 μ m. **Abreviações:** an, ânus; bg, gânglio bucal; bm, massa bucal; bu, bulbo suctorial; cc, câmara cecal; ccb, conectivo cérebro-bucal; ce, gânglio cerebral; cpr, conectivo pleuro-visceral; dd, ducto da glândula digestiva; eg, glândula esofageal; es, esôfago; ey, olho; gf, pregas gástricas; in, intestino; mb, músculos intrínsecos do bulbo suctorial; mc, músculo circular da massa bucal; mo, boca; mp, músculo protractor do odontóforo; ms, músculos retratores do bulbo suctorial; m1, músculos protratores da massa bucal; m2, músculos retratores ventrolaterais da massa bucal; m3, músculos superficiais posteriores da massa bucal; m10, músculos protratores ventrais da massa bucal; nr, anel nervoso; og, glândula oral; pd, gânglio pedioso; pl, gânglio pleural; rin, nervo rinofoal; rn, núcleo radular; sc, estatocisto; scc, conexão entre estômago e câmara cecal; sg, glândula salivar; st, estômago; tf, tiflossole; vg, gânglio visceral.

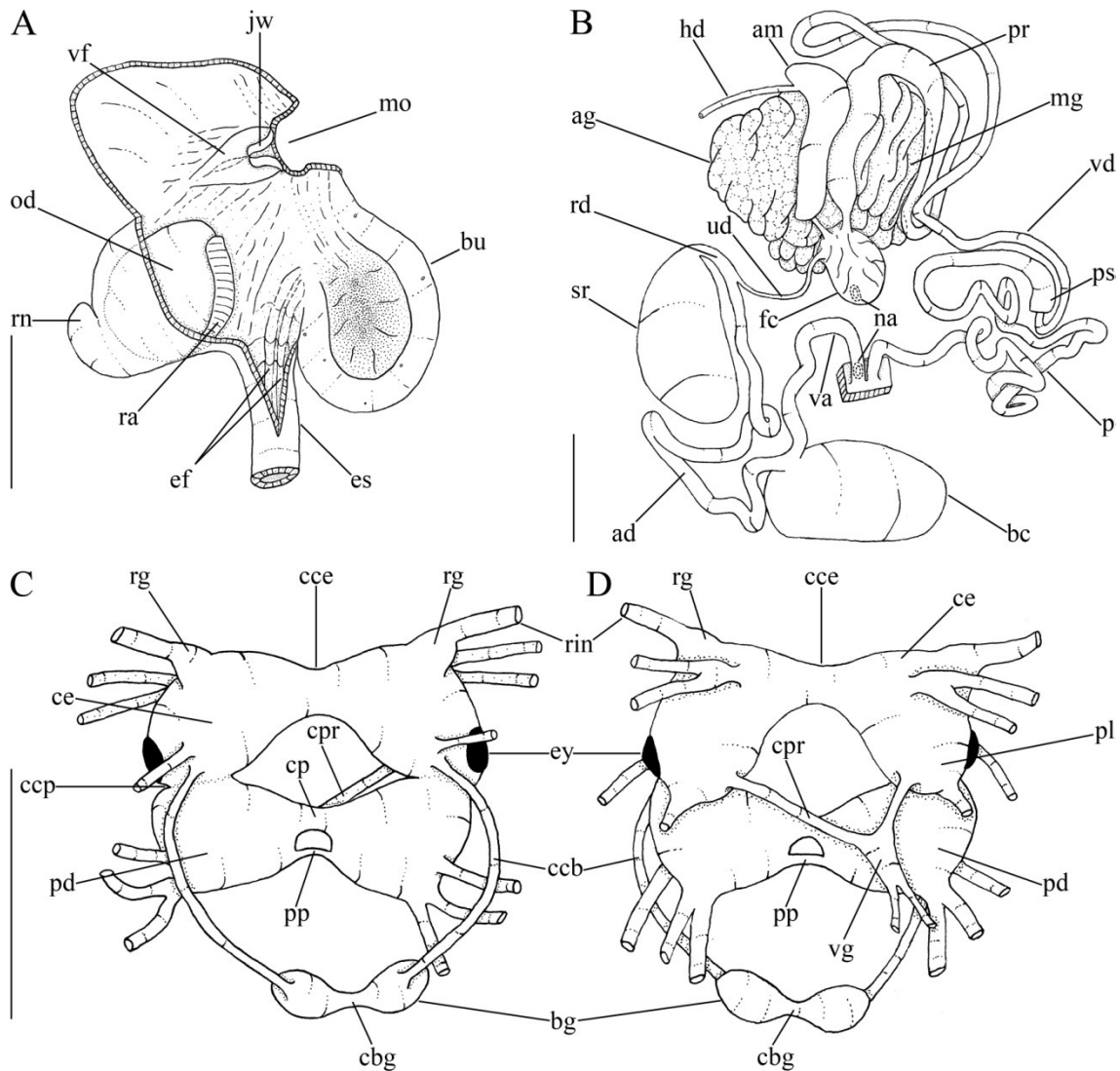


Figura. 6. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), Brasil. **A.** Massa bucal aberta, vista lateral esquerda com metade do bulbo de sucção removido; **B.** Sistema reprodutor, vista lateral direita com glândula rebatida; **C–D.** Sistema nervoso, **C.** Vista anterior; **D.** Vista posterior. **Escala:** 500 μ m. **Abreviações:** ad, ducto do aloesperma; ag, glândula de albúmen; am, ampola; bc, bursa copulatória; bg, gânglio bucal; bu, bulbo suctorial; cbg, comissura bucal; ccb, conectivo cérebro-bucal; ccp, conectivo cérebro-pedioso; cce, comissura cerebral; ce, gânglio cerebral; cp, comissura pediosa; cpr, conectivo pleuro-visceral; ef, pregas esofágicas; es, esôfago; ey, olho; fc, câmara de fertilização; hd, ducto hermafrodita; jw, mandíbula; mg, glândula de muco; mo, boca; na, abertura nidimental; od, odontóforo; p, pênis; pd, gânglio pedioso; pl, gânglio pleural; pp, comissura parapediosa; pr, próstata; ps, bainha do pênis; ra, rádula; rd, ducto do receptáculo seminal; rg, gânglio rinoforal; rin, nervo rinoforal; rn, rinóforo; sr, receptáculo seminal; ud, ducto uterino; va, vagina; vd, ducto deferente; vf, pregas ventrais; vg, gânglio visceral.

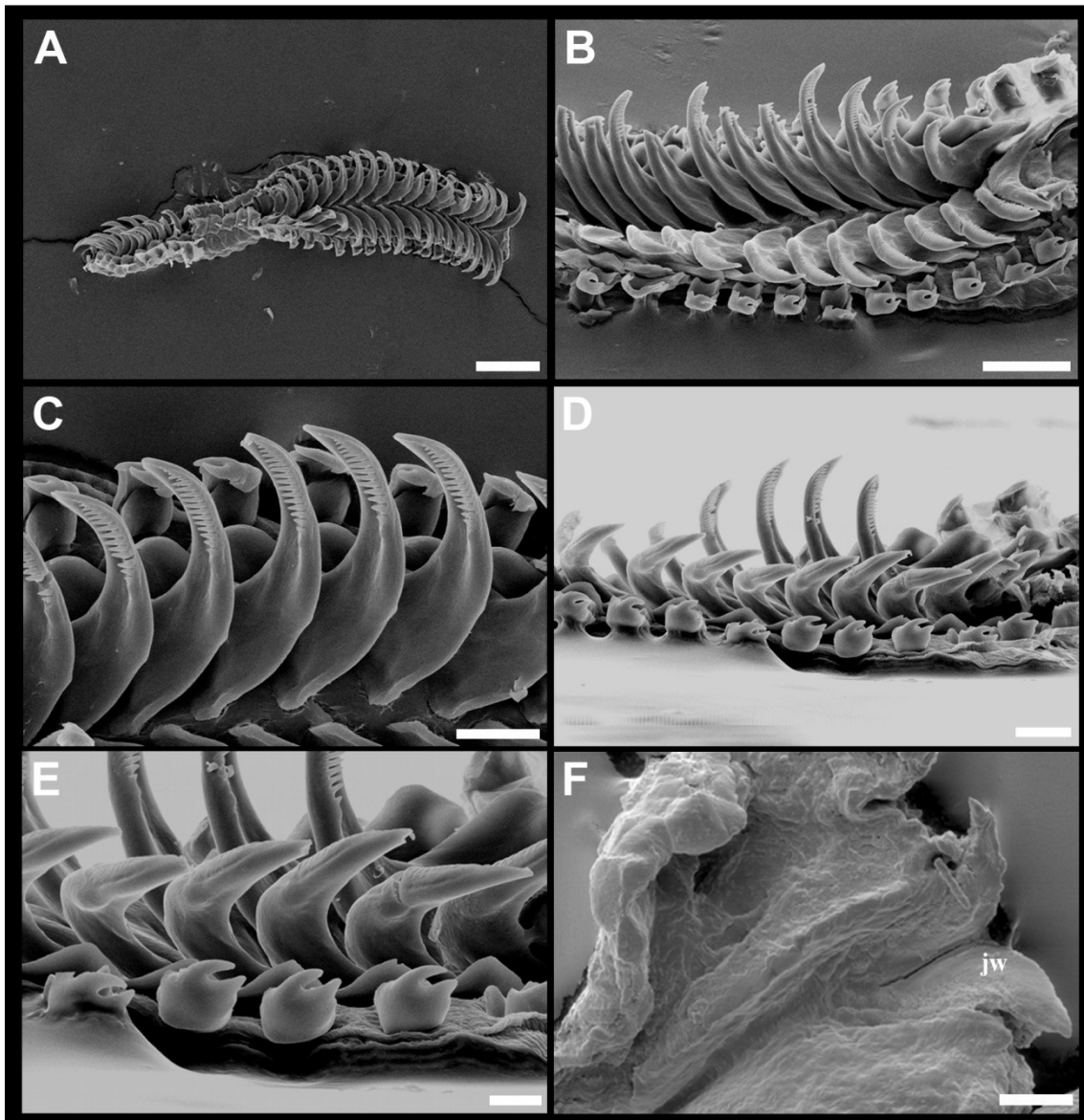


Figura. 7. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), Brasil. Rádula: **A.** Rádula, vista geral; **B.** Dentes radulares; **C.** Detalhe dos dentes laterais; **D.** Dentes radulares em vista lateral; **E.** Detalhe dos dentes marginais; **F.** Mandíbula. **Escala:** A = 80 μm ; B = 40 μm ; C–D, F = 20 μm ; E = 9 μm . **Abreviações:** **jw**, mandíbula.

Okenia harastii Pola, Roldán & Padilla, 2014

(Figuras: 8–12)

Okenia harastii Pola, Roldán & Padilla, 2014: 5–8, figs. 2–4.*Okenia zoobotryon*: Rudman, 2004a: 32–35, figs 4D, 12C, 15, 26A, 29D. (*non* Smallwood, 1910)*Localidade-tipo*: Nelson Bay, Port Stephens, New South Wales, Austrália.*Material Tipo*: Holótipo, AM C. 478860. Parátipos, AM C. 478861, AM C.478862 e MNCN 15.05/60084.*Material examinado*: Austrália, Península Yorke: Point Turton Jetty, 19/ii/1985, 3 m de prof., W. B. Rudman col., L. Sales det., c. 100 espécimes, 3–5 mm comprimento preservados, 45 analisados, 16 dissecados, **AM C.145165**.*Diagnose*: com reentrância conspícua na extremidade da borda externa da cúspide dos dentes radulares laterais; próstata cerca de três vezes o comprimento da ampola, em posição anterior à glândula de muco e circundando região posterior da massa bucal a partir da lateral esquerda em sentido ventral até lateral direita; comprimento da comissura cerebral aproximadamente igual à largura dos gânglios cérebro-pleurais; comissura subcerebral presente, extremamente fina, surgindo na face interna e posterior dos gânglios cérebro-pleurais, logo abaixo da origem dos conectivos pleuroviscerais; comissura pediosa fina com comprimento aproximadamente igual à largura dos gânglios pediosos; comissura parapediosa ausente.*Morfologia externa* (Figuras: 8A–D; 9A; 9C): Similar ao descrito para *O. polycerelloides* exceto nas características mencionadas a seguir. **Corpo** (Figuras: 8A–C; 9A; 9C) 3–4 mm de comprimento, com espículas no tegumento (Figura: 8D). **Brânquia** (Figuras: 9A; 9C: gi) com 3–4 filamentos variando entre unipinados, bipinados e uni-

bipinados no mesmo espécime; dois filamentos anteriores podem estar unidos na base. **Metapódio** (Figuras: 9A; 9C: mt) se estende de $3/8-1/2$ do comprimento do corpo, além do limite posterior do corpo. **Notum** (Figuras: 9A; 9C: no) com borda distinta rodeada pelas papilas laterais e anteriores. **Papilas** (Figuras: 8A–C; 9A; 9C) com cerca de $1/3-1/2$ do comprimento do rinóforo; **papilas anteriores** (Figuras: 9A; 9C: pa), um par; **papilas laterais** (Figuras: 9A; 9C: lp) de 9–12; **papilas dorsais** (Figuras: 9A; 9C: dp) localizadas entre os rinóforos e brânquia, comumente 2 ou 4, podendo variar entre 2–5; quando em número máximo ($n = 5$), apresentam uma papila anterior seguida por mais quatro organizadas em losango, constantes em posição; variação no número de papilas se dá pela ausência de até 3 na disposição geral padrão; quando em número mínimo ($n = 2$), dispostas na linha média do corpo, uma atrás dos rinóforos e outra um pouco anterior à brânquia. **Tentáculos orais** (Figuras: 9A; 9C: ot) com cerca de $1/3-1/2$ do comprimento do rinóforo, forma e largura iguais às papilas laterais. **Rinóforos** (Figuras: 9A; 9C: ri) com 3–4 lamelas.

Coloração (Figura: 8A): Ver Rudman, 2004a: 32.

Massa visceral (Figuras: 9B; 10A): Topografia geral do animal segue mesmo padrão descrito para *O. polycerelloides*. Diferenças vistas na massa visceral correspondem a características do sistema reprodutor descritas mais abaixo no tópico correspondente.

Sistema circulatório e excretor: Igual ao descrito para *O. polycerelloides*.

Sistema digestório (Figuras: 10B–C; 12A–E): Similar ao descrito para *O. polycerelloides* exceto nas características mencionadas a seguir. **Rádula** (Figuras: 12A–E) 22–25 x 1.1.0.1.1; extremidade da borda externa da cúspide dos dentes laterais com reentrância conspícua, denticulação pectinada da borda interna com 15–20 dentículos; plica presente na extremidade lateral interna da base do dente; extremidade recurvada

bicúspide dos dentes marginais com cerca de 1/3 do tamanho do dente. **Glândulas salivares** (Figura: 10C: sg) elipsoides. **Tiflossole** (Figura: 10B: tf) com cerca de 1/3 do comprimento do intestino.

Sistema reprodutor (Figuras: 10D; 12F): Similar ao de *O. polycerelloides*, exceto nas características mencionadas a seguir. **Próstata** (Figura: 9B; 10A; 10D: pr) com cerca de 3 vezes o comprimento da ampola, anterior à glândulas de muco e albúmen, circundando região posterior da massa bucal a partir da lateral esquerda em sentido ventral até lateral direita, onde afunila formando **ducto deferente** (Figura: 10D: vd) relativamente curto (com 1/4–1/3 do comprimento da próstata) que segue lateral à glândula de muco, dorsal à glândula de albúmen e ventral à bainha do pênis. **Pênis** (Figura: 10A; 10D; 12F: p) enovelado dentro da bainha; **bainha do pênis** (Figuras: 10A; 10D; 12F: ps) consiste em um saco relativamente largo, cerca de duas vezes o comprimento da vagina; bainha dorsal à glândula de muco, descendo em sentido lateral até abertura do poro genital. **Ducto do receptáculo seminal** (Figura: 10D: rd) 2–3 vezes mais largo e com aproximadamente o mesmo comprimento que **ducto uterino** (Figura: 10D: ud). **Ducto do aloesperma** (Figura: 10D: ad) cerca de 2 vezes o comprimento da vagina. **Ducto da bursa copulatória** (Figura: 10D: bd) presente, com mesma largura do ducto do aloesperma e cerca da metade do comprimento do ducto do receptáculo seminal. **Receptáculo seminal** (Figuras: 10A; 10D: sr) com forma arredondada. **Vagina** (Figuras: 10A; 10D: va) lateral à glândula de muco, cerca de 1/2 do comprimento da bainha do pênis.

Sistema nervoso (Figuras: 11E–F): Similar ao de *O. polycerelloides*, exceto nas características mencionadas a seguir. **Comissura cerebral** (Figuras: 11E–F: cce), comprimento aproximadamente igual à largura dos gânglios cérebro-pleurais. **Comissura subcerebral** (csc) presente, extremamente fina, originando-se na face

interna e posterior dos gânglios cérebro-pleurais, logo abaixo da origem dos conectivos pleuroviscerais. **Comissura pediosa** (cp) fina, com comprimento aproximadamente igual à largura dos gânglios pediosos; comissura parapediosa ausente.

Distribuição (Figura: 19): Austrália (Rudman, 2004a; Atkinson & Atkinson, 2008; Pola *et al.*, 2014).

Notas biológicas: Vive associada a colônias do briozoário *Zoobotryon verticillatum* (ver Rudman, 2004a).

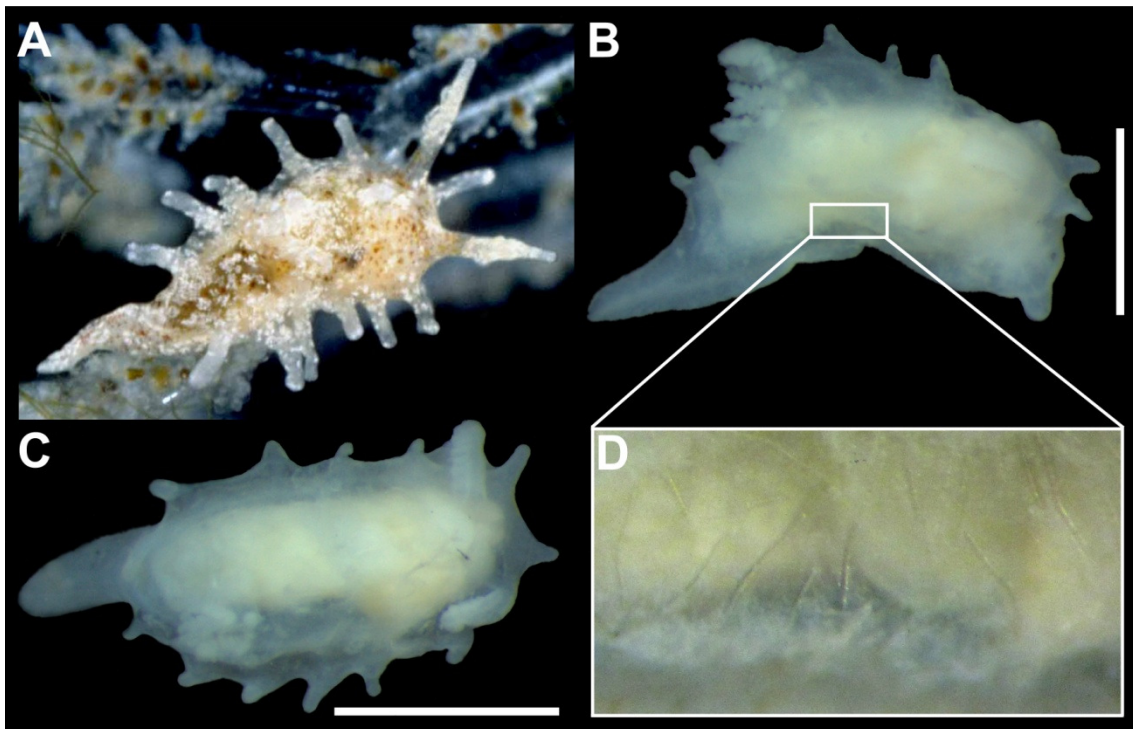


Figura. 8. *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, Península de Yorke, Austrália: **A.** Espécime vivo (Foto: Rudman, 2004a); **B.** Espécime fixado, vista lateral, AM C.145165; **C.** Espécimes fixado, vista dorsal, AM C.145165; **D.** Detalhe das espículas no tegumento do espécime fixado, AM C.145165. **Escala:** 1mm.

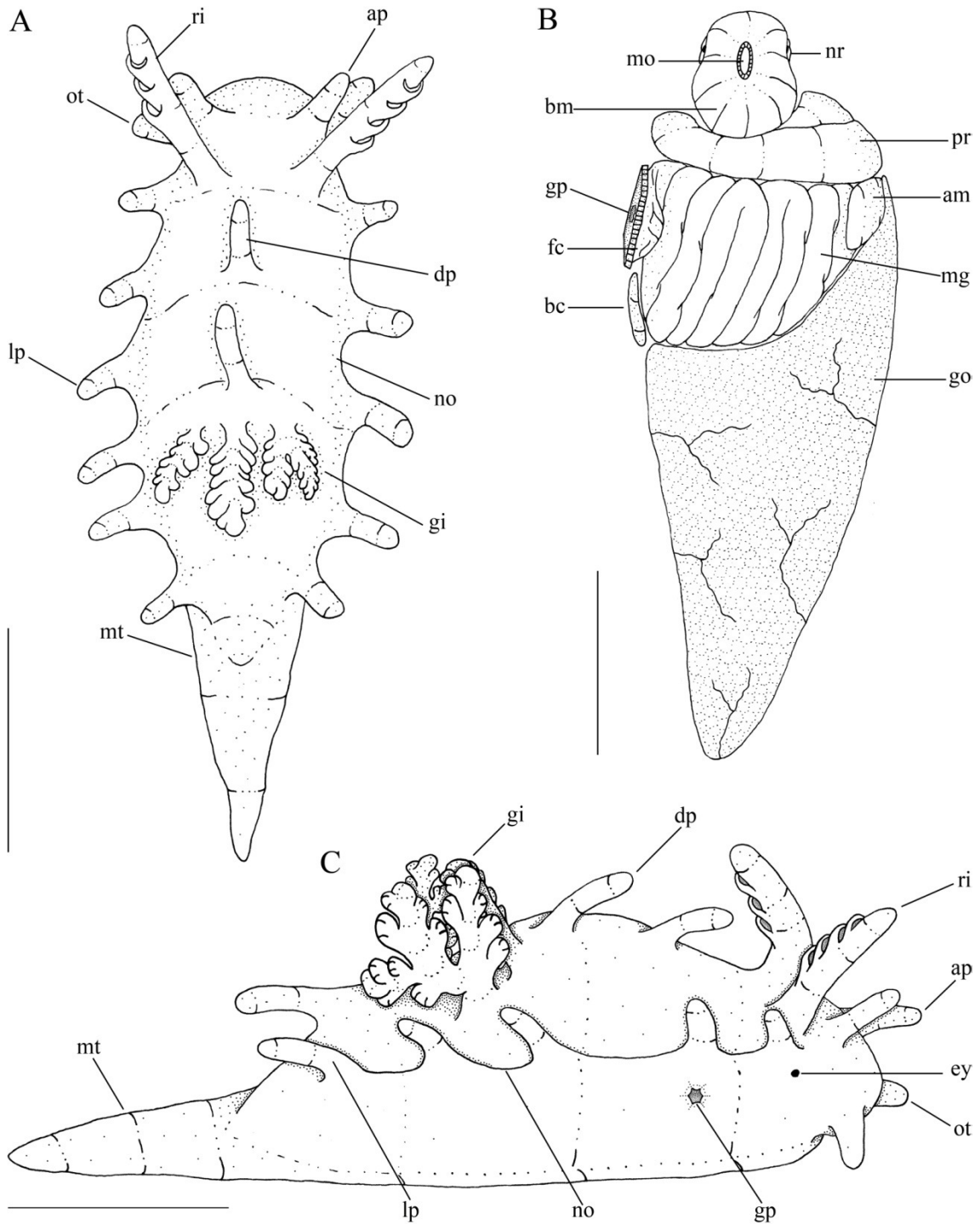


Figura. 9. *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, Austrália. **A.** Morfologia externa, vista dorsal; **B.** Massa visceral, vista ventral; **C.** Morfologia externa, vista lateral direita. **Escala:** 500 μ m. **Abreviações:** **am**, ampola; **ap** papila anterior; **bc**, bursa copulatória; **bm**, massa bucal; **dp**, papilas dorsais; **ey**, olho; **fc**, câmara de fertilização; **gi**, brânquia; **go**, gônada; **gp**, poro genital; **lp**, papilas laterais; **mg**, glândula de muco; **mo**, boca; **mt**, metapódio; **no**, notum; **nr**, anel nervoso; **ot**, tentáculo oral; **pr**, próstata; **ri**, rinóforo.

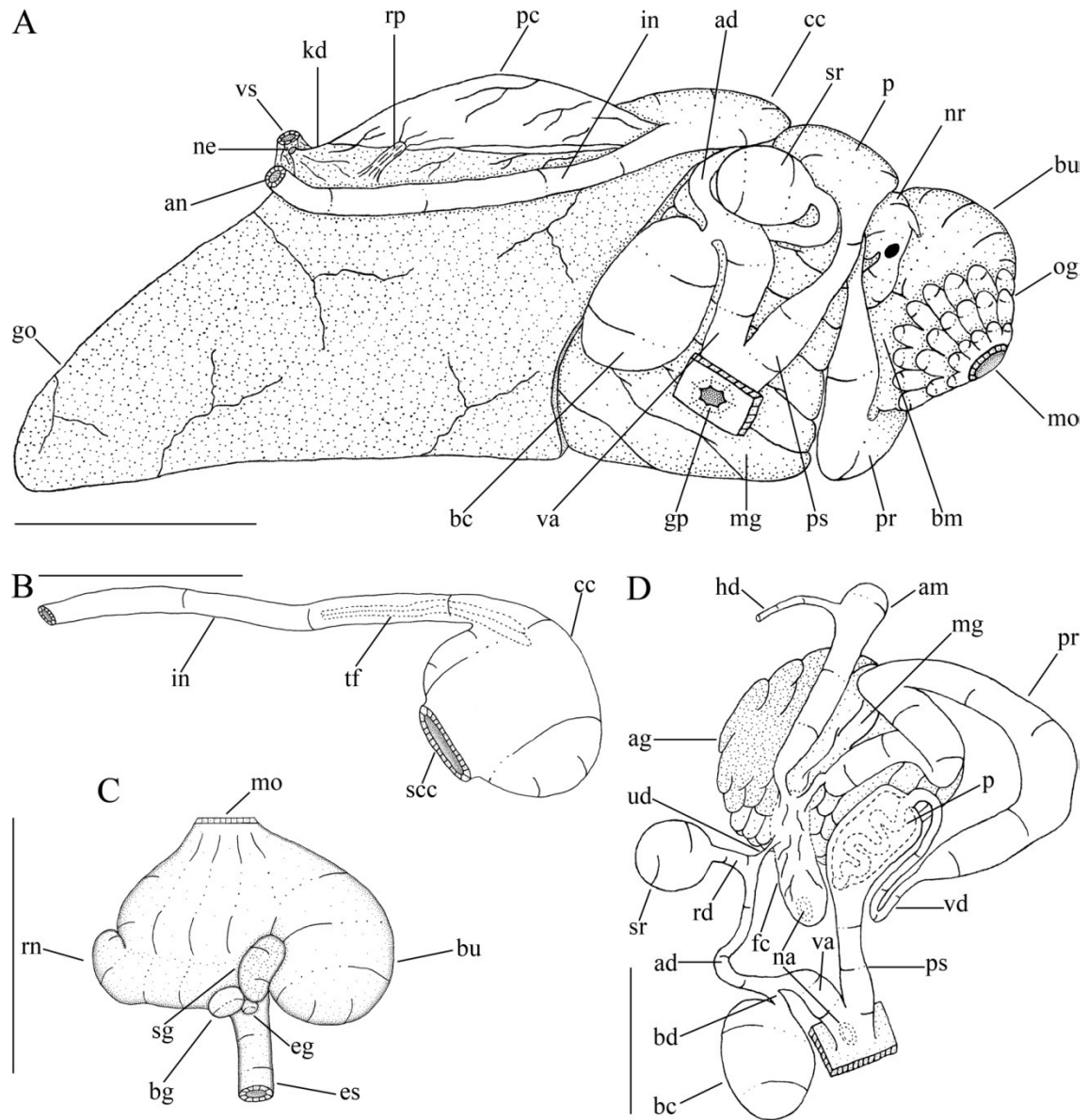


Figura 10. *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, Austrália. **A.** Massa visceral, vista lateral direita; **B.** Câmara cecal e intestino, vista dorsal; **C.** Massa bucal, vista lateral esquerda; **D.** Sistema reprodutor, vista lateral direita com glândulas rebatidas. **Escala:** 500 μ m. **Abreviações:** ad, ducto do aloesperma; ag, glândula de albúmen; am, ampola; an, ânus; bm, massa bucal; bc, bursa copulatória; bd, ducto da bursa copulatória; bg, gânglio bucal; bu, bulbo suctorial; cc, câmara cecal; es, esôfago; eg, glândula esofageal; fc, câmara de fertilização; go, gônada; gp, poro genital; hd, ducto hermafrodita; in, intestino; kd, rim; mg, glândula de muco; mo, boca; na, abertura nidimental; ne, nefróstoma; nr, anel nervoso; og, glândula oral; p, pênis; pc, pericárdio; pr, próstata; ps, bainha do pênis; rd, ducto do receptáculo seminal; rn, núcleo radular; rp, ducto renopericárdico; scc, conexão entre estômago e câmara cecal; sg, glândula salivar; sr, receptáculo seminal; tf, tíflosole; ud, ducto uterino; va, vagina; vd, ducto deferente; vs, seio venoso.

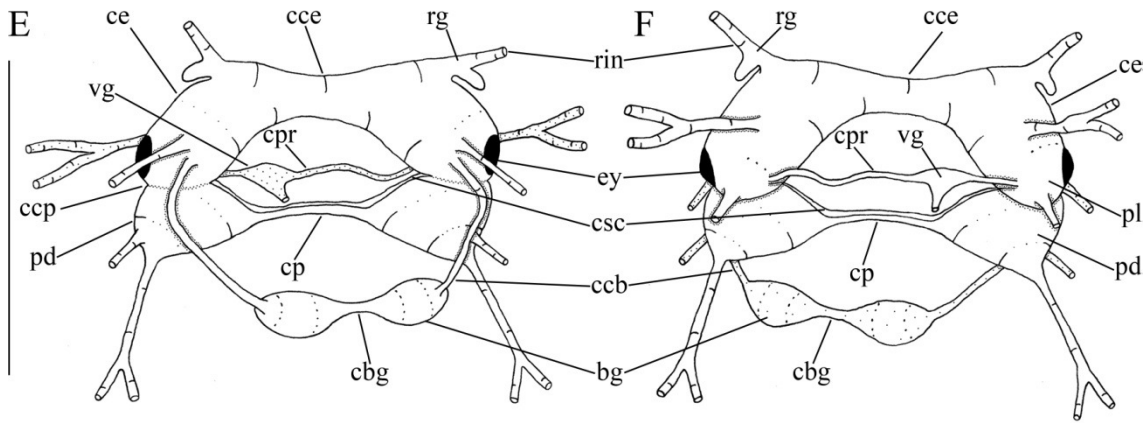


Figura 11. *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, Austrália. **A–B.** Sistema nervoso, **A.** Vista anterior; **B.** Vista posterior. **Escala:** 500 μ m. **Abreviações:** **bg**, gânglio bucal; **cbg**, comissura bucal; **ccb**, conectivo cérebro-bucal; **cce**, comissura cerebral; **ccp**, conectivo cérebro-pedioso; **ce**, gânglio cerebral; **cp**, comissura pediosa; **cpr**, conectivo pleuro-visceral; **csc**, comissura subcerebral; **ey**, olho; **pd**, gânglio pedioso; **pl**, gânglio pleural; **rg**, gânglio rinofoal; **rin**, nervo rinofoal; **vg**, gânglio visceral.

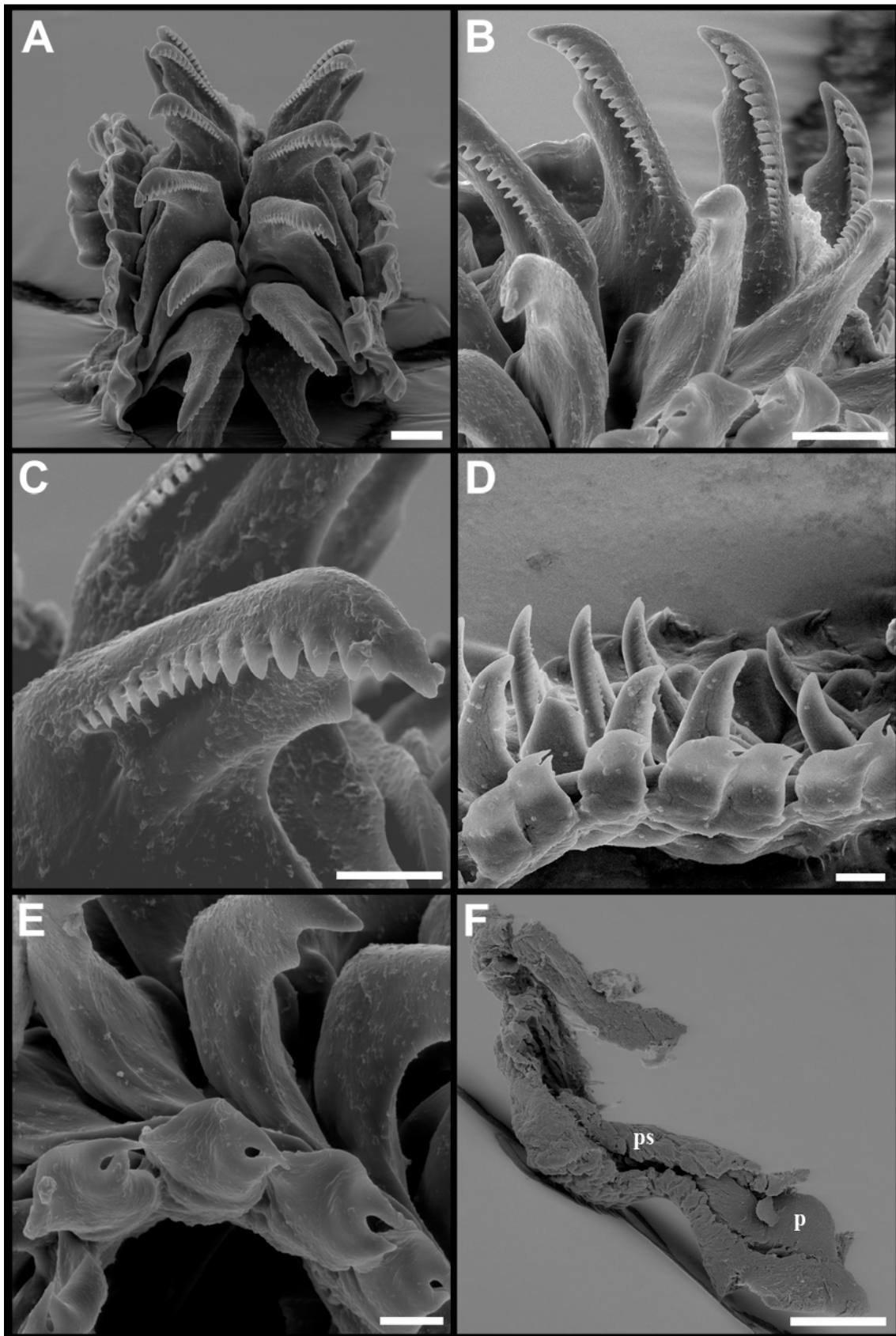


Figura. 12. *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, Austrália. Rádula: **A.** Rádula, vista geral; **B.** Dentes laterais, com detalhe da plica na extremidade lateral interna da base; **C.** Detalhe do dente lateral com reentrância conspícua na extremidade da borda externa da cúspide; **D.** Vista lateral; **E.** Detalhe dos dentes marginais; **F.** Bainha do pênis cortada expondo parcialmente o pênis. **Escala:** A–B = 20 μ m; C–E = 10 μ m; F = 100 μ m. **Abreviações:** p, pênis; ps, bainha do pênis.

Okenia evelinae Marcus, 1957

(Figuras: 13–16)

Okenia evelinae Marcus, 1957: Rudman, 2004b; Valdés *et al.*, 2006: 126–127, 1 fig.;García *et al.*, 2008: 104–105, 2 figs.; Ortea *et al.*, 2009: 77, 80, pl. 1 fig. A–E.*Okenia zoobotryon*: Clark, 1984: 94–97, figs. 44–47 (*in part*); Valdés & Ortea, 1995: 227–230, fig. 4, tab. 2 (*in part*) (*non* Smallwood, 1910).*Localidade-tipo*: Ubatuba e Ilhabela, São Paulo, Brasil.*Material Tipo*: Síntipos preservados em lâminas, MZSP118003.*Material examinado*: Lâminas da coleção pessoal do Dr. Ernest Marcus, possíveis síntipos, **MZSP 118003**, sem mais informações; Brasil, Rio de Janeiro: Cabo Frio, Praia do Perú, vii/1957, L. R. Tommasi col., E. Marcus det., 1 espécime, 5 mm comprimento preservado, **MZSP 25340**; Angra dos Reis, Ilha Grande, 17/x/2012, A. Migotto col., L. Sales det., 1 espécime, 3 mm comprimento preservado, **MZSP 109954**; Brasil, São Paulo, Ilhabela, Yacht Club de Ilhabela, 11/ix/2013, 1–2 m prof., L. Sales col., L. Sales det., 6 espécimes, 2–6 mm comprimento preservados, 4 dissecados, 1 sequenciado, **LSO 009**; E. Marcus det., *c.* 65 espécimes, 1–3 mm comprimento preservados, 18 dissecados, **MZSP 37937**, sem mais informações; E. Marcus det., 11 espécimes, 1–3 mm comprimento preservados, **MZSP 75105**, sem mais informações; E. Marcus det., 37 espécimes, 1–6 mm comprimento preservados, 5 dissecados, **MZSP 76220**, sem mais informações.*Diagnose*: grânulos refrativos e pigmentação amarela distribuídos pelo corpo; manchas violetas presentes ou não em pouca quantidade; papilas e brânquia com pigmentação amarela mais concentrada próximo às suas bases e na haste dos filamentos, respectivamente; rinóforos com primeiro terço basal de cor violeta e dois terços distais

predominantemente brancos, com ou sem pigmentação amarela esparsa; bainha do pênis cerca de duas vezes mais larga que vagina.

Morfologia externa (Figuras: 13A–E; 14A; 14C): Similar ao descrito para *O. harastii*, exceto nas características mencionadas a seguir. **Corpo** (Figuras: 13A–E; 14A; 14C) de 3–6 mm de comprimento *in vivo*. **Brânquia** (Figuras: 13A; 13C–E; 14A; 14C: gi) com 3–6 filamentos. **Metapódio** (Figuras: 14A; 14C: mt) se estende de 1/4–1/3 do comprimento do corpo. **Notum** (Figuras: 14A; 14C: no), similar ao descrito para *O. polycerelloides*. **Papilas laterais** (Figuras: 14A; 14C: lp) variando em número de 11–14; **papilas dorsais** (Figuras: 14A; 14C: dp) variando de 4–7, com padrão comum igual a 4; quando com 7 papilas, disposição igual à *O. polycerelloides*. **Rinóforos** (Figuras: 14A; 14C: ri) com 4–9 lamelas.

Coloração (Figuras: 13A–C): **Corpo** (Figuras: 13A–C) branco, translúcido, com grânulos refrativos e manchas amarelas; manchas violetas presentes ou não, em pouca quantidade principalmente na região anterior. **Papilas e brânquia** (Figuras: 13A; 13C) com coloração semelhante ao resto do corpo, exceto pela ausência da cor violeta, com pigmentação amarela mais concentrada próximo às suas bases e na haste dos filamentos, respectivamente. **Rinóforos** (Figuras: 13A–B) com 1/3 basal de cor violeta e 2/3 distais predominantemente de cor branca, podendo apresentar pigmentação amarela esparsa. **Metapódio** (Figura: 13C), superfície dorsal com coloração semelhante ao corpo.

Massa visceral (Figuras: 14B; 15A): Topografia geral segue o mesmo padrão de *O. polycerelloides*. Diferenças vistas na massa visceral correspondem a características do sistema reprodutor descritas mais abaixo no tópico correspondente.

Sistema circulatório e excretor: Igual ao de *O. polycerelloides*.

Sistema digestório (Figuras: 15B; 16A–F): Igual ao de *O. polycerelloides*, exceto nas características mencionadas a seguir. **Rádula** (Figuras: 16A–D) 28 x

1.1.0.1.1; dentes laterais com borda externa da cúspide com reentrância sutil na extremidade, 15–17 dentículos na borda interna da cúspide; plica na extremidade lateral interna da base do dente; **Glândulas salivares** (Figuras: 15B; 16E–F: sg) em forma de gota. **Tiflossole** igual ao de *O. harastii*.

Sistema reprodutor (Figuras: 14B; 15A; 15C): Similar ao de *O. harastii*, exceto nas características mencionadas a seguir. **Ampola** (Figuras: 14B; 15C: am) aproximadamente semicircular; ducto com cerca de 1/3 do seu comprimento, surgindo na extremidade anterior. **Próstata** (Figuras: 14B; 15C: pr) similar a de *O. polycerelloides*. **Ducto deferente** (Figuras: 14B; 15A; 15C: vd) curto, com cerca de 1/3 do comprimento da próstata. **Pênis** (Figuras: 14B; 15A; 15C: p) com **bainha** (ps) cerca de 2 vezes mais larga que vagina, posicionada lateroventralmente à glândula de muco e variando em posição entre posterior e lateroposterior à massa bucal. **Ducto do receptáculo seminal** (Figura: 15C: rd) com cerca de 1/3 do comprimento do ducto uterino. **Ducto do aloesperma** (Figura: 15C: ad) com cerca de 1/2 da largura do ducto do receptáculo seminal e cerca de 1/4 do comprimento da vagina. **Ducto da bursa copulatória** (Figura: 15C: bd), aproximadamente do mesmo comprimento do ducto do receptáculo seminal. **Receptáculo seminal** (Figuras: 15A; 15C: sr) com forma elipsoide. **Bursa copulatória** (Figuras: 14B; 15A; 15C: bc) com forma arredondada. **Vagina** (Figuras: 15A; 15C: va) cerca de 2,5 vezes o comprimento da bainha do pênis e metade da largura, pouco mais larga no seu terço mediano, que apresenta aspecto acetinado, e afunilando no seu terço distal; lateral à glândula de muco estendendo-se até a região dorsolateral, onde dobra em um ângulo de 90°, segue com seu terço mediano em posição dorsal, dobrando mais uma vez no terço distal, posicionando-se paralelo ao 1/3 anterior e seguindo até o ducto da bursa copulatória.

Sistema nervoso: Igual ao descrito para *O. polycerelloides*.

Distribuição (Figura: 19): São Paulo e Rio de Janeiro, Brasil (Marcus, 1957; García *et al.*, 2008; presente trabalho); Flórida, EUA (Marcus & Marcus, 1960; Marcus & Marcus, 1970); Venezuela (Valdés *et al.*, 2006); Ilhas Canárias (Ortea *et al.*, 2009).

Notas biológicas: Espécie descrita por Marcus (1957) associada a colônias do briozoário *Amathia crispa* (Lamarck, 1816). No presente trabalho foi encontrada em colônias de *Zoobotryon verticillatum* e *Amathia vidovici* (Heller, 1867), sobre os quais foi vista alimentando-se e depositando suas massas de ovos (Figura 13A). Estas últimas são similares às de *O. polycerelloides*, assim como a forma de alimentação por sucção e comportamento de cópula promíscuo com troca recíproca de esperma.

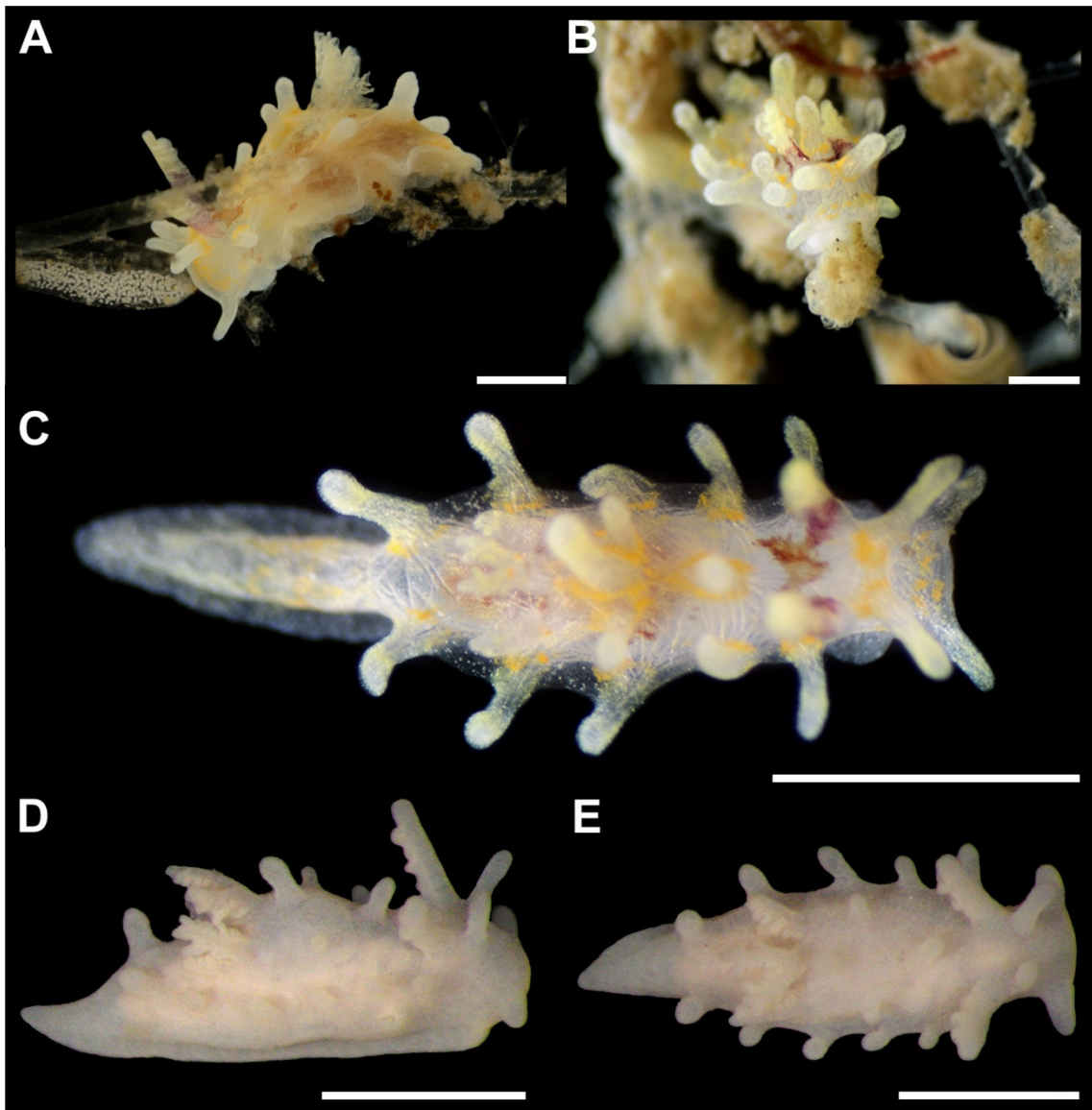


Figura. 13. *Okenia evelinae* Marcus, 1957, Brasil: **A.** Espécime vivo, sobre estolão do briozoário *Zoobotryon verticillatum*, com desova, São Paulo; **B.** Espécime vivo, sobre o briozoário *Amathia vidovici*, vista anterior evidenciando coloração do rinóforo, São Paulo; **C.** Espécime vivo, vista dorsal, Rio de Janeiro; **D.** Espécime fixado, vista lateral, MZSP 37327; **E.** Espécime fixado, vista dorsal, MZSP 37327. **Escalas:** 1 mm.

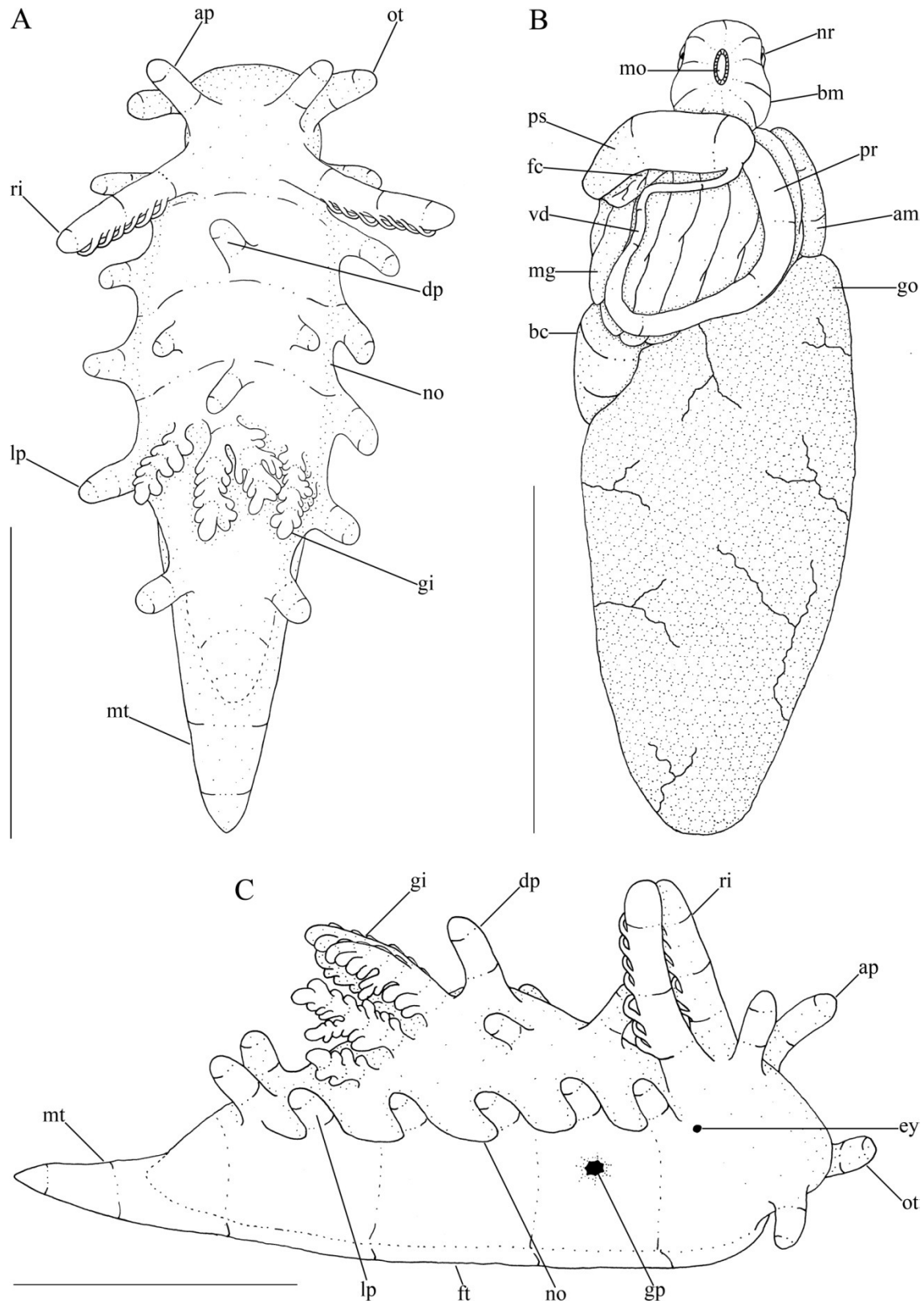


Figura. 14. *Okenia evelinae* Marcus, 1957: **A.** Morfologia externa, vista dorsal; **B.** Massa visceral, vista ventral; **C.** Morfologia externa, vista lateral direita. **Escala:** 1 mm. **Abreviações:** am, ampola; ap, papilas anteriores; bc, bursa copulatória; bm, massa bucal; dp, papilas dorsais; ey, olho; fc, câmara de fertilização; ft, pé; gi, brânquia; go, gônada; gp, poro genital; lp, papilas laterais; mg, glândula de muco; mo, boca; mt, metapódio; no, notum; nr, anel nervoso; ot, tentáculo oral; pr, próstata; ps, bainha do pênis; ri, rinóforo; vd, ducto deferente.

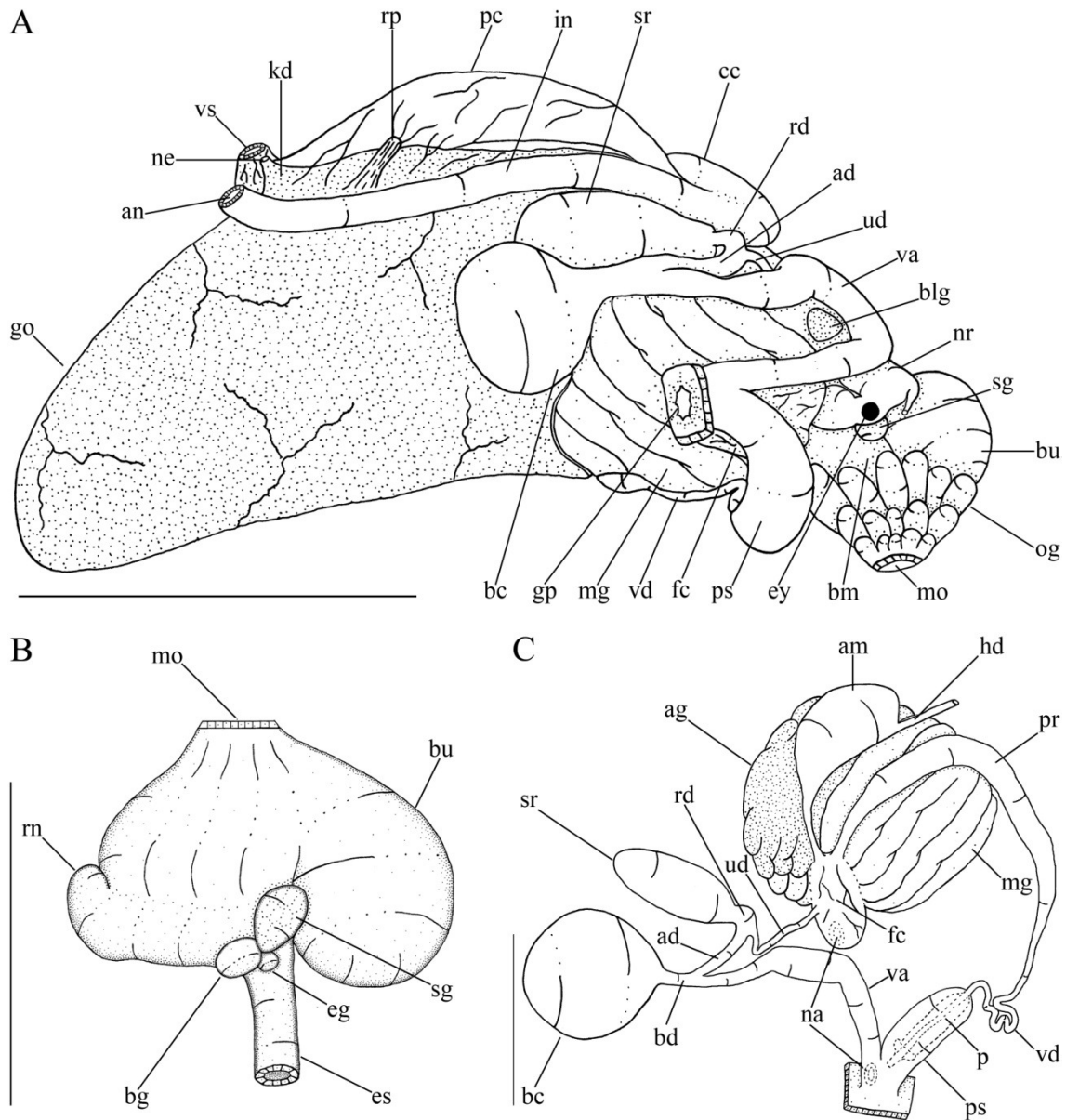


Figura. 15. *Okenia evelinae* Marcus, 1957. **A.** Massa visceral, vista lateral; **B.** Massa bucal, vista lateral esquerda; **C.** Sistema reprodutor, vista lateral direita com glândulas rebatidas. **Escalas:** A, C = 1 mm; B = 500 μ m. **Abreviações:** ad, ducto do aloesperma; ag, glândula de albumen; am, ampola; an, ânus; bc, bursa copulatória; bd, ducto da bursa copulatória; bg, gânglio bucal; blg, glândula de sangue; bm, massa bucal; bu, bulbo suctorial; cc, câmara cecal; eg, glândula esophageal; es, esôfago; ey, olho; fc, câmara de fertilização; go, gônada; gp, poro genital; hd, ducto hermafrodita; in, intestino; kd, rim; mg, glândula de muco; mo, boca; na, abertura nidimental; ne, nefróstoma; nr, anel nervoso; og, glândula oral; p, pênis; pc, pericárdio; pr, próstata; ps, bainha do pênis; rd, ducto do receptáculo seminal; rn, núcleo radular; rp, ducto renopericárdico; sg, glândula salivar; sr, receptáculo seminal; ud, ducto uterino; va, vagina; vd, ducto deferente; vs, seio venoso.

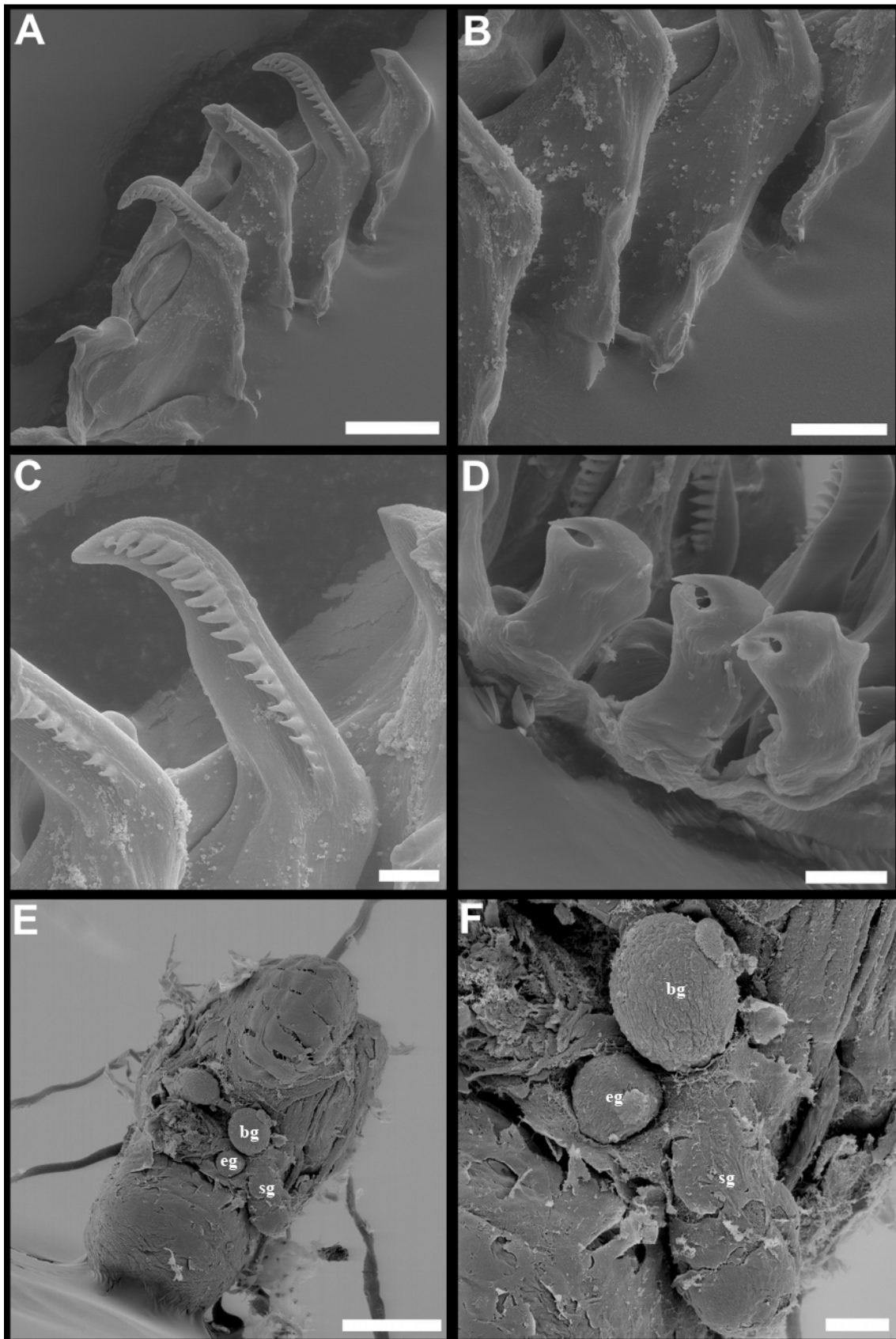


Figura. 16. *Okenia evelinae* Marcus, 1957. Rádula: **A.** Dentes laterais; **B.** Detalhe da plica nos dentes laterais; **C.** Detalhe da cúspide do dente lateral; **D.** Detalhe dos dentes marginais; **E.** Massa bucal, vista posterior; **F.** Detalhe do gânglio bucal, glândula esofageal e glândula salivar. **Escala:** A, F = 20 μ m; B, D = 10 μ m; C = 5 μ m; E = 100 μ m. **Abreviações:** bg, gânglio bucal; eg, glândula esofageal; sg, glândula salivar.

***Okenia zoobotryon* (Smallwood, 1910)**

(Figuras 17–18)

Polycerella zoobotryon Smallwood, 1910: 137–145, 1912: 609–630.*Bermudella zoobotryon*: Odhner, 1941: 16; Marcus, 1977: 11.*Okenia zoobotryon*: Clark, 1984: 94–97, figs. 44–47; Redfern, 2001: 172, pl. 118 figs.713 a,b; Valdés & Ortea, 1995: 227–230, fig. 4, tab. 2; Ortea *et al.*, 1996: 127, pl.1 fig. A; Ortea *et al.*, 2009: 80–81, 83 pl. 2 fig. A, figs. 1, 2D–F.*Localidade-tipo*: Ilha de Agar, Bermudas.*Material Tipo*: Não localizado.*Material examinado*: Ilhas Bermudas, Hamilton Parish, Tom Moore Pond, 12/vi/2009, 4 m de prof., M. Pola, G. Calado, M.A. Malaquias e L. Cervera col., T. M. Gosliner det., 1 espécime, 5 mm comprimento *in vivo*, dissecado e sequenciado, **CASIZ 181106**.*Diagnose*: Papilas, brânquias, rinóforos e superfície dorsal do metapódio de coloração igual ao corpo; 2/3 distais da bainha do pênis cerca de 2 vezes a largura do 1/3 proximal.*Morfologia externa*: Igual ao padrão comum descrito para *O. evelinae*.*Coloração* (Figuras: 17A–B): **Corpo** esbranquiçado, translúcido, com manchas marrons (claras e escuras) e brancas opacas distribuídas de forma irregular. **Papilas, brânquias, rinóforos** e superfície dorsal do **metapódio** com coloração igual ao corpo.*Massa visceral* (Figuras: 18A–B): Topografia segue mesmo padrão de *O. polycerelloides*. Diferenças vistas na massa visceral correspondem a características do sistema reprodutor descritas mais abaixo no tópico correspondente.*Sistema circulatório e excretor*: Igual ao de *O. polycerelloides*.*Sistema digestório*: Igual ao de *O. evelinae*.

Sistema reprodutor (Figura: 18A–C): Similar ao descrito para *O. evelinae* exceto nas características mencionadas a seguir. **Bainha do pênis** (ps), 2/3 distais cerca de 2 vezes mais largo que o 1/3 proximal.

Sistema nervoso: Igual ao descrito para *O. polycerelloides*.

Distribuição (Figura: 19): Bermudas (Smallwood, 1910; Smallwood, 1912; Clark, 1984; presente trabalho); Cuba (Valdés & Ortea, 1995); EUA, México, Belize, Jamaica, Porto Rico, Martinica (Valdés *et al.*, 2006).

Notas biológicas: Vive associado a colônias do briozoário *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1828) (Smallwood, 1910).

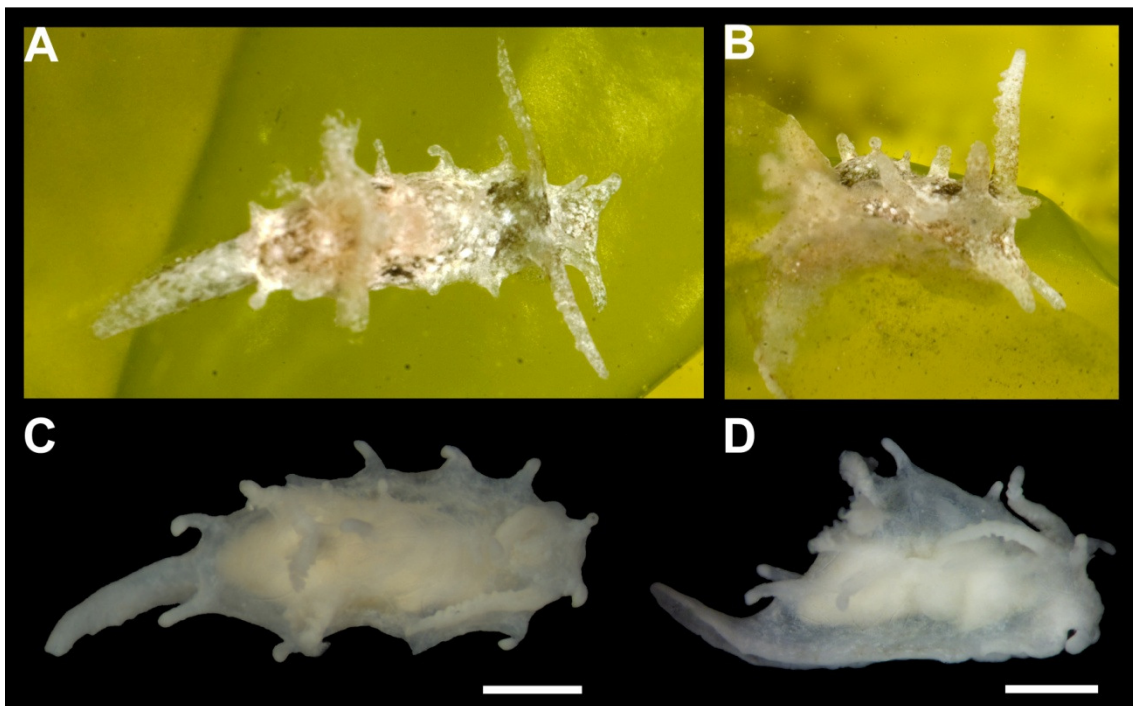


Fig. 17. *Okenia zoobotryon* (Smallwood, 1910), Ilhas Bermudas: **A.** Espécime vivo, vista dorsal (Foto: T. M. Gosliner); **B.** Espécime vivo, vista lateral (Foto: T. M. Gosliner); **C.** Espécime fixado, vista dorsal, CASIZ 181106; **D.** Espécime fixado, vista lateral, CASIZ 181106. **Escala** = 1 mm.

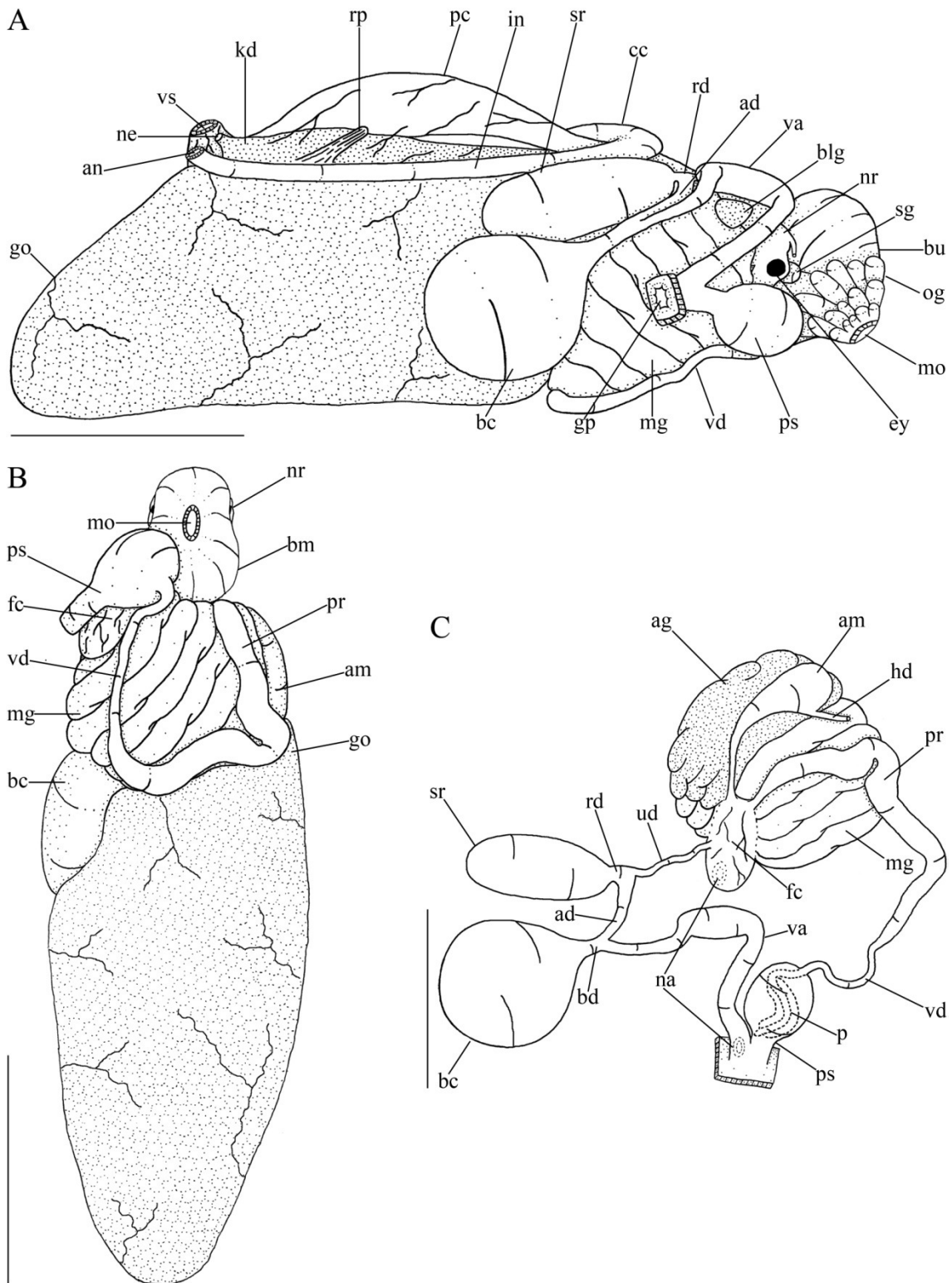


Figura. 18. *Okenia zoobotryon* (Smallwood, 1910), Ilhas Bermudas. **A–B.** Massa visceral, **A.** Vista lateral; **B.** Vista ventral; **C.** sistema reprodutor. **Escala:** 1mm. **Abreviações:** **ad**, ducto do aloesperma; **ag**, glândula de albumen; **am**, ampola; **an**, ânus; **bc**, bursa copulatória; **bd**, ducto da bursa copulatória; **bg**, gânglio bucal; **blg**, glândula de sangue; **bm**, massa bucal; **bu**, bulbo suctorial; **cc**, câmara cecal; **ey**, olho; **fc**, câmara de fertilização; **go**, gônada; **gp**, poro genital; **hd**, ducto hermafrodita; **in**, intestino; **kd**, rim; **mg**, glândula de muco; **mo**, boca; **na**, abertura nidimental; **ne**, nefróstoma; **nr**, anel nervoso; **og**, glândula oral; **p**, pênis; **pc**, pericárdio; **pr**, próstata; **ps**, bainha do pênis; **rd**, ducto do receptáculo seminal; **rp**, ducto renopericárdico; **sg**, glândula salivar; **sr**, receptáculo seminal; **ud**, ducto uterino; **va**, vagina; **vd**, ducto deferente; **vs**, seio venoso

Tabela 2. Sumário comparativo das diferenças entre as espécies *O. polycerelloides*, *O. harastii*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon*.

Características	Espécies			
	<i>O. polycerelloides</i>	<i>O. harastii</i>	<i>O. evelinae</i>	<i>O. zoobotryon</i>
Comprimento máximo observado	8 mm (vivo)	4 mm (preservado)	6 mm (vivo)	5 mm (vivo)
Coloração	Manchas branco opaco e marrom claro e escuro.	Manchas branco opaco e marrom claro e escuro.	Grânulos refrativos, manchas amarelas e violetas.	Manchas branco opaco e marrom claro e escuro.
Espículas	Ausente	Presente	Presente	Presente
Nº de papilas dorsais	2–7	2–5	4–7	4–6*
Papila ímpar posterior	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Tamanho das papilas	1/4–1/3 do comprimento do rinóforo	1/3–1/2 do comprimento do rinóforo	1/4–1/3 do comprimento do rinóforo	1/4 do comprimento do rinóforo
Nº de filamentos branquiais	7–9	3–4	3–6	4–7*
Nº de lamelas rinoforais	5–9	3–4	4–9	5–9*
Forma das glândulas salivares	Arredondadas	Elipsoide	Em forma de gota	Em forma de gota
Dentes radulares laterais	Borda externa da cúspide dos dentes laterais contínua; base do dente sem plica;	Borda externa da cúspide dos dentes laterais com reentrância conspicua; plica na base do dente	Borda externa da cúspide dos dentes laterais com reentrância sutil; plica na base do dente.	Borda externa da cúspide dos dentes laterais com reentrância; plica na base do dente;

Continua

*Variação com base no exemplar analisado e na descrição de Smallwood (1910) e Clark (1984).

Tabela 2. Continuação

Características	Espécies			
	<i>O. polycerelloides</i>	<i>O. harastii</i>	<i>O. evelinae</i>	<i>O. zoobotryon</i>
Dentes radulares marginais	Extremidade recurvada bicúspide com cerca de 1/2 do tamanho do dente	Extremidade recurvada bicúspide com cerca de 1/3 do tamanho do dente	Extremidade recurvada bicúspide com cerca de 1/2 do tamanho do dente	Extremidade recurvada bicúspide com cerca de 1/2 do tamanho do dente
Comprimento do tiflossole	4/5 do comprimento do intestino	1/3 do comprimento do intestino	1/3 do comprimento do intestino	1/3 do comprimento do intestino
Forma da ampola	Alongada e tubular	Alongada e tubular	Levemente semicircular	Levemente semicircular
Localização da próstata	Ventral à glândula de muco	Anterior à glândula de muco	Anterior à glândula de muco	Anterior à glândula de muco
Bainha do pênis	Diâmetro ligeiramente maior que o do pênis, revestindo-o em toda sua extensão.	Bainha larga com o pênis solto e enovelado dentro da mesma; comprimento 2–2,5 vezes maior que a vagina.	Bainha larga com o pênis solto e enovelado dentro da mesma; duas vezes mais larga que a vagina.	Bainha larga com o pênis solto e enovelado dentro da mesma; apresenta dilatação nos dois terços distais.
Ducto da bursa copulatória	Ausente	Presente	Presente	Presente
Forma do receptáculo seminal	Oval	Arredondada	Elipsoide	Elipsoide
Forma da bursa copulatória	Oval	Oval	Arredondada	Arredondada
Diâmetro da vagina	Igual ao do pênis	Igual ao da bainha do pênis	Metade do diâmetro da bainha do pênis	Metade do diâmetro da bainha do pênis

Continua

Tabela 2. Continuação

Características	Espécies			
	<i>O. polycerelloides</i>	<i>O. harastii</i>	<i>O. evelinae</i>	<i>O. zoobotryon</i>
Comissura cerebral	Curta, com cerca de 1/3 da largura do gânglio.	Comprimento aproximadamente igual à largura dos gânglios cérebro-pleurais.	Curta, com cerca de 1/3 da largura do gânglio.	Curta, com cerca de 1/3 da largura do gânglio.
Comissura subcerebral	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
Largura da comissura pediosa	Cerca de 1/2 da largura da comissura cerebral	Cerca de 1/5 da largura da comissura cerebral	Cerca de 1/2 da largura da comissura cerebral	Cerca de 1/2 da largura da comissura cerebral
Comissura parapediosa	Presente	Ausente	Presente	Presente

Análise Molecular

No que diz respeito aos dados moleculares obtidos, um total de quatro ampliações foi realizado com sucesso: duas de *O. polycerelloides*, uma de *O. evelinae* e uma de *O. zoobotryon*. Foram obtidas quatro sequências para o 16S (duas de *O. polycerelloides*, uma de *O. zoobotryon* e uma de *O. evelinae*) e apenas uma para o COI (*O. evelinae*). Devido a isso, utilizou-se para comparação com o COI de *O. evelinae* uma sequência do COI de um topótipo de *O. zoobotryon* disponível no GenBank.

Os dois espécimes de *O. polycerelloides* apresentaram sequências idênticas, como esperado. A comparação entre espécies resultou no percentual de diferença genética exposto na tabela abaixo:

Tabela 3. Percentual de diferença genética entre espécies de *Okenia* para os genes COI e 16S.

Genes sequenciados	Espécies	Diferença genética (%)
16S	<i>O. zoobotryon</i> vs. <i>O. evelinae</i>	9,2
	<i>O. zoobotryon</i> vs. <i>O. polycerelloides</i>	9,3
	<i>O. polycerelloides</i> vs. <i>O. evelinae</i>	9,2
COI	<i>O. zoobotryon</i> vs. <i>O. evelinae</i>	16,4



Figura 19. Registros de ocorrência de *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983), *Okenia harastii* Pola, Roldán & Padilla, 2014, *Okenia evelinae* Marcus, 1957 e *Okenia zoobotryon* (Smallwood, 1910).

DISCUSSÃO

De forma geral, as espécies do gênero *Okenia* apresentam uma grande diversidade morfológica e de coloração, mas existem também alguns grupos de espécies morfológicamente muito similares externamente (Pola *et al.*, 2014). *Okenia zoobotryon* é uma dessas que poderia ser incluída em um conjunto de espécies similares, o que pode ser evidenciado pela grande controvérsia que tem causado desde sua descrição em 1910 até os dias atuais (*e.g.* Smallwood, 1910; Clark, 1984; Edmunds & Just, 1985; Valdés & Ortea, 1995; Rudman, 2004a; 2004b; Valdés *et al.*, 2006; García *et al.*, 2008; Rios, 2009; Pola *et al.*, 2014).

Considerando inicialmente apenas o caráter “cor”, *O. zoobotryon* poderia ser agrupada com algumas outras espécies que possuem o corpo com coloração variando entre amarronzado e amarelado translúcido com manchas brancas ou marrons (Pola *et al.*, 2014), incluindo *Okenia mija* Burn, 1967, *Okenia eolida* (Quoy & Gaimard, 1832), *O. impexa* Marcus, 1957, *O. polycerelloides* e *O. harastii*. Dentre estas, um dos padrões de coloração mais contrastante é o de *O. mija*, que apresenta as manchas marrons circundadas por uma faixa amarela (ver Rudman, 2004a; Pola *et al.*, 2014). Se for considerada a forma do corpo aliada à coloração, *Okenia eolida* é a espécie mais facilmente distinguível dentre as previamente mencionadas, pois apesar de possuir o padrão de cor branco translúcido com manchas marrons, suas manchas são relativamente largas e circundadas por finas faixas brancas, além da forma do corpo ser relativamente distinta das demais. Esta espécie não possui tentáculos orais e seu corpo apresenta forma variando de quase circular à ovalada, com um perfil baixo e achatado, enquanto nas demais o corpo é alongado e a cabeça distinta, com tentáculos orais (ver Marcus, 1957; Ortea & Bouchet, 1983; Rudman, 2004a; Pola *et al.*, 2014). Outra espécie facilmente distinguível em relação à morfologia externa é *O. impexa*, que possui

apenas uma papila dorsal entre os rinóforos e as brânquias, contrastando com a presença de pelo menos duas nas demais. Adicionalmente, *O. impexa* também possui outro caráter peculiar: um par de papilas bifurcadas, uma em cada lado do círculo branquial, que consistem em dois apêndices unidos em suas bases. Em termos de similaridade morfológica externa não se pode falar de *O. zoobotryon* sem que se comente de *O. evelinae*, uma vez que, quando descartadas as informações de coloração, estas espécies são simplesmente indistinguíveis. Este é um dos principais motivos pelos quais ambas foram consideradas espécies sinônimas (Clark, 1984). Porém, sua coloração distinta tem levantado dúvidas sobre essa possível coespecificidade (*e.g.* Rudman, 2004b).

As demais espécies previamente mencionadas que compartilham alguma similaridade morfológica externa com *Okenia zoobotryon* apresentam diferenças em termos de número e disposição das papilas, além de diferenças em relação ao número de filamentos branquiais (ver Marcus, 1957; García *et al.*, 2008; Rudman, 2004a; Pola *et al.*, 2014). Porém, ainda assim, *O. evelinae*, *O. harastii*, *O. polycerelloides* e *O. zoobotryon* são muito semelhantes em termos de morfologia externa, e, a não ser pela primeira espécie, também o são na coloração. Com exceção da recém descrita *O. harastii*, todas elas têm um histórico taxonômico complexo, com descrições pouco detalhadas, por vezes confusas e até com incorreções marcantes, tendo sido confundidas ou sinonimizadas e revalidadas ao longo dos anos por diversos autores com pontos de vista contrastantes (Clark, 1984; Rudman, 2004a; 2004b; García *et al.*, 2008; Ortea *et al.*, 2009; Pola *et al.*, 2014). *Okenia zoobotryon* possui a descrição mais antiga e é considerada a mais comum das quatro, sendo citada por inúmeros autores e confundida muitas vezes com as demais. Dessa forma, a problemática maior em relação à *Okenia zoobotryon* gira em torno do grupo de espécies formado por *O. evelinae*, *O. polycerelloides* e *O. harastii*, aqui denominado grupo *Okenia zoobotryon*.

Os resultados apresentados demonstram que os espécimes analisados no presente estudo pertencem a quatro espécies distintas, que correspondem às descrições de *O. zoobotryon*, *O. polycerelloides*, *O. harastii* e *O. evelinae*.

Em termos de morfologia externa, as quatro espécies são realmente muito similares quando descartados os dados de coloração. Para todos os exemplares estudados dessas espécies, o rinóforo mostrou-se igual na forma e topologia, porém variando no número de lamelas. *Okenia polycerelloides* possui de 5–9 lamelas no rinóforo, *O. harastii* 3–4, *O. evelinae* 4–9, enquanto o exemplar examinado de *O. zoobotryon* possui 7 e 9 lamelas em cada rinóforo. Assim, apesar de a gama de variação diferir levemente, há sobreposição nos números de lamelas, impossibilitando que este caráter seja diagnóstico para qualquer das espécies.

As papilas apresentaram o mesmo padrão de variação de forma nas quatro espécies estudadas. Analisando a literatura é possível notar que estas estruturas têm sido descritas de diferentes maneiras para esses goniodoridídeos ao longo do tempo: Smallwood (1910) ao descrever *O. zoobotryon* diz que as papilas são clavadas; Ortea & Bouchet (1983) denominam as papilas de *O. polycerelloides* de “apêndices cônicos”; Marcus (1957) descreve as de *O. evelinae* como tendo forma de cavilha; Valdés & Ortea (1995), que consideram *O. evelinae* e *O. zoobotryon* sinônimos, ao analisarem exemplares procedentes de Cuba descrevem as papilas como apresentando forma de “peão-de-xadrez”; Ortea *et al.* (1996) dizem que as papilas de espécimes de *O. zoobotryon* das Ilhas Canárias, que segundo Ortea *et al.* (2009) são exemplares jovens de *O. evelinae* erroneamente identificados, teriam forma de “cogumelo”; Rudman (2004a) descreve as papilas de *O. harastii* (como *O. zoobotryon*) como sendo ligeiramente inchadas, tentaculares e arredondadas nas pontas. Como é possível notar, essas descrições muitas vezes se sobrepõem, e os diferentes termos utilizados

descrevem as mesmas formas ou formas bastante similares, por exemplo, “cogumelo” e “peão-de-xadrez”. Como essa grande variabilidade foi também observada entre os exemplares estudados, manifestando-se tanto inter como intraespecificamente, conclui-se que a variação de forma dessa estrutura é, em grande parte, resultado dos diferentes estados de contração e não formas características de cada espécie.

No que diz respeito ao tamanho, as papilas de *O. harastii* são comumente maiores em relação às das demais espécies, medindo de 1/3–1/2 do comprimento do rinóforo, enquanto que em *O. polycerelloides* e *O. evelinae* a variação foi de 1/4–1/3 e de 1/4 do comprimento do rinóforo em *O. zoobotryon*. Apesar de existirem algumas diferenças em termos de número e disposição de papilas entre as espécies, a amplitude de variação observada em cada uma faz com que a maioria desses caracteres se sobreponha. Por exemplo, podemos encontrar espécimes tanto de *O. polycerelloides* quanto de *O. harastii*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon* com 4 papilas dorsais em arranjo losangular, embora padrões alternativos existam. Pola *et al.* (2014) apontam como diferença entre *O. harastii* e os exemplares estudados por Rudman (2004a), que são aqui revistos, a presença de 4 papilas dorsais na primeira e apenas duas nos outros espécimes. Entretanto, como evidenciado no presente estudo, este padrão é intraespecificamente variável. A disposição das papilas dorsais tem sido indicada como um caráter específico dentro do gênero *Okenia* (Rudman, 2004a). Porém, como visto, apesar de cada espécie ter um padrão geral mais comum, também existe muita variação, o que culmina em indivíduos de espécies diferentes com o mesmo arranjo de papilas. Exceto para a papila ímpar central posterior à brânquia, presente apenas em *O. polycerelloides*, todas as outras papilas das espécies em questão não devem ser utilizadas como caráter diagnóstico se não estiverem associadas a outros tipos de informação, como, por exemplo, coloração.

Dentre as quatro espécies estudadas, *Okenia polycerelloides* é a mais fácil de ser diferenciada utilizando apenas dados de morfologia externa, pois, além da papila ímpar posterior à brânquia, essa espécie é caracterizada por: (1) ausência de espículas no tegumento, que é um caráter presente em *O. harastii*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon*; (2) 7–9 filamentos branquiais, todos claramente bipinados (3–4 em *O. harastii*, 3–6 em *O. evelinae* e 6 em *O. zoobotryon*, nas três variando entre unipinados, bipinados e unipinados em um mesmo espécime.

Em relação à coloração, *O. evelinae* é a única com pigmentação amarela e roxa, enquanto todas as outras apresentam manchas branco opaco e marrom claro e escuro. Uma vez que os espécimes aqui identificados como *O. harastii* pertencem ao lote analisado por Rudman (2004a), procedente da Península Yorke, Austrália, na época identificados por ele como *O. zoobotryon*, as informações de cor que temos dessa espécie são as previamente publicadas. Como será discutido em mais detalhe posteriormente, esses espécimes foram identificados no presente estudo como *O. harastii* principalmente devido a características da rádula e do sistema reprodutor. Pola *et al.* (2014) ao descreverem a espécie notam uma pequena diferença em relação à cor dos espécimes da localidade-tipo e destes analisados por Rudman (2004a): os primeiros apresentam o corpo com coloração amarronzada enquanto os procedentes da Península Yorke são translúcidos, cor de palha.

A coloração demonstrou ter importância essencial para diferenciação entre *O. zoobotryon* e *O. evelinae*, uma vez que a morfologia externa de ambas é idêntica, e a anatomia interna muito similar. Clark (1984) ao analisar topótipos de *O. zoobotryon* propôs sinonímia entre essas espécies devido à similaridade externa e radular, considerando que a diferença no padrão de cor seria um caráter variável devido à dieta, pois *O. evelinae* foi descrita por Marcus (1957) associada à *Amathia crispera*, enquanto

O. zoobotryon sempre foi encontrada sobre *Zoobotryon verticillatum* (ver Edmunds, 2009). Entretanto, os exemplares de *O. evelinae* no presente estudo foram também encontrados associados a *Z. verticillatum* e observados se alimentando do mesmo, sem que isso aparentemente implicasse em alteração de cor. Portanto, o argumento de Clark (1984) para explicar a variação na coloração entre essas espécies se torna inconsistente. Clark (1984) também reporta pela primeira vez topótipos de *O. zoobotryon* com um par de papilas dorsais a mais que o descrito originalmente, evidenciando desde então a existência de variação nesse caráter, como observado no presente estudo para as demais espécies em que foi possível analisar a variação intraespecífica.

A organização geral interna das espécies é bastante similar, apresentando as mesmas proporções e topologia entre massa bucal, sistemas reprodutor e circulatório e glândula digestiva. Ainda assim, é possível distingui-las analisando apenas a massa visceral, devido às diferenças no sistema reprodutor. Todas as quatro espécies possuem sistemas circulatório e excretor semelhantes, não diferindo no nível específico. As únicas diferenças visíveis no sistema circulatório dizem respeito às brânquias, já mencionadas anteriormente.

Diferentemente de outras espécies de *Okenia* que apresentam diferenças na massa bucal, por exemplo, em relação ao tamanho do saco radular (ver Rudman, 2004a), nas espécies aqui estudadas essa estrutura se mostrou muito similar tanto em forma e topologia de suas partes constituintes quanto em relação aos seus músculos. Entretanto, foram observadas diferenças nas glândulas salivares, sendo *O. polycerelloides* a espécie mais distinta com relação a esse caráter, com glândulas arredondadas e com cerca de metade do tamanho das outras três. As glândulas salivares são elípticas em *O. harastii* e em forma de gota em *O. evelinae* e *O. zoobotryon*. *Okenia elegans* (Leuckart, 1828), espécie-tipo do gênero, que demonstra grande similaridade

com as espécies aqui estudadas com relação ao sistema digestório (ver Vayssiere, 1901), apresenta diferença conspícua também nas glândulas salivares que são bastante compridas, ultrapassando cerca de 1/8 o comprimento do bulbo suctorial. Além das glândulas salivares, foi observada nas quatro espécies a presença de um par de glândulas esofageais que são aqui descritas pela primeira vez para espécies do gênero *Okenia*, muito provavelmente devido ao seu tamanho reduzido e localização inconspícua, quase imperceptíveis em microscópio estereoscópico, mas visíveis em MEV (Figuras: 16E–F: eg).

Tanto *Okenia polycerelloides*, quanto *O. harastii*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon*, apresentaram mandíbulas pouco desenvolvidas e lisas. Entretanto, Pola *et al.* (2014) descrevem *O. harastii* como tendo elementos da mandíbula, que são dentículos presentes nas mandíbulas; porém a foto que ilustraria essas estruturas parece indicar que se trata de artefatos de fixação. Portanto, antes de concluir se essa característica está presente na espécie, é necessário que outros exemplares da localidade-tipo sejam analisados. As rádulas das quatro espécies, como já esperado, apresentam a fórmula radular característica do gênero (N x 1.1.0.1.1.), além de outras semelhanças, como dentes laterais com cúspide alongada pectinada em sua borda interna e dentes marginais bicúspides recurvados, mas também apresentam algumas diferenças, exceto entre *O. evelinae* e *O. zoobotryon*. Essas duas espécies possuem rádula muito similar à de *O. harastii*, com reentrância na extremidade da borda externa da cúspide dos dentes laterais, caráter bem mais sutil em *O. evelinae* e *O. zoobotryon* e bastante acentuado em *O. harastii*, além da presença de plica na extremidade lateral interna da base do dente nas três espécies. Esses caracteres, e também a plica na base dos dentes, são ausentes em *O. polycerelloides*, cuja borda externa da cúspide dos dentes laterais é contínua, sem sinal de reentrância. Os dentes marginais são muito parecidos entre as espécies, mas em

O. harastii a extremidade recurvada bicúspide tem cerca de 1/3 do tamanho do dente, enquanto que nas outras essa proporção é de 1/2. Todas as características aqui mencionadas conferem com as descrições originais de *O. polycerelloides*, *O. harastii* e *O. evelinae*. Embora a rádula de *O. zoobotryon* tenha sido descrita com fórmula 3.1.0.1.3 em um trabalho posterior à sua descrição original, realizado pelo mesmo autor da espécie (Smallwood, 1912), Clark (1984) ao estudar exemplares da localidade-tipo observou que *O. zoobotryon* tem a mesma fórmula radular das espécies do gênero *Okenia* e apresenta rádula igual à de *O. evelinae*, diferindo apenas no número de fileiras, o que poderia ser explicado pela variação no tamanho dos exemplares analisados.

Todo o restante do sistema digestório, desde o esôfago até o ânus, é muito similar entre as quatro espécies estudadas, sendo que o comprimento do tiflossole foi a única diferença observada, ocupando cerca de 4/5 do comprimento do intestino em *O. polycerelloides*, enquanto que nas outras três espécies essa proporção é de 1/3. Vayssiere (1901) não analisou internamente o sistema digestório de *O. elegans*, portanto não mencionando a presença de tiflossole; porém todos os demais caracteres desse sistema são semelhantes entre a espécie-tipo e àquelas aqui estudadas.

O sistema reprodutor foi o que se mostrou mais característico no nível específico, exceto entre *O. evelinae* e *O. zoobotryon*, que apresentam grande similaridade também nesse aspecto. Todas as espécies aqui analisadas apresentaram sistema reprodutor triáulico, que é comum para nudibrânquios doridídeos (Ghiselin, 1965), com três aberturas distintas: uma para saída do autoesperma (através do pênis), outra para entrada de aloesperma (vagina) e uma terceira para saída dos ovos fertilizados (abertura nidimental). Embora existam trabalhos mais antigos e até alguns mais recentes que mencionam ou ao menos ilustram a abertura nidimental em diferentes

espécies de *Okenia* (e.g. Vayssiere, 1901; Marcus, 1957; Cervera *et al.*, 1991; Gosliner, 2004; Gosliner & Bertsch, 2004), é possível notar que uma parte da literatura não aborda de forma alguma a existência da mesma no sistema reprodutor de algumas outras espécies como *O. hallucigenia* Rudman, 2004, *O. stellata* Rudman, 2004 e *O. harastii* (Rudman, 2004a; 2007; Pola *et al.*, 2014), o que pode levar a uma interpretação errônea de que estas teriam um sistema diáulico em vez de triáulico. Talvez isso se deva ao fato de a terceira abertura não ser muito conspícua e não visível ao se observar o poro genital externamente. Por meio da dissecação é possível perceber que a câmara de fertilização, apesar de ser parcialmente imersa entre as glândulas de muco e albúmen, também possui uma parte que se encaixa em uma concavidade nas glândulas, mas que é distinta das mesmas e conecta-se à região ventral do átrio comum do poro genital, onde se abre. Esta abertura é o que chamamos aqui, de acordo com Marcus (1957), de abertura do ducto nidimental. O ducto propriamente não é visível, muito possivelmente por ser interno à câmara de fertilização, como ilustrado por Vayssiere (1901) para a espécie-tipo do gênero, *O. elegans*. Estudos histológicos podem elucidar esse aspecto. O fato de a abertura nidimental não ter sido utilizada como caráter taxonômico em níveis hierárquicos menos abrangentes como espécie e gênero, talvez também explique o fato de não ser mencionada em alguns trabalhos mais recentes. Contudo, a descrição precisa do sistema reprodutor é importante, pois fornece caracteres para compreensão da evolução do grupo em nível supragenérico.

Estruturas como gônada, ducto hermafrodita, glândulas de muco e albúmen não apresentaram diferenças entre as quatro espécies, ao contrário de quase todas as outras partes do sistema reprodutor. A ampola apresenta um padrão alongado e tubular em *O. polycerelloides* e *O. harastii*, e forma levemente semicircular em *O. evelinae* e *O. zoobotryon*. A próstata tem o mesmo tamanho e topografia nas espécies estudadas, com

exceção de *O. harastii*, cuja próstata é cerca de três vezes mais longa que o comprimento da ampola tubular, e apresenta topografia diferente, localizada anteriormente à glândula de muco, em vez de ventral à mesma, como ocorre nas demais. O ducto deferente em *O. polycerelloides* é cerca de 5 vezes mais longo que nas três outras espécies. Todas as quatro possuem uma bainha envolvendo o pênis, porém com algumas diferenças específicas. Em *Okenia polycerelloides* a bainha tem diâmetro apenas ligeiramente maior que o pênis, revestindo-o em toda sua extensão, sendo também a única dentre as quatro cujas características do pênis e bainha são iguais às de *O. elegans*. Por outro lado, em *Okenia harastii*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon* a bainha consiste em um saco relativamente largo, dentro do qual o pênis fica solto e enovelado. Embora similar entre as três espécies, a bainha de *O. harastii* é cerca de 2–2,5 vezes mais comprida que as das outras duas. *Okenia zoobotryon* apresenta uma dilatação nos dois terços distais da bainha em relação ao primeiro terço proximal, que é o único caráter que aparentemente a difere de *O. evelinae* em termos morfológicos internos. Entretanto, como só foi possível analisar um topótipo de *O. zoobotryon*, essa diferença deve ser abordada com cautela, pois tal dilatação pode ser um artefato de fixação, uma vez que dilatações similares já foram observadas em outras estruturas tubulares (*e.g.* esôfago) de alguns indivíduos pertencentes as outras espécies do gênero aqui estudadas. Portanto, é necessário que outros exemplares de *O. zoobotryon* sejam analisados internamente para se determinar a validade desse caráter.

O ducto uterino mede cerca de metade do diâmetro do ducto do aloesperma em todas as espécies. Entretanto, em *O. harastii* tem cerca de metade do comprimento que nas outras três. *Okenia polycerelloides* foi a que apresentou o ducto do esperma exógeno mais longo, cerca de 2,5 vezes maior que o de *O. harastii* e 6 vezes maior que os de *O. evelinae* e *O. zoobotryon*. As quatro apresentaram um pequeno ducto

diferenciado que conecta o receptáculo seminal ao ducto do aloesperma, o mesmo ocorre com a bursa copulatória em *O. harastii*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon*, ao passo que em *O. polycerelloides* a bursa é diretamente conectada à vagina. Pola *et al.* (2014) destacam a existência de várias similaridades entre os exemplares procedentes da Península Yorke, previamente identificados como *O. zoobotryon* por Rudman (2004a), e a espécie descrita por eles como *O. harastii*, mencionando ainda que tais espécimes se assemelham muito mais à segunda do que à primeira. O próprio Rudman (2004a) aventa a hipótese de os exemplares estudados por ele não serem de fato *O. zoobotryon*, mas justifica sua opção pelo fato de o sistema reprodutor de *O. zoobotryon* não estar descrito na época e por ele não ter tido acesso a exemplares tipo da espécie ou a topótipos. Entretanto, Pola *et al.* (2014) apontam a existência do ducto da bursa copulatória em *O. harastii* como uma diferença morfológica entre esta e os exemplares da Península Yorke, cujo sistema reprodutor foi ilustrado por Rudman (2004a) sem a presença de tal ducto. Porém, a análise desses espécimes no presente estudo indicou claramente a presença do ducto da bursa copulatória, sendo o sistema reprodutor desses espécimes, portanto, igual ao ilustrado na descrição de *O. harastii*. É possível que Rudman (2004a) tenha analisado espécimes cujo ducto tivesse entrado na bursa devido à contração no momento da fixação. Dessa forma, os exemplares estudados por Rudman (2004a) e considerados como *O. zoobotryon* são de fato *O. harastii*, o que possivelmente implica na inexistência da primeira na Austrália.

As quatro espécies apresentaram diferenças e semelhanças entre a forma do receptáculo seminal e bursa copulatória: em *O. polycerelloides* ambas as estruturas têm forma oval; em *O. harastii* a primeira é arredondada e a segunda oval; em *O. evelinae* e *O. zoobotryon* são iguais, com receptáculo elipsoide e bursa arredondada. Como é possível notar, *O. polycerelloides* é a única espécie que possui as duas estruturas com o

mesmo formato. Pola *et al.* (2014) descrevem a bursa de *O. harastii* como sendo piriforme, o que seria diferente da forma arredondada aqui apresentada. Entretanto o volume da bursa, assim como o do receptáculo, varia intraespecificamente devido ao estado de preenchimento de cada estrutura no momento da fixação do espécime. Portanto, é possível que isto influencie também na forma aparente da estrutura, em que uma bursa mais vazia poderia resultar em um estado mais “murcho”, se assemelhando a algo piriforme ao invés de arredondado. Considera-se então que esta sutil diferença não tenha valor taxonômico.

A vagina em *O. polycerelloides* tem cerca de metade do diâmetro daquela das outras espécies e comprimento similar ao de *O. harastii*. Em *O. evelinae* e *O. zoobotryon* tal estrutura não apresenta diferença interespecífica, sendo em ambas bastante comprida e com uma região mediana com aspecto acetinado. Segundo Marcus (1957), em *O. evelinae* tal aspecto se deve à presença de densas fibras musculares anulares.

O sistema nervoso não difere anatomicamente nas três espécies: *O. polycerelloides*, *O. evelinae* e *O. zoobotryon*. *Okenia harastii* distingue-se destas pela presença de uma comissura subcerebral, que é difícil de ser notada em alguns exemplares, e ausência de comissura parapediosa, assim como ocorre em *O. elegans*, espécie-tipo do gênero (Hoffmann, 1939). Além disso, a comissura pediosa em *O. harastii* é cerca de três vezes mais fina em comparação com as das outras espécies. Como mencionado, os exemplares de *O. harastii* da localidade-tipo diferem sutilmente no padrão de cor em relação aos espécimes aqui analisados, porém são iguais em relação ao sistema reprodutor. Uma vez que o sistema nervoso nessa espécie se mostrou particularmente relevante por apresentar diferenças em relação às outras três, seria interessante e possivelmente esclarecedor que topótipos de *O. harastii* tivessem o

sistema nervoso descrito. Entretanto, como o sistema reprodutor e a rádula têm sido importantes desde sempre na diferenciação interespecífica de nudibrânquios (*e.g.* Marcus, 1957; Rudman, 1984; Avila *et al.*, 1998; Alejandrino & Valdés, 2006; Carmona *et al.*, 2014a), e a diferença na coloração entre estes espécimes de diferentes localidades é apenas sutil, concluímos que ambas devem ser consideradas como a mesma espécie, pelo menos até que estudos morfológicos mais aprofundados de topótipos e estudos moleculares de espécimes da Península Yorke possam ser realizados.

Como é possível notar nos resultados aqui apresentados, as características morfológicas foram suficientemente esclarecedoras em relação a possíveis dúvidas de identificação para todas as espécies que puderam ter um número razoável (pelo menos 5) de espécimes estudados. A situação se complicou quando o único topótipo de *O. zoobotryon* foi analisado evidenciando a sua extrema semelhança com *O. evelinae*, um fato já conhecido, uma vez que ambas já foram consideradas sinônimos por diversos autores (*e.g.* Clark, 1984; Edmunds & Just, 1985; Valdés & Ortea, 1995). Entretanto, o aspecto que se torna intrigante entre estas espécies quando somado à similaridade morfológica é a conspícua diferença de coloração entre elas, caráter este que tem se mostrado de grande valor taxonômico nos trabalhos mais recentes de nudibrânquios (*e.g.* Carmona *et al.*, 2013; 2014a; 2014b). Embora não tenha sido possível analisar mais exemplares de *O. zoobotryon*, o que evidenciaria a variação intraespecífica desta espécie podendo revelar caracteres taxonômicos que de fato a diferenciasse de *O. evelinae*, análises moleculares possibilitam elucidar o status específico de *O. evelinae* e *O. zoobotryon*.

O resultado das análises moleculares que tiveram sucesso para os marcadores moleculares mitocondriais COI e o 16S demonstrou um percentual de diferença

interespecífica de 16,4% entre *O. evelinae* e *O. zoobotryon* para o primeiro gene e de 9,2% para o segundo gene entre essas duas espécies e entre cada uma e *O. polycerelloides*. Enquanto que espécimes de uma mesma espécie apresentaram percentual de diferença molecular inferior a 1%, como ocorreu com os exemplares de *O. polycerelloides*. Carmona *et al.* (2013) ao considerarem distâncias genéticas de COI entre diferentes espécies de nudibrânquios Aeolidiidae constataram um percentual de diferença interespecífica para esse gene variando de 5,7% à 14,8%, enquanto a variação intraespecífica foi de 0% à 1,9%. Do mesmo modo, Pola *et al.* (2014) ao realizarem o mesmo tipo de análise com diferentes espécies de *Okenia*, inclusive *O. harastii* e *O. zoobotryon*, encontraram percentuais interespecíficos que variaram de 15% à 18,4% e intraespecíficos de 0,9%. Comparativamente com os dados aqui apresentados, estes resultados indicam que a diferença genética encontrada entre *O. evelinae* e *O. zoobotryon*, assim como entre estas e *O. polycerelloides* no presente trabalho, devem ser consideradas *a priori* como significativas. Entretanto, poucos indivíduos puderam ser analisados, de modo que estes resultados são considerados ainda preliminares. Ainda assim, eles indicam que de fato *O. evelinae*, *O. zoobotryon* e *O. polycerelloides* são espécies distintas. Aliando esses dados com os de coloração e morfologia, opta-se então por manter *O. evelinae* e *O. zoobotryon* como duas espécies válidas, mas indica-se a necessidade de análise morfológica de mais exemplares da segunda espécie e estudos moleculares mais aprofundados com ambas. Como previamente mencionado, os exemplares de *O. harastii* disponíveis não puderam ser analisados em relação a este aspecto por terem sido fixados em formol.

Todos estes dados abordados até o momento culminam em modificações na atual distribuição destas espécies. Smallwood (1910) descreveu *O. zoobotryon* para a Ilha de Agar, Bermudas, e desde então esta tem sido registrada em diferentes partes do

mundo: Barbados (Edmunds & Just, 1985); Cuba (Valdés & Ortea, 1995); Ilhas Canárias (Ortea *et al.*, 1996); Bahamas (Redfern, 2004); Senegal (Poddubetskaia, 2004); Austrália (Rudman, 2004a); Venezuela (Grune, 2005; Valdés *et al.*, 2006); Brasil (García *et al.*, 2008). Entretanto, grande parte desses registros é possivelmente resultado de identificações errôneas, ou de ocorrência de espécies consideradas como sinônimas. Como já foi mencionado, *O. evelinae* foi descrita por Marcus (1957) para o Sudeste do Brasil e sinonimizada com *O. zoobotryon* por Clark (1984). Desde então, essa sinonímia foi considerada (Meyer, 1977; Edmunds & Just, 1985; Valdés & Ortea, 1995; Rios, 2009) e desconsiderada por diferentes autores (Rudman, 2004a; 2004b; Valdés *et al.*, 2006; García *et al.*, 2008). Fato similar ocorreu com *O. polycerelloides*, que foi descrita por Ortea & Bouchet (1983), sinonimizada com *O. zoobotryon* por Rudman (2004a), restabelecida por Ortea *et al.*, (2009), e posterior a isso outros trabalhos sobre essa espécie foram feitos considerando-a ainda como *O. zoobotryon* (Pereira *et al.*, 2012). A situação de *Okenia harastii* é um pouco diferente por se tratar de uma espécie recentemente descrita e que Rudman (2004a) reportou como *O. zoobotryon* na Austrália por considerar o mais prudente a ser feito naquele momento. Dessa forma, é possível notar que os registros de distribuição dessas espécies encontram-se de fato bastante misturados.

Com base na análise feita no presente trabalho, considerando as quatro espécies aqui mencionadas como válidas, constatou-se que os registros de *O. zoobotryon* para Senegal (Poddubetskaia, 2004), Venezuela (Grune, 2005), EUA (Ianniello, 2007) e Brasil (García *et al.*, 2008) são de *O. polycerelloides*, já que todos esses registros fazem menção ou figuram características diagnósticas dessa espécie (*e.g.* presença da papila ímpar posterior ao círculo branquial). Valdés *et al.* (2006: 126) denominam de *O. zoobotryon* um espécime que muito provavelmente se trata de *O. polycerelloides*, o que

pode ser explicado pelo fato destes autores considerarem estas espécies como sinônimos. Além disso, esses autores (Valdés *et al.*, 2006: 128) figuram outro espécime que denominam de *Okenia* sp. 2, e que dizem ser comumente confundido com *O. zoobotryon*, muito provavelmente por se tratar de fato desta espécie, que aparentemente ocorre em diversas localidades do Atlântico Norte. Redfern (2001: 172, figs. 713 a–b; 2004) ilustra o que seria um espécime de *O. zoobotryon* procedente das Bahamas, mas o exemplar apesar de ser facilmente confundível com o grupo *O. zoobotryon*, apresenta diferenças em relação ao padrão de cor, sendo possivelmente uma nova espécie. Consequentemente, este mesmo autor a identifica como *Okenia* sp. A em seu livro publicado posteriormente (Redfern, 2013: 304, fig. 837) e mantém a identificação como incerta até que estudos mais aprofundados sejam realizados com a mesma. Edmunds & Just (1985) registram *O. zoobotryon* para Barbados, porém a descrição da coloração apresentada no trabalho se assemelha muito mais à de *O. evelinae*, considerada como sinônimo pelos autores; logo, conclui-se que muito possivelmente os espécimes analisados sejam exemplares de *O. evelinae*, ou talvez uma espécie nova bastante similar a esta. Ortea *et al.* (1996) reportam *O. zoobotryon* para as ilhas Canárias, mas segundo Ortea *et al.* (2009) esses espécimes são jovens de *O. evelinae*. Além destes, outros autores mencionam tais espécies para diferentes localidades, como *O. polycerelloides* para a Europa (Gofas *et al.*, 2001) e *O. evelinae* para o Canal do Panamá (Meyer, 1977), porém sem apresentarem ilustrações ou descrições. Dada a enorme confusão em torno da identificação destas espécies, estas ocorrências são consideradas duvidosas até que exemplares de tais localidades sejam ao menos ilustrados. Portanto, considera-se que *O. polycerelloides* seja uma espécie com distribuição no Atlântico Oeste (Norte e Sul) e no Atlântico Leste (Norte), assim como *O. evelinae*. Enquanto que

O. zoobotryon, ao contrário do que se pensava, encontra-se restrita ao Atlântico Norte, e *O. harastii* à costa da Austrália.

A atual distribuição de *O. evelinae* e *O. polycerelloides* se mantém como anfiatlântica, o que poderia ser explicado de duas formas: (1) as populações destas espécies localizadas em diferentes partes do mundo seriam compostas por espécies distintas destas duas, crípticas ou não, não tendo sido possível distingui-las adequadamente até o momento devido à falta de informação taxonômica acurada sobre espécimes dessas diferentes localidades, assim como parece ter ocorrido com *O. zoobotryon* durante todos esses anos; (2) todas as populações das diferentes localidades do Atlântico seriam de fato *O. evelinae* e *O. polycerelloides*, que têm distribuição relacionada à dispersão mundial do briozoário ao qual vivem associadas, *Z. verticillatum*.

A primeira possível explicação para o padrão anfiatlântico de *O. evelinae* e *O. polycerelloides* não deve ser descartada antes que estudos mais aprofundados sejam realizados, pois diversos trabalhos recentes têm revelado que várias espécies de nudibrânquios anteriormente consideradas como anfiatlânticas, ou até mesmo cosmopolitas, são de fato complexos de espécies com padrões de distribuição bem mais restritos (e.g. Carmona *et al.* 2014a; 2014b; 2014c; 2014d). Dessa forma, fica clara a necessidade de estudos similares a este, a ser realizados com exemplares de *O. polycerelloides* e *O. evelinae* procedentes das diferentes regiões no mundo onde tais espécies têm sido registradas, a fim de propiciar um claro entendimento da sua real distribuição geográfica.

Por outro lado, a segunda explicação também é pertinente, uma vez que várias espécies marinhas vêm apresentando modificações em sua distribuição natural devido a atividades antrópicas tais como navegações, aquicultura, entre outras, o que tem

resultado em bioinvasões com consequências ecológicas e econômicas tão preocupantes quanto no caso de sistemas terrestres e de água doce (Amat & Tempera, 2009). *Zoobotryon verticillatum*, um briozoário de hábito arborescente que pode atingir cerca de quatro metros de comprimento, é comumente encontrado em locais rasos e abrigados, em substrato natural ou de origem antrópica, como cascos de embarcações, estruturas de concreto e boias (Fox, 2001; Amat & Tempera, 2009). A espécie é considerada como tendo distribuição circumtropical, e aparentemente está entre as várias espécies marinhas que apresentam uma redistribuição artificial resultante de atividade humana (Elkhorn, 2002; Amat & Tempera, 2009). Muitos autores consideram *Z. verticillatum* uma espécie criptogênica, pela dificuldade de se determinar sua distribuição natural; contudo, sua ocorrência vem se expandindo a regiões em que não era conhecida até recentemente (Minchin, 2012), tendo sido registrada como espécie invasora em muitos locais, por exemplo, Estados Unidos (Gossett *et al.*, 2004), Austrália (Hayes *et al.*, 2005) e Ilha da Madeira (Wirtz1 & Canning-Clode, 2009). *Zoobotryon verticillatum* possui uma larva livre-natante de vida curta no plâncton, que provavelmente não tem capacidade de se dispersar por longas distâncias. O transporte em casco de embarcações em geral, tanto de pequeno porte como em navios, parece ser o modo de dispersão mais provável (Minchin, 2012).

Assim, uma vez que populações de nudibrânquios podem ser encontradas associadas a *Z. verticillatum*, supõem-se que possam ser também transportadas junto com as colônias, em cascos de embarcações ou outras estruturas flutuantes, para diferentes localidades do mundo, tendo também sua distribuição natural alterada, o que pode estar ocorrendo com *O. polycerelloides* e *O. evelinae*.

No que tange a *O. zoobotryon*, aparentemente até então sua distribuição pode ser explicada da primeira forma, pois os registros existentes para o Atlântico Sul e Indo-

Pacífico correspondem de fato a outras espécies, como evidenciado no presente estudo. Ademais, o mesmo autor que a reportou para as Ilhas Canárias (Ortea *et al.*, 1996) refutou esse registro em um trabalho posterior (Ortea *et al.*, 2009). Entretanto, ainda assim *O. zoobotryon* também poderia ser transportada junto com o briozoário hospedeiro da área conhecida de distribuição no Atlântico Norte Ocidental para outros locais por meio das inúmeras e diversas rotas de navegação de cabotagem e embarcações de passeio.

O nordeste do Brasil, por exemplo, é uma região do Atlântico Sul Ocidental onde a riqueza de nudibrânquios encontra-se subestimada, uma vez que a maioria dos estudos com o grupo no país foi realizada entre as décadas de 1950 e 1980 pelo casal Ernst e Eveline Marcus, em sua maioria no estado de São Paulo e ocasionalmente no Rio de Janeiro (Marcus, 1955; Marcus, 1956; Marcus & Marcus, 1960; Marcus, 1970; Marcus, 1983). Entretanto, na última década novas amostragens, mesmo que ainda incipientes, têm sido realizadas na costa nordeste do país culminando com uma série de novas ocorrências de espécies de nudibrânquios (*e.g.* Padula & Delgado, 2010; Sales *et al.*, 2011; 2013; Padula *et al.*, 2012), evidenciando a falta de conhecimento em relação à riqueza do grupo na região. Esse fato foi previamente notado por García *et al.* (2006) que tiveram dificuldades em explicar padrões biogeográficos de opistobrânquios devido a lacuna no conhecimento existente sobre gastrópodes no nordeste do país. Dessa forma, *O. zoobotryon* poderia ser uma das muitas espécies que talvez ocorram no nordeste brasileiro, mas que não foram ainda encontradas devido ao baixo esforço amostral na região. O mesmo pode ocorrer em outros locais do Atlântico onde esse esforço também seja reduzido. Sendo assim, caso surjam novos registros dessa espécie em outros locais fora do Atlântico Norte Ocidental, estes devem ser analisados com cautela, pois a possibilidade de *O. zoobotryon* ser carregada em colônias de *Z.*

verticillatum para diferentes localidades continuará existindo, mesmo que não haja evidências disto até então. Consequentemente, continuará existindo também a possibilidade desse nudibrânquio, e de outras espécies que vivem associadas à este briozoário, terem sua distribuição natural alterada por ação antrópica.

CONCLUSÕES

O arranjo das papilas dorsais, caráter que tem sido considerado como espécie-específico dentro do gênero *Okenia* Menke, 1830, se revelou muito variável nas espécies aqui estudadas (*O. evelinae*, *O. harastii*, *O. polycerelloides* e *O. zoobotryon*), não devendo ser utilizado de forma generalizada como um caráter diagnóstico em nível específico.

Para as espécies que tiveram um número razoável (pelo menos 5) de exemplares analisados (*O. evelinae*, *O. harastii*, *O. polycerelloides*), o estudo morfológico possibilitou a distinção interespecífica, corroborando a validade de *O. polycerelloides*, assim como de *O. harastii*, e a importância da morfologia interna para a taxonomia desses animais, principalmente do sistema reprodutor.

Características externas, coloração e morfologia da rádula indicam que os exemplares brasileiros previamente identificados como *O. zoobotryon* correspondem à descrição de *O. polycerelloides*. Entretanto, sugere-se a realização de análises ao menos do sistema reprodutor de topótipos dessa última, por apresentar também um amplo e intrigante padrão de distribuição.

O estudo morfológico de exemplares procedentes da Península de Yorke, Austrália, demonstrou que não se tratam de *O. zoobotryon*, como previamente identificados. Por terem apresentado sistema reprodutor e rádula iguais à *O. harastii*, cuja localidade-tipo encontra-se na Baía Nelson, também Austrália, foram considerados coespecíficos a esta. Entretanto, estes espécimes apresentaram uma sutil diferença de coloração em relação à descrição original, e uma vez que seu sistema nervoso foi o único diferente dentre as espécies aqui estudadas, sugere-se que estudos futuros com exemplares da localidade-tipo levem em consideração a morfologia do sistema nervoso.

Assim como estudos moleculares seriam de grande valor para descobrir se o material da Península Yorke não se trata de uma espécie nova.

Os dados morfológicos se mostraram inconclusivos quanto à diferenciação entre *O. evelinae* e *O. zoobotryon*, uma vez que o único exemplar desta última apresentou morfologia muito similar à primeira. Contudo, embora as sutis diferenças morfológicas observadas sejam consideradas insuficientes para distinguir *O. evelinae* de *O. zoobotryon*, as diferenças conspícuas de coloração e o resultado da análise molecular indicam claramente que ambas as espécies são válidas. Entretanto, é importante analisar um número maior de exemplares de *O. zoobotryon* procedentes da localidade-tipo para se confirmar essa questão.

Os resultados obtidos indicam que *O. zoobotryon* tem distribuição restrita ao Oceano Atlântico Norte Ocidental, e que espécies com morfologia externa similar têm sido de fato erroneamente identificadas como *O. zoobotryon*, levando a um equivocado padrão de distribuição dessa espécie. Contudo, amostragens mais amplas em outras localidades do Atlântico são necessárias para confirmar essa distribuição, sobretudo considerando a possibilidade de *O. zoobotryon* e espécies similares serem introduzidas por ação antrópica. Fato similar pode estar ocorrendo com *O. evelinae* e *O. polycerelloides*, e portanto estudos morfológicos e moleculares mais aprofundados com exemplares de ambas as espécies procedentes de diferentes regiões do mundo se fazem necessários para um melhor entendimento do padrão de distribuição geográfica desses nudibrânquios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, R.T. 1974. *American seashells*. New York: Van Nostrand Reinhold, 663p.
- Alejandrino, A. & Valdés, A. 2006. Phylogeny and biogeography of the Atlantic and Eastern Pacific *Hypselodoris* Stimpson, 1855 (Nudibranchia, Chromodorididae) with the description of a new species from the Caribbean Sea. *Journal of Molluscan Studies*, 72: 189–198.
- Amat, J.N. & Tempera, F. 2009. *Zoobotryon verticillatum* Della Chiaje, 1822 (Bryozoa), a new occurrence in the archipelago of the Azores (North-Eastern Atlantic). *Marine Pollution Bulletin*, 58: 761–764.
- Atkinson, L. & Atkinson, D. 2008. Re: First record of *Okenia zoobotryon* from Australia. [Message in] *Sea Slug Forum*. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/21370> (accessed 10 June 2014).
- Avila, C.; Ballesteros, M.; Slattery, M.; Starmer, J. & Paul, V.J. 1998. *Phyllodesmium guamensis* (Nudibranchia: Aeolidioidea), a new species from Guam (Micronesia). *Journal of Molluscan Studies*, 64: 147–160.
- Bouchet, P. & Gofas, S. 2014. *Okenia* Menke, 1830. Accessed through: World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=138042> on 2014-06-10.
- Caballer, M. 2014. *Okenia polycerelloides* (Ortea & Bouchet, 1983). Accessed through: World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=740463> on 2014-06-21

- Camacho-García, Y.E. & Gosliner, T.M. 2004. A new species of *Okenia* (Gastropoda: Nudibranchia: Goniodorididae) from the Pacific Coast of Costa Rica. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 55(23): 431–438.
- Carmona, L.; Pola, M.; Gosliner, T.M. & Cervera J.L. 2013. A Tale That Morphology Fails to Tell: A Molecular Phylogeny of Aeolidiidae (Aeolidida, Nudibranchia, Gastropoda). *Plos One*, 8(5): 1–13.
- Camacho-García, Y.; Gosliner, T.M. & Valdés, Á. 2005. *Guía de campo de las babosas marinas del Pacífico este tropical*. San Francisco: California Academy of Sciences, 129p.
- Carmona, L.; Pola, M.; Gosliner, T.M. & Cervera J.L. 2014a. The Atlantic-Mediterranean genus *Berghia* Trinchese, 1877 (Nudibranchia: Aeolidiidae): taxonomic review and phylogenetic analysis. *Journal of Molluscan Studies*, first published online: 1–17.
- Carmona, L.; Lei, R.B.; Pola, M.; Gosliner, T.M.; Valdés, A. & Cervera, J.L. 2014b. Untangling the *Spurilla neapolitana* (Delle Chiaje, 1841) species complex: a review of the genus *Spurilla* Bergh, 1864 (Mollusca: Nudibranchia: Aeolidiidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 170: 132–154.
- Carmona, L.; Pola, M.; Gosliner, T.M. & Cervera, J.L. 2014c. Review of *Baeolidia*, the largest genus of Aeolidiidae (Mollusca: Nudibranchia), with the description of five new species. *Zootaxa*, 3802(4): 477–514.
- Carmona, L.; Bhave, V.; Salunkhe, R.; Pola, M.; Gosliner, T.M. & Cervera, J.L. 2014d. Systematic review of *Anteaeolidiella* (Mollusca, Nudibranchia, Aeolidiidae) based on morphological and molecular data, with a description of three new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 171: 108–132.

- Cervera, J.L. 1991. Taxonomic and geographical range data on two rare species of *Okenia* (Gastropoda: Nudibranchia: Doridacea) from the Eastern Atlantic. *The Veliger*, 34(1): 56–66.
- Clark, K.B. 1984. New records and synonymies of Bermuda opisthobranchs (Gastropoda). *The Nautilus*, 98(2): 85–97.
- Edmunds, M. 2009. Opisthobranchiate Mollusca from Ghana: Goniodorididae. *Journal of Conchology*, 40: 37–54.
- Edmunds, M. & Just, H. 1985. Dorid, dendronotoid and arminid nudibranchiate Mollusca from Barbados. *Journal of Molluscan Studies*, 51(1): 52–63.
- Ellingson, R.A. & Krug, P.J. 2006. Evolution of poecilogony from planktotrophy: cryptic speciation, phylogeography, and larval development in the gastropod genus *Alderia*. *Evolution*, 60(11): 2293–2310.
- Elkhorn. 2002. Elkhorn Slough Research. Least Wanted Aquatic Invaders, Spaghetti Bryozoan (*Zoobotryon verticillatum*). Available from <http://www.elkhornslough.org/research/aquaticinvaders/aquatic21.htm>.
- Fahey, S.J. 2004. A new species of *Trapania* (Nudibranchia: Goniodorididae) from Western Australia with comparisons to other Indo-West Pacific *Trapania*. *Zootaxa*, 514: 1–12.
- Fauci, A.; Toonen, R.J. & Hadfield, M.G. 2007. Host shift and speciation in a coral feeding nudibranch. *Proceedings of the Royal Society B*, 274: 111–119.

- Fox, R. 2001. *Zoobotryon verticillatum*, Ctenostome, Bryozoan. In: Invertebrate Anatomy Online. Available from <http://webs.lander.edu/rsfox/invertebrates/zoobotryon.html>
- García, F.J.; Domínguez, M. & Troncoso, J.S. 2006. Biogeographic considerations of the Opisthobranchia (Mollusca: Gastropoda) fauna from the Brazilian littoral and nearby areas. *Bonner zoologische Beiträge*, 55: 203–222.
- García, F.J.; Domínguez, M. & Troncoso, J.S. 2008. *Opistobranquios de Brasil: Descripción y distribución de opistobranquios del litoral de Brasil y del Archipiélago Fernando de Noronha*. Vigo: Feito, S.L., 215p.
- Ghiselin, M.T. 1965. Reproductive function and the phylogeny of opisthobranch gastropods. *Malacologia*, 3: 327–378.
- Gianguzza, P.; Airoidi, L.; Chemello, R.; Todd, C.D. & Riggio, S. 2002. Feeding preferences of *Oxynoe olivacea*. *Journal of Molluscan Studies*, 68: 289–290.
- Gofas, S. 2014. Sacoglossa. Accessed through: World Register of Marine Species at <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=167> on 2014-09-05
- Gofas, S.; Le Renard, J. & Bouchet, P. 2001. Mollusca, In: Costello, M.J.; Emblow, C.S. & Whitw, R. (Ed.). *European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification*. Patrimoines Naturels, 50: 180–213.
- Gosliner, T.M. 2004. Phylogenetic Systematics of *Okenia*, *Sakishimaia*, *Hopkinsiella* and *Hopkinsia* (Nudibranchia: Goniadorididae) with descriptions of new species from the tropical Indo-Pacific. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 55(5): 125–161.

- Gosliner T.M. 2010. Two new species of nudibranch mollusks from the coast of California. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 4(61): 623–631.
- Gosliner, T.M. & Behrens, D.W. 2006. Anatomy of an invasion: systematics and distribution of the introduced opisthobranch snail, *Haminoea japonica* Pilsbry, 1895 (Gastropoda: Opisthobranchia: Haminoeidae). *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 57(37): 1003–1010.
- Gosliner, T.M. & Bertsch, H.W. 2004. Systematics of *Okenia* from the Pacific coast of North America (Nudibranchia: Goniodorididae) with descriptions of three new species. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 55(22): 414–430.
- Gossett, L.; Lester, J. & Gonzalez, L., 2004. *Galveston Bay Invasive Species Risk Assessment, Final Report*. Prepared for Galveston Bay Estuary Program, Texas Commission on Environmental Quality. Texas: Webster, 57p.
- Grune, S. 2005. *Okenia zoobotryon* from Venezuela. [Message in] *Sea Slug Forum*. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/13487>
- Hayes, K.; Sliwa, C.; Migus, S.; McEnulty, F. & Dunstan, P. 2005. *National priority pests: Part II, Ranking of Australian marine pests*. Melbourne: CSIRO Marine Research, 106p.
- Hoffmann, H. 1939. Mollusca. I *Opisthobranchia*. Klassen und Ordnungen des Tierreichs III (1). Leipzig: Akademische, 1248p.
- Ianniello, L.M., 2007. *Okenia zoobotryon* from southeast Florida, USA. [Message in] *Sea Slug Forum*. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/21015>

- Lance, J. 1966. New distributional records of some northeastern Pacific Opisthobranchiata (Mollusca: Gastropoda) with descriptions of two species. *The Veliger*, 9: 69–81.
- Leuckart, F.S. 1828. *Breves animalium quorundam maxima ex parte marinorum descriptiones*. Heidelbergae: Augusti Osswaldi, 24p.
- Marcus, Er. 1955. Opisthobranchia from Brazil. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Zoologia*, 20: 89–262.
- Marcus, Er. 1956. Notes on Opisthobranchia. *Boletim do Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo*, 7: 31–78.
- Marcus, Er. 1957. On Opisthobranchia from Brazil. *Journal of the Linnean Society, Zoology*, 43: 390–486.
- Marcus, Ev. 1970. Opisthobranchs from Northern Brazil. *Bulletin of Marine Science*, 20: 922–951.
- Marcus, Ev. 1983. The Western Atlantic Tritoniidae. *Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo*, 6: 177–214.
- Marcus, Ev. & Marcus, Er. 1960. Opisthobranchs from American Atlantic warm waters. *Bulletin of Marine Science of the Gulf and Caribbean*, 10(2): 129–203.
- Marcus, Er. & Ev. Marcus. 1970. Opisthobranchs from Curacao and faunistically related regions. *Studies on the Fauna of Curacao and other Caribbean Islands*, 33(122): 1–129.
- Meyer, K.B. 1977. Dorid nudibranchs of the Caribbean coast of the Panama Canal zone. *Bulletin of Marine Science*, 27: 299–307.

- Millen, S.V.; Schrödl, M.; Vargas, N. & Indacochea, A. 1994. A new species of *Okenia* (Nudibranchia: Doridacea) from the Peruvian Faunal Province. *The Veliger*, 37: 312–318.
- Minchin, D. 2012. Rapid assessment of the bryozoan *Zoobotryon verticillatum* (Delle Chiaje, 1822) in marinas, Canary Islands. *Marine Pollution Bulletin*, 64: 2146–2150.
- Odhner, N.H. 1941. New polycerid nudibranchiate Mollusca and remarks on this family. *Meddelanden fran Gotesborgs Musei Zoologiska Avdelning*, 91: 1–20.
- Ortea, J. & Bouchet, P. 1983. Un nuevo Goniodorididae (Mollusca: Nudibranchiata) de las islas Canarias. *Vieraea*, 12(1–2): 49–54.
- Ortea, J. & Espinosa, J. 2000. New species of the genus *Okenia* Menke, 1830 (Mollusca: Nudibranchia) from Cuba. *Avicennia*, 12/13: 84–86.
- Ortea, J.; Moro, L.; Bacallado, J.J.; Pérez Sánchez, J.M. & Vallès, Y. 1996. Nuevos datos sobre La fauna de doridos fanerobranquios (Gastropoda, Nudibranchia) de las Islas Canarias. *Revista de la Academia Canaria de Ciencias*, 8(2,3 e 4): 125–138.
- Ortea, J.; Moro, L. & Espinosa, J. 2009. El género *Okenia* Menke, 1830 (Mollusca: Nudibranchia) en las islas Canarias con notas sobre *Okenia zoobotryon* (Smallwood, 1910) una especie en controversia permanente. *Vieraea*, 37: 75–83.
- Padula, V. & Delgado, M. 2010. A new species of *Cerberilla* (Gastropoda: Nudibranchia: Aeolidiidae) from northeastern Brazil. *The Nautilus*, 124 (4): 175–180.

- Padula, V; Bahia, J; Correia, M.D. & Sovierzoski, H.H. 2012. New records of opisthobranchs (Mollusca: Gastropoda) from Alagoas, Northeastern Brazil. *Marine Biodiversity Records*, 5: 1–11.
- Pereira, F.R.; Berlinck, R.G.S.; Rodrigues, Filho E.; Veloso, K.; Ferreira, A.G. & Padula, V. 2012. Metabólitos secundários dos nudibrânquios *Tambja stegosauriformis*, *Hypselodoris lajensis* e *Okenia zoobotryon* e dos briozoários *Zoobotryon verticillatum* e *Bugula dentata* da Costa do Brasil. *Química Nova* 35: 2194–2201.
- Poddubetskaia, M. 2004. *Okenia zoobotryon?* from Senegal. Sea Slug Forum. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/10265>
- Pola, M.; Roldán, P. & Padilla S. 2014. Molecular data on the genus *Okenia* (Nudibranchia: Goniodorididae) reveal a new cryptic species from New South Wales (Australia). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(3): 587–598.
- Redfern, C. 2001. *Bahamian Seashells: a Thousand Species from Abaco, Bahamas*. Boca Raton: Bahamianseashells.com, Incorporated, x + 280p.
- Redfern, C. 2004. (Dec 22) *Okenia zoobotryon* from the Bahamas. [Message in] *Sea Slug Forum*. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/12421> (accessed 10 June 2014).
- Redfern, C. 2013. *Bahamian Seashells: 1161 Species from Abaco, Bahamas*. Boca Raton: Bahamianseashells.com, Incorporated, 501p.
- Rios, E.C. 2009. *Compendium of Brazilian Sea shells*. Rio Grande: Evangraf, 668p.

- Rudman, W.B. 1984. The Chromodorididae (Opisthobranchia: Mollusca) of the Indo-West Pacific: a review of the genera. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 81: 115–273.
- Rudman, W.B. 1998. *Corambe* sp. 1. In: Sea Slug Forum. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/factsheet/corasp1>
- Rudman, W.B. 2004a. Further species of the opisthobranch genus *Okenia* (Nudibranchia: Goniodorididae) from the Indo-West Pacific. *Zootaxa*, 695: 1–70.
- Rudman, W.B. 2004b. Rediscovery of *Okenia evelinae*. [Message in] *Sea Slug Forum*. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/12043>
- Rudman, W.B. 2007. Two new species of *Okenia* (Gastropoda: Nudibranchia: Goniodorididae) from eastern Australia and Tanzania. *Zootaxa*, 1657: 57–67.
- Sales L.; Delgado, M.; Queiroz, V.; Padula, V.; Sampaio, C.L.S. & Johnsson, R. 2011. First record of *Flabellina dana* Millen and Hamann, 2006 (Mollusca: Nudibranchia) in the South Atlantic Ocean. *Check List*, 7(6): 880–882.
- Sales, L. Queiroz, V.; Padula, V.; Neves, E.G.. & Johnsson, R. 2013. New records of nudibranchs (Mollusca: Gastropoda) from Bahia State, northeastern Brazil. *Check List*, 9 (3): 689–691.
- Schmekel, L. & Portmann, A. 1982. *Opisthobranchia des Mittelmeeres, Nudibranchia und Sacoglossa. Faune flora del Golfo di Napoli*. Monografia della Stazione Zoologica di Napoli. Germany: Springer-Verlag, Heidelberg, 410p.

- Schrödl, M. & Wägele, H. 2001. Anatomy and histology of *Corambe lucea* Marcus, 1959 (Gastropoda, Nudibranchia, Doridoidea), with a discussion of the systematic position of Corambidae. *Organisms Diversity & Evolution*, 1: 3–16.
- Schulze, A. & Wägele, H. 1998. Morphology, anatomy and histology of *Flabellina affinis* (Gmelin, 1791) (Nudibranchia, Aeolidoidea, Flabellinidae) and its relation to other Mediterranean *Flabellina* species. *Journal of Molluscan Studies*, 64: 195–214.
- Sigurdsson, J.B. 1991. A nudibranch, *Murphydoris singaporensis*, new genus and species, from Singapore mangroves (Mollusca: Opisthobranchia: Goniodorididae). *Raffles Museum of Biodiversity Research*, 39(1): 259–263.
- Smallwood, W.M. 1910. Notes on the hydroids and nudibranchs of Bermuda. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1: 137–145.
- Smallwood, W.M. 1912. *Polycerella zoobotryon*. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*, 47: 609–630.
- Thompson, T.E. 1988. *Molluscs: Benthic Opisthobranchs (Mollusca: Gastropoda: Keys and Notes for the Identification of the Species)*. New York: The Linnean Society of London & The Estuarine and Brackish-water Sciences Association, 356p.
- Thompson, T.E. & Brown, G.H. 1984. *Biology of opisthobranch molluscs*. London: The Ray Society, 229p.
- Valdes, A. & Ortea, J. 1995. Revised taxonomy of some species of the genus *Okenia* Menke, 1830 (Mollusca: Nudibranchia) from the Atlantic Ocean, with the description of a new species. *The Veliger*, 38(3): 223–234.

- Valdés, A. 2006. Re: Radula of Senegalese *Okenia zoobotryon*. [Message in] *Sea Slug Forum*. Australian Museum, Sydney. Available from <http://www.seaslugforum.net/find/16883>
- Valdés, A.; Hamann, J.; Behrens, D.W. & Dupont, A. 2006. *Caribbean Sea Slugs: A field guide to the the opisthobranch mollusks from the tropical northwestern Atlantic*. Washington: A Sea Challengers Natural History Books Publication, 289p.
- Vayssiere, A.J. 1901. Recherches zoologiques et anatomiques sur les mollusques Opisthobranches du Golfe de Marseille. 3. *Annales du Musée d'Histoire Naturelle de Marseille*, 6: 1–130.
- Wägele, H. 1989. On the anatomy and zoogeography of *Tritoniella belli* Eliot, 1907 (Opisthobranchia, Nudibranchia) and the synonymy of *T. sinuate* Eliot, 1907. *Polar Biology*, 9: 235–243.
- Wägele, H. & Klussmann-Kolb, A. 2005. Opisthobranchia (Mollusca, Gastropoda) – more than just slimy slugs. Shell reduction and its implications on defence and foraging. *Frontiers in Zoology*, 2: 1–18.
- Wägele, H & Willan, R.C. 2000. Phylogeny of the Nudibranchia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 130: 83–181.
- Wirtz, P. & Canning-Clode, J. 2009. The invasive bryozoan *Zoobotryon verticillatum* has arrived at Madeira Island. *Aquatic Invasions*, 4 (4): 669–670.
- Wollscheid-Lengeling, E.; Boore, J.; Brown, W. & Wägele, H. 2001. The phylogeny of Nudibranchia (Opisthobranchia, Gastropoda, Mollusca) reconstructed by three molecular markers. *Organisms Diversity & Evolution*, 1: 241–256.