

**Amanda Ferreira Cunha**

**O gênero *Orthopyxis* (Cnidaria, Hydrozoa) no  
Atlântico sul-ocidental: caracterização dos limites  
inter e intraespecíficos a partir de dados  
morfológicos e moleculares**

**São Paulo  
2011**

Amanda Ferreira Cunha

O gênero *Orthopyxis* (Cnidaria, Hydrozoa) no Atlântico sul-ocidental: caracterização dos limites inter e intraespecíficos a partir de dados morfológicos e moleculares

The genus *Orthopyxis* of the southwestern Atlantic: evaluation of inter and intraspecific boundaries using morphological and molecular data

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: Prof. Dr. Antonio Carlos Marques

São Paulo

2011

Cunha, Amanda F.

O gênero *Orthopyxis* (Cnidaria, Hydrozoa) no Atlântico sul-ocidental: caracterização dos limites inter e intraespecíficos a partir de dados morfológicos e moleculares.

111 páginas.

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

1. *Orthopyxis* 2. Limites interespecíficos  
3. Variação morfológica I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

## Comissão Julgadora

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof. Dr. Antonio Carlos Marques

À minha família, mãe, pai, Sam e Pietro,  
por todo apoio, ajuda e incentivo.

*"The beginning of wisdom is to call things by their right names."*

(Provérbio Chinês)

*"Delicacy, transparency, and grace pervade the entire structure; the spirit of beauty has thrown itself into every curve and line: the eye rests with full satisfaction on the little cups, so perfect is their form; and hardly less beautiful are the ringed and twisted pedicels that support them."*

Hincks, 1868:137-138,  
ao descrever os Campanulariidae.

# AGRADECIMENTOS

Gostaria de dedicar esse espaço a todas as pessoas que me ajudaram e contribuíram para que esse trabalho pudesse acontecer.

Ao meu orientador, Dr. Antonio Carlos Marques (Tim), pela oportunidade e por todo o conhecimento compartilhado. Aprendi muito durante o mestrado e sua ajuda foi fundamental para isso.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da USP, pelos conhecimentos compartilhados, pela dedicação aos alunos e por viabilizarem a execução de nossas pesquisas. Em especial, à Enio Mattos e Phillip Lenktaitis, pela ajuda e dedicação constantes;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado concedida;

Aos professores Drs. Tito Monteiro da Cruz Lotufo e Helena Matthews Cascon, e em especial aos seus alunos, por nos receberem tão gentilmente em seus laboratórios e pela ajuda imprescindível com as coletas em Fortaleza;

À Dra. M. Cristina Damborenea, curadora da coleção de invertebrados do Museo de La Plata, Argentina, por gentilmente nos receber e permitir nosso acesso à coleção de Cnidaria do museu. O estudo dessa coleção foi imprescindível para esse trabalho;

Ao professor Dr. Gabriel Genzano, pelo fornecimento de muitas referências importantes e exemplares de *Campanularia* da Argentina que acrescentaram muito a esse trabalho;

A todos os meus amigos, especialmente o pessoal do LEM e do LSM pela ajuda indescritível para a realização de todas as etapas desse trabalho. Desde minha chegada ao laboratório todas essas pessoas têm me ajudado muito, e grande parte do conhecimento que adquiri durante esses anos eu devo a elas. São elas: Thaís, Lucília, Juliana, Elaine, Camila, Marina, Maria, Nathália, Max, Mariana, Ezequiel, José Eduardo, Sabrina, Manoel, Maíra, Denis, Sarah. Também às amigas Marisa, Juliana e Paula, que moram comigo, pela companhia tão agradável, pela ajuda e apoio nos momentos em que eu mais precisei.

Ao Pietro, pelo carinho e dedicação constantes. Seu apoio foi muito importante durante esses anos;

Aos meus pais e irmã, pela ajuda e apoio em todos os momentos. Vocês são as luzes da minha vida, que me guiam pelos caminhos do bem e do crescimento pessoal.

A todos vocês muito obrigada, e que possam receber de volta, em dobro, toda a ajuda e alegria que me proporcionaram.

# ÍNDICE

<b>Introdução Geral.....</b>	<b>1</b>
Os Hydrozoa e a família Campanulariidae.....	1
O gênero <i>Orthopyxis</i> .....	3
Objetivos Gerais.....	4
Referências Bibliográficas.....	5
<b>Capítulo 1. Delimitação das espécies do gênero <i>Orthopyxis</i> no Atlântico sul-ocidental a partir de evidências moleculares.....</b>	<b>12</b>
Abstract.....	12
Resumo.....	12
Introdução.....	13
Material e Métodos.....	16
Resultados.....	18
Discussão.....	21
Referências Bibliográficas.....	25
<b>Capítulo 2. Variabilidade e relevância dos caracteres morfológicos na delimitação interespecífica de linhagens relacionadas a <i>Orthopyxis</i> no Atlântico sul-ocidental.....</b>	<b>52</b>
Abstract.....	52
Resumo.....	52
Introdução.....	53
Material e Métodos.....	55
Resultados.....	58
Discussão.....	61
Referências Bibliográficas.....	67
<b>Considerações Finais.....</b>	<b>95</b>
Referências Bibliográficas.....	97
<b>Resumo.....</b>	<b>100</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>101</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>102</b>

# INTRODUÇÃO GERAL

## OS HYDROZOA E A FAMÍLIA CAMPANULARIIDAE

‘Hidroides’ é um termo comumente adotado para se referir ao estágio sésil polipoide da classe Hydrozoa, uma das cinco classes que compõem o filo Cnidaria (Marques & Collins, 2004; Collins *et al.*, 2006; van Iten *et al.*, 2006). Os hidrozoários são caracterizados pelo desenvolvimento de medusas como brotos laterais dos pólipos, a partir de uma massa de tecido chamada entocórdio (Marques & Collins, 2004; Collins *et al.*, 2006; van Iten *et al.*, 2006). O grupo possui ciclos de vida variados (Boero *et al.*, 1992, 1997; Leclère *et al.*, 2007, 2009), seus pólipos, solitários ou coloniais, crescem sobre vários substratos naturais e artificiais (Calder, 1991a; Genzano & Rodríguez, 1998) e suas medusas podem ser planctônicas livre-natantes, retidas na forma de eumedusoides, ou aparecerem como formas ainda mais reduzidas (Millard, 1975; Boero & Bouillon, 1989).

Dentre os Hydrozoa, a ordem Leptothecata (senso Marques & Collins, 2004; Collins *et al.*, 2006; van Iten *et al.*, 2006) é caracterizada pela presença de teca nos pólipos, medusas com gônadas nos canais radiais e estatocistos de origem ectodérmica (Collins, 2000; Marques & Collins, 2004; Collins *et al.*, 2006). Embora o monofiletismo desse grupo seja corroborado por muitos estudos moleculares (e.g., Collins *et al.*, 2006; Cartwright *et al.*, 2008; Leclère *et al.*, 2009) sua posição filogenética entre os Hydroidolina ainda é incerta (Collins, 2002; Collins *et al.*, 2006; Cartwright *et al.*, 2008). Estudos moleculares também sugerem o não monofiletismo dos grupos Conica e Proboscoida (e.g., Collins, 2000; Leclère *et al.*, 2009), classificação tradicional que separa os hidroides das famílias Campanulariidae Johnston, 1836, Bonneviellidae Broch, 1909 e Phialuciidae Kramp, 1955 de todos os demais Leptothecata (Bouillon, 1985). De fato essas famílias têm se mostrado mais proximamente relacionadas às famílias Mitrocomidae Haeckel, 1879, Blackfordiidae Bouillon, 1984 e Lovenellidae Russel, 1953, entre outras (Collins, 2000; Leclère *et al.*, 2009).

Os hidroides da família Campanulariidae são conhecidos por formar colônias estoloniais ou eretas e por apresentar hidroteca em forma de campânula, com borda lisa ou cuspidada, radialmente ou bilateralmente simétrica (Millard, 1975; Cornelius, 1982; Calder, 1991b). Também são conhecidos pelos variados tipos de desenvolvimento do gonóforo (Millard, 1975; Boero & Sarà, 1987). Apesar disso, a indefinição quanto aos



caracteres adequados para a delimitação dos gêneros em Campanulariidae tem gerado discordância entre autores. A depender da proposta taxonômica, a família compreende de 11 a 13 gêneros, divididos em três subfamílias (Bouillon, 1985; Cornelius, 1982, 1995; Calder, 1991b): Campanulariinae Johnston, 1836, Clytiinae Cockerell, 1911 e Obeliinae Haeckel, 1879. Os gêneros *Obelia* Péron & Lesueur, 1810 e *Clytia* Lamouroux, 1812 foram os mais estudados (Cornelius, 1975, 1990; Lindner & Migotto, 2001, 2002; Govindarajan *et al.*, 2005; Boero *et al.*, 2007; Lindner *et al.*, 2011) e, para estes, a morfologia dos nematocistos se mostrou útil para a delimitação das espécies (Östman, 1979a, 1979b, 1982, 1999; Cornelius & Östman, 1987; Lindner & Migotto, 2001). Apesar disso, a grande plasticidade fenotípica dos representantes dessa família (Cornelius, 1982) tem imposto dificuldades na identificação das espécies (e.g., *Obelia longissima* (Pallas, 1766) e *O. dichotoma* (Linnaeus, 1758), Cornelius, 1975, 1990; *Orthopyxis integra* (Macgillivray, 1842), Cornelius, 1982).

O grau de redução da medusa tem sido bastante estudado para os Campanulariidae (Cornelius, 1982, 1990; Boero & Sarà, 1987; Boero *et al.*, 1996). A presença de medusas em *Clytia* e *Obelia*, medusoides em *Orthopyxis* L. Agassiz, 1862, meconídios em *Gonothyraea* Allman, 1864 e gonóforos fixos em *Campanularia* Lamarck, 1816, *Rhizocaulus* Stechow, 1919, *Silicularia* Meyen, 1834 e *Laomedea* Lamouroux, 1812, entre outros, levou à hipótese de supressão gradual da medusa entre os Campanulariidae (Boero & Sarà, 1987; Cornelius, 1982) e reaquisição da medusa em *Obelia* (Boero & Sarà, 1987; Boero *et al.*, 1996). Essas hipóteses foram refutadas por análises filogenéticas recentes dos Campanulariidae e dos Leptothecata (Govindarajan *et al.*, 2006; Leclère *et al.*, 2009), cuja otimização leva a um cenário de reduções múltiplas da medusa entre os diversos gêneros e homologia da medusa de *Obelia* com as demais medusas de Hydrozoa. Reduções múltiplas da medusa também foram propostas para representantes da família Hydractiniidae L. Agassiz, 1862 (Cunningham & Buss, 1993), porém eventos de reaquisição de medusoides já foram propostos para algumas famílias de Plumularioidea (Leclère *et al.*, 2007).

Estudos filogenéticos com representantes da família demonstraram que muitas espécies e gêneros não são monofiléticos (Govindarajan *et al.*, 2006; Lindner *et al.*, 2011), assim como a própria família (Govindarajan *et al.*, 2006; Peña Cantero *et al.*, 2010). Esse fato levanta dúvidas sobre a ampla distribuição encontrada para as espécies de Campanulariidae (e.g., Cornelius, 1982), e sugere a existência de espécies crípticas,

como foi demonstrado para as espécies *Obelia geniculata* (Govindarajan *et al.*, 2005), *Clytia gracilis* (Lindner *et al.*, 2011) e *Orthopyxis integra* (Govindarajan *et al.*, 2006).

### O GÊNERO *ORTHOPYXIS*

O nome *Orthopyxis* L. Agassiz, 1862 aparece inicialmente como subgênero em *Clytia (Orthopyxis) poterium*, e posteriormente como gênero no mesmo trabalho (L. Agassiz, 1862), embora não tenha sido formalmente descrito. No desenvolvimento de *C. (Orthopyxis) poterium* foi caracterizada a presença de medusas reduzidas (L. Agassiz, 1862), caráter distintivo do gênero adotado por autores subsequentes. As discussões a respeito da validade de *Orthopyxis* residem em sua semelhança com o gênero *Campanularia*, o que levou vários autores a considerarem os dois gêneros como sinônimos sob o nome *Campanularia*.

*Campanularia* e *Orthopyxis* têm em comum serem colônias estoloniais, com hidroteca campanulada e margem lisa ou cuspidada, com esférula subhidrotecal e sem diafragma verdadeiro (cf. Millard, 1975; Cornelius, 1982; Calder, 1991b). Autores que não consideram *Orthopyxis* como sinônimo argumentam que suas características distintivas são o espessamento do perissarco das espécies de *Orthopyxis*, principalmente nas paredes da hidroteca, mas algumas vezes também no pedicelo e hidrorriza, e gonóforos na forma de medusas reduzidas, livres ou retidas, enquanto espécies de *Campanularia* não formam medusa, apresentando gonóforos na forma de esporossacos fixos (Bale, 1914; Nutting, 1915; Ralph, 1957; Calder, 1991b; Cornelius, 1995; Bouillon *et al.*, 2004). Outros autores consideram essas características insuficientes para separação dos dois gêneros, principalmente em relação ao espessamento do perissarco, uma vez que seria comum a ocorrência de colônias polimórficas, com hidrotecas de paredes espessas e finas (Hincks, 1868; Millard, 1975; Hirohito, 1995).

Essa discordância quanto à validade do gênero *Orthopyxis* causou problemas taxonômicos (e.g. Cornelius, 1982, p.60), e dificulta o conhecimento sobre sua riqueza, sendo necessária uma revisão taxonômica detalhada (Arai & Brinckmann-Voss, 1980; Cornelius, 1982). Ademais, as espécies do gênero são semelhantes entre si, muitas vezes dificilmente distinguíveis somente pelas características do trofossomo (Bale, 1914; Ralph, 1957), gerando dúvida sobre a validade de muitas espécies. A Tabela 1 mostra nomes de espécies de *Orthopyxis* descritos na literatura, as sinonímias propostas por

alguns autores (e.g., Ralph, 1957; Millard, 1975; Cornelius, 1982; Calder, 1991b; Migotto, 1996; Vervoort & Watson, 2003), e a provável distribuição dessas espécies.

No Atlântico sul-ocidental existem registros das espécies dos gêneros *Campanularia* e *Orthopyxis* no Brasil (Vannucci-Mendes, 1946; Vannucci, 1949, 1954; Migotto *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2011), Uruguai (Milstein, 1976; Genzano *et al.*, 2009) e Argentina (Blanco, 1964, 1967a, 1967b, 1976; Genzano *et al.*, 2009). As espécies *Orthopyxis sargassicola* (Nutting, 1915), *Orthopyxis integra* (Macgillivray, 1842), *Campanularia agas* Cornelius, 1982, *Campanularia hesperia* Torrey, 1904 e *Campanularia hincksii* Alder, 1856 têm ocorrência conhecida no Brasil, porém os registros de algumas espécies do gênero *Campanularia* se restringem a trabalhos em que elas foram registradas pela primeira vez (Vannucci-Mendes, 1946; Vannucci, 1954), e em alguns casos são considerados duvidosos (e.g., Migotto *et al.*, 2002).

## OBJETIVOS GERAIS

Esse trabalho tem por objetivos (1) rever as ocorrências de espécies do gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental à luz de novas informações; (2) compreender a variação intraespecífica das espécies de *Orthopyxis* do Atlântico sul-ocidental e delimitá-las por meio do estudo morfométrico e molecular; (3) investigar o uso de evidências moleculares e morfológicas para a delimitação dos gêneros *Orthopyxis* e *Campanularia*.

Nesse sentido, o Capítulo 1 intitulado “Delimitação das espécies do gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental a partir de evidências moleculares” apresenta um estudo sobre os limites interespecíficos das espécies de *Orthopyxis* da região analisando suas sequências de diferentes marcadores de DNA. Foram também incluídas nas análises sequências de espécies do gênero *Campanularia* que permitiram inferir os limites entre os gêneros e testar o monofiletismo de *Orthopyxis*.

O Capítulo 2, intitulado “Variabilidade e relevância dos caracteres morfológicos na delimitação interespecífica de linhagens relacionadas a *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental” teve o objetivo de compreender esta variação morfológica intraespecífica de *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental contrastando com delimitações de espécies encontradas no capítulo anterior com base em DNA. Esse estudo permitiu a revisão de caracteres morfológicos utilizados para diagnose de espécies de *Orthopyxis*, caracterizando aqueles mais relevantes para delimitá-las. A inclusão de espécies do

gênero *Campanularia* apontou evidências morfológicas para a delimitação dos gêneros na região de estudo. O estudo da morfologia também permitiu discussões a respeito de alguns registros de espécies do gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental presentes na literatura.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agassiz, L. 1862. Hydroidae. Contributions to the natural history of the United States of America. Second Monograph 4: 181-380.
- Arai, M.N. & A. Brinckmann-Voss. 1980. Hydromedusae of British Columbia and Puget Sound. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences, Bulletin 204, 192p.
- Bale, W.M. 1914. Further notes on Australian hydroids. Part I. Proceedings of the Royal Society of Victoria 27: 72-93.
- Blanco, O.M. 1964. Algunos Campanularidos argentinos. Revista del Museo de La Plata 7: 149-171.
- Blanco, O.M. 1967a. Contribución al conocimiento de los hidrozoarios argentinos. Revista del Museo de La Plata 9 (71): 243-297.
- Blanco, O.M. 1967b. Un nuevo aporte al conocimiento de la fauna hidroide argentina. Revista del Museo de La Plata 5 (77): 97-113.
- Blanco, O.M. 1976. Hidrozoos de la expedición Walther Herwig. Revista del Museo de La Plata 12: 27-74.
- Boero, F. & J. Bouillon. 1989. An evolutionary interpretation of anomalous medusoid stages in the life cycles of some Leptomedusae (Cnidaria). pp. 37-41. In: Ryland, J.S. & P.A. Tyler (Eds.). Reproduction, Genetics and Distributions of Marine Organisms, 23<sup>rd</sup> European Marine Biology Symposium, Olsen & Olsen, Fredensborg.
- Boero, F. & M. Sarà. 1987. Motile sexual stages and evolution of Leptomedusae (Cnidaria). Bollettino di Zoologia 54: 131-139.
- Boero, F.; J. Bouillon & S. Piraino. 1992. On the origins and evolution of hydromedusan life cycles (Cnidaria, Hydrozoa), pp. 59-68. In: Dallai, R. (Ed.). Sex origin and evolution. Selected Symposia and Monographs U.Z.I., vol. 6, Mucchi, Modena.

- Boero, J.; J. Bouillon & S. Piraino. 1996. Classification and phylogeny in the Hydroidomedusae (Hydrozoa, Cnidaria). *Scientia Marina* 60(1): 17-33.
- Boero, F.; J. Bouillon; S. Piraino & V. Schmid. 1997. Diversity of hydroidomedusan life cycles: ecological implications and evolutionary patterns. *Proceedings of the 6th International Conference on Coelenterate Biology*, pp. 53-62.
- Boero, F.; C. Bucci; A.M.R. Colucci; C. Gravili & L. Stabili. 2007. *Obelia* (Cnidaria, Hydrozoa, Campanulariidae): a microphagous, filter-feeding medusa. *Marine Ecology* 28(Suppl. 1): 178-183.
- Bouillon, J. 1985. Essai de classification des Hydropolypes-Hydroméduses (Hydrozoa-Cnidaria). *Indo-Malayan Zoology* 2: 29-243.
- Bouillon, J.; M.D. Medel; F. Pagès; J.M. Gili; F. Boero & C. Gravili. 2004. Fauna of the Mediterranean Hydrozoa. *Scientia Marina* 68 (Suppl. 2): 1-449.
- Calder, D.R. 1991a. Associations between hydroid species assemblages and substrate types in the mangal at Twin Cays, Belize. *Canadian Journal of Zoology* 69(8): 2067-2074.
- Calder, D.R. 1991b. Shallow-water hydroids of Bermuda: the thecate, exclusive of Plumularioidea. *Life Science Contributions, Royal Ontario Museum* 154: 1-140.
- Cartwright, P.; N.M. Evans; C.W. Dunn; A.C. Marques; M.P. Miglietta; P. Schuchert & A. G. Collins. 2008. Phylogenetics of Hydroidolina (Hydrozoa: Cnidaria). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88: 1663-1672.
- Collins, A.G. 2000. Towards understanding the phylogenetic history of Hydrozoa: hypothesis testing with 18S gene sequence data. *Scientia Marina* 64(supl. 1): 5-22.
- Collins, A.G. 2002. Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarians life cycles. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 418-432.
- Collins, A.G.; P. Schuchert; A.C. Marques; T. Jankowski; M. Medina & B. Schierwater. 2006. Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models. *Systematic Biology* 55(1): 97-115.
- Cornelius, P.F.S. 1975. The hydroid species of *Obelia* (Coelenterata, Hydrozoa: Campanulariidae), with notes on the medusa stage. *Bulletin of the British Museum (Natural History)* 28: 249-293.

- Cornelius, P.F.S. 1982. Hydroids and medusae of the family Campanulariidae recorded from the eastern North Atlantic, with a world synopsis of genera. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology series)* 42 (2): 37-148.
- Cornelius, P.F.S. 1990. European *Obelia* (Cnidaria, Hydrozoa): systematics and identification. *Journal of Natural History* 24: 535-578.
- Cornelius, P. F.S. 1995. North-west European thecate hydroids and their medusae. Part 2. Sertulariidae to Campanulariidae. *Synopses of the British Fauna New Series* 50 (2): 1-386.
- Cornelius, P.F.S. & C. Östman. 1987. Redescription of *Laomedea exigua* M. Sars, a hydroid new to Scandinavia, with comments on its nematocysts, life cycle and feeding movements. *Zoologica Scripta* 16(1): 1-8.
- Cunningham, C.W. & L.W. Buss. 1993. Molecular evidence for multiple episodes of paedomorphosis in the family Hydractiniidae. *Biochemical Systematics and Ecology* 21(1): 57-69.
- Galea, H. 2007. Hydroids and hydromedusae (Cnidaria, Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 1597: 1–116.
- Galea, H.R.; V. Häussermann & G. Försterra. 2009. New additions to the hydroids (Cnidaria: Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 2019: 1-28.
- Genzano, G.N. & G.M. Rodriguez. 1998. Association between hydroid species and their substrates from the intertidal zone of Mar del Plata (Argentina). *Miscelània Zoològica* 21(1): 21-29.
- Genzano, G.N.; D. Giberto; L. Schejter; C. Bremec & P. Meretta. 2009. Hydroid assemblages from the Southwestern Atlantic Ocean (34-42°S). *Marine Ecology* 30: 33-46.
- Govindarajan, A.F.; K.M. Halanych & C.W. Cunningham. 2005. Mitochondrial evolution and phylogeography in the hydrozoan *Obelia geniculata* (Cnidaria). *Marine Biology* 146: 213-222.
- Govindarajan, A.F.; F. Boero & K.M. Halanych. 2006. Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae (Hydrozoa, Cnidaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 820-834.

- Hartlaub, C. 1905. Die Hydroiden der magalhaensischen region und chilenischen Küste. *Zoologische Jahrbücher* 6(3): 497–714.
- Hincks, T. 1861. On new Australian Hydrozoa. *Annals and Magazine of Natural History* 7: 279–281.
- Hincks, T. 1868. A history of the British hydroid zoophytes. Volume I – Text. London, John Van Voorst, Paternoster Row, pp. 1-338.
- Hirohito, Emperor Showa. 1969. Some hydroids of the Amakusa Islands. *Publications of the Biological Laboratory Imperial Household, Tokyo, Japan* 9:1-32.
- Hirohito, Emperor Showa. 1995. The hydroids of Sagami Bay II. Thecata. *Publications of the Biological Laboratory Imperial Household, Tokyo, Japan*, 355p.
- Huang, J-Q. & Z-Z. Xu. 1994. Description of four new species of Hydromedusae from Fujian Province (Athecatae-Anthomedusae and Thecatae-Leptomedusae). *Acta Zootaxonomica Sinica* 19(2): 132-138.
- Kubota, S. & M. Yamada. 1992. A new hydroid species *Campanularia (Orthopyxis) compressima* (Hydrozoa, Cnidaria) from Northern Japan. *Proceedings of the Japanese Society of Systematic Zoology* 47: 52-56.
- Leclère, L. ; P. Schuchert & M. Manuel. 2007. Phylogeny of the Plumularioidea (Hydrozoa, Leptothecata): evolution of colonial organisation and life cycle. *Zoologica Scripta* 36: 371-394.
- Leclère, L.; P. Schuchert; C. Cruaud; A. Couloux; M. Manuel. 2009. Molecular phylogenetics of Thecata (Hydrozoa, Cnidaria) reveals long-term maintenance of life history traits despite high frequency of recent character changes. *Systematic Biology* 58(5): 509-526.
- Leloup, E. 1974. Hydropolypes calyptoblastiques du Chili. Report n 48 of the Lund University of Chile Expedition 1948-1949. *Sarsia* 55: 1-61.
- Lindner, A. & A.E. Migotto. 2001. Merotrichous isorhiza, a nematocyst new to the Campanulariidae (Cnidaria: Hydrozoa), and its relevance for the classification of Cnidae. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 114 (4): 825-832.
- Lindner, A. & A.E. Migotto. 2002. The life cycle of *Clytia linearis* and *Clytia noliformis*: metagenic campanulariids (Cnidaria: Hydrozoa) with contrasting polyp and medusa stages. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82: 541-553.

- Lindner, A.; A.F. Govindarajan & A.E. Migotto. 2011. Cryptic species, life cycles, and the phylogeny of *Clytia* (Cnidaria: Hydrozoa: Campanulariidae). *Zootaxa* 2980: 23-36.
- Marques, A.C. & A.G. Collins. 2004. Cladistic analysis of Medusozoa and cnidarians evolution. *Invertebrate Biology* 123(1): 23-42.
- Migotto, A.E. 1996. Benthic shallow-water hydroids (Cnidaria, hydrozoa) of the coast of São Sebastião, Brazil, including a checklist of Brazilian hydroids. *Zoologische Verhandelingen* 306: 1-125.
- Migotto, A.E.; A. C. Marques; A.C. Morandini & F. L. Silveira. 2002. Checklist of the Cnidaria Medusozoa of Brazil. *Biota Neotropica* 2(1):1-31.
- Millard, N.A.H. 1975. Monograph on the Hydroida of Southern Africa. *Annals of the South African Museum* 68: 1-513.
- Milstein, A. 1976. Hydroidea de las costas uruguayas. *Dusenía* 9(3): 77-93.
- Miranda, T.P.; M.A. Haddad; V. Shimabukuro; J. Dubiaski-Silva & A.C. Marques. 2011. Fauna de hidroides (Cnidaria, Hydrozoa) da região de Bombinhas, Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica*, no prelo.
- Nutting, C.C. 1915. American Hydroids. Part III. The Campanulariidae and the Bonneviellidae. *Smithsonian Institution United States National Museum Especial Bulletin*, 126p.
- Östman, C. 1979a. Two types of nematocysts in Campanulariidae (Cnidaria, Hydrozoa) studied by light and scanning electron microscopy. *Zoologica Scripta* 8: 5-12.
- Östman, C. 1979b. Nematocysts in the *Phialidium* Medusae of *Clytia hemisphaerica* (Hydrozoa, Campanulariidae) studied by light and scanning electron microscopy. *Zoon* 7: 125-142.
- Östman, C. 1982. Nematocysts and taxonomy in *Laomedea*, *Gonothyrea* and *Obelia* (Hydrozoa, Campanulariidae). *Zoologica Scripta* 11 (4): 227-241.
- Östman, C. 1999. Nematocysts and their value as taxonomic parameters within the Campanulariidae (Hydrozoa). A review based on light and scanning electron microscopy. *Zoosystematica rossica* 1: 17-28.
- Peña Cantero, A.L.; V. Sentandreu & A. Latorre. 2010. Phylogenetic relationships of the endemic Antarctic benthic hydroids (Cnidaria, Hydrozoa): what does the mitochondrial 16S rRNA tell us about it? *Polar Biology* 33: 41-57.



- Ralph, P.M. 1957. New Zealand thecate hydroids. Part I. Campanulariidae and Campanulinidae. Transactions of the Royal Society of New Zealand 84(4): 811-854.
- Stechow, E. 1919. Zur Kenntnis der Hydroidenfauna des Mittelmeeres, Amerikas und anderer Gebiete, nebst Angaben über einige Kirchenpauer'sche Typen von Plumulariden. Zoologischen Jahrbücher 42: 1-172.
- Stechow, E., 1923. Über Hydroiden der Deutschen Tiefsee-Expedition, nebst Bemerkungen über einige andre Formen. Zoologischer Anzeiger 56(5-6): 97-119.
- Stechow, E. 1924. Diagnosen neuer Hydroiden aus Australien. Zoologischer Anzeiger 59: 57-69.
- van Iken, H.; J.M. Leme; M.G. Simões; A.C. Marques & A.G. Collins. 2006. Reassessment of the phylogenetic position of Conulariids (?Ediacaran-Triassic) within the subphylum Medusozoa (Phylum Cnidaria). Journal of Systematic Palaeontology 4(2): 109-118.
- Vannucci, M. 1949. Hydrozoa do Brasil. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo 99(14): 219-266.
- Vannucci, M. 1954. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Oceanográfico. Boletim do Instituto Oceanográfico 5: 95-149.
- Vannucci-Mendes, M. 1946. Hydroida Thecophora do Brasil. Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo 4(14): 535-598.
- Vervoort, W. & J.E. Watson. 2003. The Marine Fauna of New Zealand: Leptothecata (Cnidaria: Hydrozoa) (Thecate Hydroids). National Institute of Water and Atmospheric Research (NIWA), NIWA Biodiversity Memoir 119: 1-538.
- Watson, J.E. 2005. Hydroids of the Archipelago of the Recherche and Esperance, western Australia: annotated list, redescription of species and description of new species, pp: 495-612. In: Wells, F.E.; D.I. Walker & G.A. Kendrick (Eds.). The Marine Flora and Fauna of Esperance, Western Australia. Western Australian Museum, Perth.

Tabela 1. Espécies do gênero *Orthopyxis* descritas na literatura, sinónímias e distribuição. (?) Indica status duvidoso (espécie cuja ocorrência está restrita ao trabalho em que foi descrita pela primeira vez).

Espécies descritas	Sinónímias	Autor da sinónímia	Distribuição
<i>Orthopyxis affabilis</i> Vervoort & Watson, 2003	<i>Orthopyxis affabilis</i>	-	Nova Zelândia e Norfolk Rigde (Vervoort & Watson, 2003)
<i>Orthopyxis angulata</i> Bale, 1914	<i>Orthopyxis angulata</i>	-	Australia (Bale, 1914; Watson, 2005)
<i>Orthopyxis australis</i> (Stechow, 1924)	<i>Orthopyxis australis</i>	-	Australia (Stechow, 1924)
<i>Orthopyxis clytioides</i> (Lamouroux, 1824)	<i>Orthopyxis clytioides</i>	-	Azores, Estreito de Magalhães (Hartlaub, 1905; Nutting, 1915)
<i>Orthopyxis crenata</i> (Hartlaub, 1901)	<i>Orthopyxis crenata</i>	-	Nova Zelândia, Australia, Japão, Mar Mediterrâneo, Atlântico (Mar de Sargaço a Cabo Verde), Chile
<i>Orthopyxis delicata</i> Trebilcock, 1928	<i>Orthopyxis crenata</i>	Vervoort & Watson (2003)	(Leloup, 1974; Millard, 1975; Ralph, 1957; Hirohito, 1969; Vervoort & Watson, 2003; Watson, 2005; Galea <i>et al.</i> , 2009)
<i>Orthopyxis everta</i> (Clarke, 1876)	<i>Orthopyxis crenata</i>	Cornelius (1982)	
<i>Orthopyxis formosa</i> Trebilcock, 1928	<i>Orthopyxis crenata</i>	Ralph (1957); Vervoort & Watson (2003)	
<i>Orthopyxis crenataformis</i> Watson, 2005	<i>Orthopyxis crenataformis</i>	-	Australia (Watson, 2005)
<i>Orthopyxis compressima</i> Kubota & Yamada, 1992	<i>Orthopyxis compressima</i>	-	Hokkaido, Japão (Kubota & Yamada, 1992)
<i>Orthopyxis frigida</i> Stechow, 1923	<i>Orthopyxis frigida</i>	-	Antártica (Stechow, 1923)
<i>Orthopyxis fujianensis</i> Huang & Xu, 1994	<i>Orthopyxis fujianensis</i>	-	Fujian, China (Huang & Xu, 1994)
<i>Orthopyxis asymmetrica</i> Stechow, 1919	<i>Orthopyxis integra</i>	Cornelius (1982)	Atlântico, Pacífico, Mediterrâneo (Millard, 1975; Cornelius, 1982, 1995; Hirohito, 1995; Vervoort & Watson, 2003; Bouillon <i>et al.</i> 2004)
<i>Orthopyxis caliculata</i> Hincks, 1853	<i>Orthopyxis integra</i>	Millard (1975); Cornelius (1982); Vervoort & Watson (2003)	
<i>Orthopyxis compressa</i> Clark, 1877	<i>Orthopyxis integra</i>	Millard (1975); Cornelius (1982)	
<i>Orthopyxis integra</i> (Macgillivray, 1842)	<i>Orthopyxis integra</i>	-	
<i>Orthopyxis poterium</i> L. Agassiz, 1862	<i>Orthopyxis integra</i>	Cornelius (1982)	
<i>Orthopyxis rubra</i> (Behner, 1914)	<i>Orthopyxis integra</i> nome inválido	Millard (1975) Cornelius (1982)	
<i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919)	<i>Orthopyxis mollis</i>	-	Chile, Mar Mediterrâneo, Nova Zelândia (Stechow, 1919; Ralph, 1957; Vervoort & Watson, 2003; Galea 2007)
<i>Orthopyxis everta</i> (Clarke, 1876)	<i>Orthopyxis mollis</i>	Galea (2007)	
<i>Orthopyxis hartlaubi</i> El Beshbeeshy, 1991	<i>Orthopyxis mollis</i> <i>nomen nudum</i>	Vervoort & Watson (2003); Galea (2007) T.P. Miranda & A.C. marques, com. pess.	
<i>Orthopyxis platycarpa</i> Bale, 1914	<i>Orthopyxis platycarpa</i>	-	Australia, Japão (Bale, 1914; Hirohito, 1995)
<i>Orthopyxis billardi</i> Vannucci, 1954	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Calder (1991b); Migotto (1996); Miranda <i>et al.</i> (2011)	Atlântico ocidental (Nutting, 1915; Calder, 1991b; Migotto, 1996; Miranda <i>et al.</i> , 2011)
<i>Orthopyxis minuta</i> Vannucci, 1949	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Migotto (1996); Miranda <i>et al.</i> (2011)	
<i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915)	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	-	
<i>Orthopyxis tinctoria</i> (Hincks, 1861)	<i>Orthopyxis tinctoria</i>	-	Australia, Atlântico sul (Hincks, 1861; Hartlaub, 1905)
<i>Orthopyxis wilsoni</i> Bale, 1914	? <i>Orthopyxis wilsoni</i>	-	Australia (Bale, 1914)

# CAPÍTULO 1

## DELIMITAÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *ORTHOPYXIS* NO ATLÂNTICO SUL-OCIDENTAL A PARTIR DE EVIDÊNCIAS MOLECULARES

### ABSTRACT

The genus *Orthopyxis* is known to have quite variable morphology, especially concerning trophosomal characteristics. This variation causes considerable difficulties in species identification. There is a long list of nominal species recorded for the southwestern Atlantic, but most of these records are doubtful. The goal of this study was to infer species boundaries in the lineages of *Orthopyxis* from the southwestern Atlantic, including comparisons with *Campanularia* to infer intergeneric limits and to test the monophyly of the genus *Orthopyxis*. We have carried out DNA analyses of mitochondrial genes 16S and COI and nuclear genes ITS1 and ITS2. Six lineages with high bootstrap and Bremer supports came out in all the analyses, corresponding to the species *O. sargassicola*, *O. integra*, *O. crenata* and *C. subantarctica*. *Orthopyxis* was monophyletic in maximum likelihood analyses of the combined dataset and in all the analyses with 16S. *Orthopyxis integra* enclosed two somewhat distant lineages geographically structured. *Orthopyxis crenata*, a new record for the southwestern Atlantic, is morphologically similar with *O. sargassicola*, making it clear the importance of the gonotheca for their differentiation. *Campanularia subantarctica* was also split into two relatively distant lineages. We believe our approach may serve as a model to infer species boundaries for the Campanulariidae in the future.

### RESUMO

O gênero *Orthopyxis* é conhecido pela variabilidade morfológica de suas espécies, principalmente em relação às características do trofossoma. Essa variação dificulta a identificação das espécies. No Atlântico sul-ocidental, essas características levaram à descrição de um grande número de espécies nominais, gerando dúvidas sobre muitos registros. Esse estudo tem como objetivo a delimitação interespecífica em linhagens de *Orthopyxis* do Atlântico sul-ocidental, incluindo comparações com *Campanularia* para inferências sobre os limites entre estes gêneros, bem como testar o monofiletismo de *Orthopyxis*. Foram realizadas análises de DNA dos genes

mitocondriais 16S e COI, e dos genes nucleares ITS1 e ITS2. Seis linhagens foram obtidas em todas as análises, com altos valores de suporte, correspondentes às espécies *O. sargassicola*, *O. integra*, *O. crenata* e *C. subantarctica*. O gênero *Orthopyxis* resultou monofilético nas análises de evidência total sob o critério de máxima verossimilhança e nas análises com o marcador 16S. A espécie *O. integra* é formada por duas linhagens geneticamente distantes, o que sugere estruturação genética. *Orthopyxis crenata* corresponde a um novo registro para o Atlântico sul-ocidental, e sua semelhança morfológica com a espécie *O. sargassicola* demanda a presença da gonoteca para a identificação dessas espécies. *Campanularia subantarctica* também é formada por duas linhagens relativamente distantes entre si. Acreditamos que esse estudo pode servir como modelo para inferências sobre os limites interespecíficos em Campanulariidae no futuro.

## INTRODUÇÃO

Os hidroides da família Campanulariidae Johnston, 1836 (Hydrozoa, Cnidaria) são membros importantes das comunidades bentônicas marinhas, frequentemente registrados em estudos faunísticos e de ecologia dos Hydrozoa no Atlântico sul-ocidental (Migotto, 1996; Genzano & Rodríguez, 1998; Zamponi *et al.*, 1998; Genzano *et al.*, 2002, 2008, 2009; Lindner & Migotto, 2002; Migotto *et al.*, 2002; Genzano & Zamponi, 2003; Grohmann *et al.*, 2003; Marques *et al.*, 2003; Kelmo & Attrill, 2003; Miranda *et al.*, 2011). Estudos taxonômicos formais para a família são poucos, e abordam principalmente a evolução da medusa (Govindarajan *et al.*, 2006; Boero *et al.*, 2007; Cartwright *et al.*, 2008; Leclère *et al.*, 2009) e a delimitação de gêneros e espécies (Cornelius, 1975, 1982, 1990; Östman, 1982, 1999; Lindner & Migotto, 2002; Lindner *et al.*, 2011).

Entretanto, o histórico taxonômico dos grupos incluídos dentre os Campanulariidae demonstra que a família possui questões complexas. Há discordâncias entre os taxonomistas sobre a relevância dos diferentes caracteres utilizados na identificação e delimitação dos gêneros e espécies em Campanulariidae (Millard, 1975; Cornelius, 1982; Bouillon, 1985; Calder, 1991a). Isso ocorre principalmente porque as morfologias das espécies são simples e similares entre si, além de suas linhagens apresentarem uma ampla variação morfológica (ver Cornelius, 1982). Até mesmo o posicionamento filogenético da família dentre os Leptothecata (senso Marques &

Collins, 2004; Collins *et al.*, 2006; van Iken *et al.*, 2006) é questionado (cf. Marques, 1996; Collins, 2000; Leclère *et al.*, 2009).

O gênero *Orthopyxis* L. Agassiz, 1862 é um exemplo das dificuldades taxonômicas na família, bem como da discussão sobre a delimitação de seus táxons. Desde o século XIX, há discordâncias sobre sua validade (e.g., Hincks, 1868; Nutting, 1915; Millard, 1975; Arai & Brinckmann-Voss, 1980; Cornelius, 1982; Schuchert, 2001), especialmente por sua similaridade morfológica com o gênero *Campanularia* Lamarck, 1816, com quem já foi muitas vezes sinonimizado. Além disso, as espécies de *Orthopyxis* são semelhantes entre si, sendo dificilmente distinguíveis se o seu estudo se restringe às características do trofossoma (Bale, 1914; Ralph, 1957). Devido a estes fatos, os problemas taxonômicos de validade do gênero (e.g. Cornelius, 1982, p.60) e da validade de muitas de suas espécies (e.g., Cornelius, 1982; Govindarajan *et al.*, 2006), abordagens taxonômicas com caracteres de naturezas diferentes são necessárias.

Historicamente, para o Atlântico sul-ocidental, cinco espécies do gênero *Orthopyxis* foram registradas e descritas por Vannucci-Mendes (1946) e Vannucci (1949, 1954) para o litoral brasileiro, mas estas foram posteriormente identificadas, ainda que duvidosamente, como *Orthopyxis integra* (MacGillivray, 1842) e *Orthopyxis sargassicola* (Nutting, 1915) (e.g., Calder, 1991a; Migotto, 1996; Miranda *et al.*, 2011; Tabela 1). Além disso, Vannucci-Mendes (1946) e Vannucci (1954) também descreveram algumas espécies de *Campanularia* para o litoral do estado de São Paulo, que atualmente são consideradas registros duvidosos (Migotto *et al.*, 2002). Infelizmente, a maior parte do material descrito por Vannucci foi perdida (Migotto, 1996), o que impossibilita a revisão destes registros. Paralelamente, Blanco (1964, 1967, 1976) também descreveu várias espécies de *Campanularia* e *Orthopyxis* para o litoral da Argentina, muitas das quais foram posteriormente reidentificadas como *Campanularia subantarctica* Millard, 1971 pela própria autora (Blanco, 1994; Tabela 1). Entretanto, *C. subantarctica* foi recentemente considerada sinônimo de *Campanularia lennoxensis* Jäderholm, 1903 (Galea *et al.*, 2009), aumentando a confusão taxonômica que cerca os táxons. Outros registros de *Campanularia* e *Orthopyxis* para o Atlântico sul-ocidental ainda são considerados duvidosos (e.g., T.P. Miranda & A.C. Marques, com. pess.; Tabela 1), e sugerem a necessidade urgente de revisão das ocorrências dessas espécies na região.

Atualmente, duas espécies de *Orthopyxis* são bem aceitas no Atlântico sul-ocidental: *O. sargassicola* e *O. integra*. No litoral brasileiro, *O. sargassicola* foi registrada para o litoral do Espírito Santo (Grohmann *et al.*, 1997, 2003), Rio de Janeiro (Nogueira *et al.*, 1997; Grohmann *et al.*, 2003) e São Paulo (Rosso & Marques, 1997; Migotto, 1996; Oliveira & Marques, 2007; Cunha & Jacobucci, 2010), e junto a *O. integra*, foram registradas para o litoral do Paraná (Haddad & Chiaverini, 2000) e Santa Catarina (Miranda *et al.*, 2011); no litoral argentino, há registros da espécie *O. integra* (como *Campanularia integra*) nas regiões de Puerto Madryn, Chubut [Blanco, 1964, como *Orthopyxis caliculata* (Hincks, 1853)] e Punta Peñas, Sán Julian (Blanco, 1994). Uma terceira espécie, *Orthopyxis everta* (Clark, 1876), foi registrada por Blanco (1967, 1976) para a costa argentina, mas foi posteriormente identificada como *Campanularia subantarctica* (Blanco, 1994; T.P. Miranda & A.C. Marques, com. pess.). Apesar disso, existe muita discordância na literatura sobre o registro dessa espécie (Tabela 1). Mesmo a taxonomia de *O. integra* e *O. sargassicola*, duas espécies tradicionalmente registradas no Atlântico sul-ocidental, é incerta, também gerando dúvidas sobre seus registros.

Alternativamente, alguns estudos envolvendo dados moleculares têm se mostrado úteis na compreensão de limites interespecíficos em grupos com taxonomia difícil (e.g., Aguilar & Sánchez, 2007; Benzoni *et al.*, 2010; Budd *et al.*, 2010). Em Hydrozoa, o número de estudos moleculares tem crescido nos últimos anos, inclusive focando a delimitação de espécies de hidroides (e.g., Schierwater & Ender, 2000; Collins, *et al.*, 2005; Govindarajan *et al.*, 2005b; Schuchert, 2005; Galea & Leclère, 2007; Miglietta *et al.*, 2007, 2009; Moura *et al.*, 2008; Folino-Rorem *et al.*, 2009; Peña Cantero *et al.*, 2010; Nawrocki *et al.*, 2010), ou erros de identificação devido à morfologia e ou ciclo de vida incompletos (e.g., Miranda *et al.*, 2010). Entretanto, há poucos estudos moleculares com representantes da família Campanulariidae (e.g. Govindarajan *et al.*, 2005a, 2006; Lindner *et al.*, 2011), mas estes também demonstram evidências importantes para a compreensão dos limites interespecíficos do grupo, como o não monofiletismo da família (Govindarajan *et al.*, 2006, Peña Cantero *et al.*, 2010) e de algumas espécies dos gêneros *Clytia* Lamouroux, 1812 e *Orthopyxis* (Govindarajan *et al.*, 2006; Lindner *et al.*, 2011).

Este estudo tem o objetivo de esclarecer os limites interespecíficos das espécies do gênero *Orthopyxis* com ocorrência no Atlântico sul-ocidental, a partir de dados moleculares. Como consequência desta delimitação, a inclusão de espécimes do gênero

*Campanularia* permite uma compreensão dos limites entre ambos os gêneros, consequentemente testando a hipótese de monofiletismo do gênero *Orthopyxis* na região de estudo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes de *Orthopyxis* e *Campanularia* utilizados nas análises moleculares foram coletados em localidades brasileiras e argentinas (Tabela 2). Os materiais foram previamente identificados com o auxílio das descrições tradicionais (Millard, 1971; Cornelius 1982, 1995; Calder, 1991a; Galea *et al.*, 2009). Um espécime argentino do gênero *Silicularia* Meyen, 1834 também foi incluído em algumas análises por ser da mesma subfamília que os anteriores (Campanulariinae), supostamente relacionado a *Orthopyxis* (cf. Govindarajan *et al.*, 2006). Duas espécies do gênero *Obelia* Péron & Lesueur, 1810 (subfamília Obeliinae, suposto grupo-irmão de Campanulariinae segundo Govindarajan *et al.*, 2006 e Peña Cantero *et al.*, 2010), ambas provenientes dos Estados Unidos da América foram utilizadas como grupos externos nas análises filogenéticas.

O DNA total dos exemplares foi extraído utilizando-se o kit InstaGene (Bio-Rad), conforme protocolo do fabricante. As regiões dos marcadores mitocondriais 16S e COI, e do marcador nuclear ITS (ITS1, 5.8s e ITS2), foram amplificadas por meio de reações de PCR realizadas em volume total de 25µl, contendo 2-3µl de DNA, 100µl de dNTPs, *buffer* 10x, 3,5mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,4µl de cada *primer* e 0,85u de *Taq DNA Polymerase Recombinant* (Fermentas). As condições de amplificação e os *primers* utilizados para cada marcador estão descritos na Tabela 3. Os produtos amplificados foram checados em gel de agarose a 1,5% e purificados utilizando-se o kit de purificação Ampure (Agencourt), conforme instruções do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas com o kit *Big Dye Sequence Terminator v.3.1* (Applied Biosystems) e as amostras foram sequenciadas no sequenciador *ABI Prism 3100 Genetic Analyser* utilizando os mesmo *primers* da amplificação.

Os eletroferogramas foram editados utilizando-se o programa Geneious v5.3 (Drummond *et al.*, 2010) e as sequências alinhadas com o programa MAFFT (Kato *et al.*, 2002). Após o alinhamento, as extremidades de algumas sequências foram cortadas para ajustá-las ao tamanho da menor sequência. As sequências obtidas foram comparadas com sequências depositadas no *GenBank* para a confirmação dos genes e espécies de interesse, por meio da ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search

Tool, Altschul *et al.*, 1990). As sequências codificantes de COI foram comparadas com a sequência completa de *Hydra oligactis* (Kayal & Lavrov, 2008) (GenBank NC\_010214) e traduzidas para a confirmação de não se tratar de pseudogenes. Além disso, as regiões dos marcadores nucleares ITS1 e ITS2 foram extraídas das sequências de ITS amplificadas utilizando-se como guia a sequência de *Hydra circumcincta* (Martínez *et al.*, 2010) (GenBank GU722663) para delimitação da região do ITS1 e a ferramenta *ITS2 Database* (Schultz *et al.*, 2006), para delimitação da região do ITS2.

As análises filogenéticas foram realizadas sob os critérios de parcimônia (P) e máxima verossimilhança (MV). As análises foram realizadas considerando-se as seguintes matrizes de dados: (a) todos os dados concatenados (16S+COI+ITS1+ITS2, evidência total), (b) dados dos marcadores mitocondriais concatenados (16S+COI), (c) dados dos marcadores nucleares concatenados (ITS1+ITS2) e (d) dados dos marcadores separadamente. As matrizes de análise foram adequadas segundo os dados disponíveis, buscando a maior eficiência possível para cada análise. Em todas as análises foram utilizados somente haplótipos diferentes e únicos (Tabela 2), de forma que o nome da sequência que aparece na filogenia refere-se apenas a um dos indivíduos que compartilham aquele mesmo haplótipo. Para as análises concatenadas foram utilizados somente os exemplares que possuíam sequências para todos os marcadores (Tabela 2). Maiores detalhes das matrizes analisadas estão descritos na Tabela 4.

As sequências de DNA nuclear que apresentaram sítios ambíguos foram analisadas aplicando-se os respectivos códigos de ambiguidade (IUPAC *ambiguity codes*). Essa ambiguidade foi relacionada à ocorrência de heterozigiosidade no genoma nuclear de alguns indivíduos, em que um mesmo sítio apresenta dois alelos (haplótipos) diferentes (Clark, 1990; Zhang & Hewitt, 2003). Esse padrão ocorreu em 17 sequências de ITS1 e 22 de ITS2, do total de 65 sequências amplificadas para cada marcador. O número máximo de sítios ambíguos verificado foi cinco, em uma sequência de ITS2 de um indivíduo de Penha (SC), porém 46% das sequências apresentaram apenas um sítio ambíguo. Algumas dessas sequências com heterozigiosidade eram iguais em todas as posições nucleotídicas, inclusive no sítio que continha a ambiguidade e no código atribuído a ela. Por isso, para as análises filogenéticas, essas sequências foram também consideradas como haplótipos iguais.

As análises filogenéticas sob o critério de parcimônia foram realizadas nos programas PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002) e TNT (Goloboff *et al.*, 2008). A análise



consistiu de buscas heurísticas não ponderadas com algoritmo *random* em 1000 réplicas, e com *branch-swapping* utilizando-se o algoritmo TBR (*tree bisection-reconnection*). *Gaps* foram tratados como quinto estado. O suporte de ramos foi estimado pelo cálculo do *bootstrap* com 1000 réplicas no TNT e o suporte de Bremer (Bremer, 1988, 1994) a partir da retenção de árvores subótimas de até 500 passos acima do comprimento da árvore mais parcimoniosa. As análises filogenéticas sob o critério de máxima verossimilhança foram realizadas utilizando-se a ferramenta PALM (Chen *et al.*, 2009), com os modelos de evolução nucleotídica para os conjuntos de dados selecionados por meio do *Akaike Information Criterion* (AIC, Tabela 4). O suporte de ramos foi estimado pelo cálculo do *bootstrap* com 1000 réplicas. Matrizes de distâncias *p* (não corrigidas) foram calculadas no programa PAUP 4.0b10.

Redes de haplótipos foram construídas com os conjuntos de dados mitocondriais e nucleares para inferências sobre sua estruturação geográfica. Os alinhamentos de cada conjunto de dados foram convertidos ao formato Roehl pelo programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas, 2009) e os cálculos das redes de haplótipos foram realizados com o critério de *median-joining*, seguido de uma análise de parcimônia, utilizando-se o programa Network 4.6 (disponível em [www.fluxus-engineering.com](http://www.fluxus-engineering.com)). Análises descritivas dos dados (diversidade haplotípica e nucleotídica) foram realizadas utilizando-se o programa DnaSP v.5. Para a construção de redes de haplótipos e análises descritivas dos dados foram utilizadas somente as sequências de ITS1 e ITS2 que apresentaram uma única ambiguidade (além daquelas que não apresentaram ambiguidade). Nesses casos, os dois haplótipos possíveis de cada sequência foram reconstruídos e utilizados nas análises.

## RESULTADOS

### A. TOPOLOGIAS FILOGENÉTICAS

A resolução variou nas topologias obtidas. Embora todas as topologias tenham definido seis linhagens (clados 1 a 6) com altos valores de suporte de ramos (Figuras 1 a 4, Anexos I a X), as árvores concatenadas e individuais nucleares apresentaram pouca resolução e baixos valores de suporte entre eles (Anexos III, IV, VII-X). As topologias mitocondriais concatenadas e individuais apresentaram maior resolução no relacionamento entre os seis clados (Figuras 3 e 4, Anexos I, II, V e VI), porém os valores de suporte também são geralmente baixos. As topologias de evidência total

(Figuras 1 e 2) entretanto, apresentaram maiores valores de suporte nas relações entre os cladogramas 1 a 6 e foram congruentes com as árvores individuais de 16S (embora existam algumas diferenças no posicionamento dos cladogramas 4 e 5). Por esses motivos, tomaremos como hipótese de trabalho as filogenias resultantes das análises de evidência total e individuais para o marcador mitocondrial 16S (Figuras 1 a 4).

Com relação às seis linhagens obtidas em todas as topologias, apenas o cladograma 6 não resultou monofilético nas análises com ITS2. As análises de evidência total (MV e P, Figuras 1 e 2, respectivamente), apresentam valores de *bootstrap* para os cladogramas entre 99 (Cladograma 2, MV) e 100 (os demais cladogramas), com Bremer (P) desde 50 (Cladograma 4) a 121 (Cladograma 3). Ainda para a evidência total, a distância genética entre as linhagens é alta, variando de 2,60 a 15,65% para os marcadores mitocondriais e 9,84 a 45,42% para os nucleares (Tabela 5).

Os resultados delineiam gêneros e espécies conforme se segue:

**Gênero *Orthopyxis*** - o monofilétismo do gênero *Orthopyxis* é corroborado em todas as topologias, com exceção da de evidência total sob o critério de parcimônia. Os valores de suporte para *Orthopyxis* em geral são baixos (*bootstrap* < 50, Bremer = 4), com seu maior valor na filogenia de 16S em MV (*bootstrap* = 85). São os seus cladogramas:

- cladograma 1 (Figura 5C e J), corresponde morfologicamente à espécie *O. sargassicola* (Nutting, 1915);
- cladogramas 2 e 3 (Figura 5A, B, G e H), correspondem morfologicamente à espécie *Orthopyxis integra* (Macgillivray, 1842). Estes cladogramas formam um grupo monofilético nas filogenias de evidência total (MV e P, Figuras 1 e 2) e também para o 16S (Figuras 3 e 4), embora a distância genética entre eles seja grande (7,81 a 15,65% para marcadores mitocondriais) e equivalente às distâncias genéticas observadas entre as outras linhagens de *Orthopyxis* (e.g. cladogramas 1 e 6, Tabela 5). Em geral aparecem relacionados a *O. crenata* (ver abaixo), embora na topologia de evidência total sob o critério da parcimônia apareçam mais relacionados aos cladogramas 4 e 5 (*Campanularia subantarctica*), porém com baixos valores de suporte de ramos;
- cladograma 6 (Figura 5D e I), corresponde morfologicamente à espécie *O. crenata* (Hartlaub, 1901). Esse cladograma se apresentou distinto da linhagem correspondente à espécie *O. sargassicola* em todas as topologias com altos valores de suporte. O cladograma 6 aparece na maioria das topologias relacionado à espécie *O. integra* (cladogramas 2 e 3), embora com valores medianos de suporte.

**Gênero *Campanularia*** - os clados 4 e 5 (Figura 5E, F e K) correspondem morfologicamente à espécie *C. subantarctica* Millard, 1971, embora a identificação dos exemplares do clado 5 seja duvidosa por não possuírem gonotecas. Apesar da semelhança morfológica dos clados 4 e 5, eles formam um grupo monofilético apenas nas análises de evidência total (*bootstrap* = 70, Bremer = 8). A distância genética entre as duas linhagens também é alta (Tabela 5), mas é inferior à distância genética entre as duas linhagens de *Orthopyxis integra*.

**Gênero *Silicularia* e haplótipos SanJulián1ARG e CaletaOlivia1ARG** - a espécie *Silicularia rosea* Meyen, 1834 e os haplótipos não identificados SanJulián1ARG e CaletaOlivia1ARG aparecem somente na filogenia de 16S, já que não conseguimos obter o COI desses indivíduos. Nas filogenias de 16S é possível verificar a posição basal de *Silicularia rosea* em relação aos demais gêneros representados. O alto suporte apresentado pelo clado *Silicularia+Campanularia+Orthopyxis* corrobora o relacionamento destes gêneros, embora este possa ser um efeito do uso de uma raiz (grupos-externos) distante.

O haplótipo de San Julián (SanJulián1ARG) é morfologicamente semelhante à *Orthopyxis integra*, mas seu posicionamento ambíguo nas filogenias dificulta sua identificação. Sua posição basal dentre as espécies de *Orthopyxis* nas filogenias de 16S sugere que esse indivíduo possa ser diferente de todas as demais espécies do gênero, e por isso ele foi aqui denominado Campanulariidae gênero 1.

O haplótipo de Caleta Olivia (CaletaOlivia1ARG) é morfologicamente semelhante à *Orthopyxis crenata*, mas seu posicionamento ambíguo nas filogenias e a ausência de gonotecas também dificultam sua identificação. Uma vez que sua posição nas filogenias de 16S sempre inclui esse haplótipo dentre os *Orthopyxis*, nós o denominamos *Orthopyxis* sp1.

## B. REDES DE HAPLÓTIPOS E ESTRUTURAÇÃO GEOGRÁFICA

As redes de haplótipos mitocondriais e nucleares corroboram os mesmos seis clados das análises filogenéticas, com grande divergência entre eles (Figura 6), inclusive em suas estatísticas sumárias de diversidades genéticas dos marcadores mitocondriais e nucleares (Tabela 6). No geral, o alto número de linhagens e as baixas amostragens dos indivíduos não permitem estudos populacionais detalhados. Mas os grupos melhor

amostrados geograficamente, *O. integra* e *O. sargassicola*, permitem algumas inferências sobre suas populações.

As diversidades haplotípicas para os marcadores mitocondriais e nucleares foram semelhantes, mas a diversidade nucleotídica foi maior para os marcadores nucleares. A população de Santa Catarina da espécie *O. integra* apresentou a maior diversidade nucleotídica dos marcadores mitocondriais (3,51%) e nucleares (6,69%), enquanto outros não apresentaram diversidade genética (0,0%), tais como a população do Paraná de *O. integra* (mitocondriais), a de Santa Catarina de *O. sargassicola* (nucleares) e a do Rio de Janeiro de *O. integra* (nucleares), mas estes valores podem ser resultado do baixo número de indivíduos amostrados para essas populações.

Considerando-se os clados, a diversidade haplotípica foi em geral alta para ambos os marcadores, mas os valores de diversidade nucleotídica variaram entre eles. O clado 1 (= *O. sargassicola*) compreendeu os haplótipos de todas as regiões amostradas, com baixa resolução entre eles. Para os clados correspondentes a *O. integra*, o clado 3 é formado quase exclusivamente por haplótipos do Paraná e o clado 2 é formado por haplótipos das demais regiões amostradas. Os altos valores de distância genética verificados entre os clados 2 e 3 sugerem estruturação genética entre as populações de *O. integra*, porém as relações não resolvidas entre os haplótipos de *O. sargassicola*, e os baixos valores de distância genética verificados entre eles, demonstram haver pouca ou nenhuma estruturação genética entre as populações dessa espécie.

## DISCUSSÃO

Nossos resultados corroboram a importância dos marcadores mitocondriais, principalmente o 16S, para inferências filogenéticas em uma ampla gama de níveis taxonômicos. A capacidade do 16S de definir gêneros é conhecida em Hydrozoa (Schierwater & Ender, 2000; Govindarajan *et al.*, 2005a, 2005b; Schuchert, 2005; Miglietta *et al.*, 2007), bem como seu potencial para *barcoding* das espécies (Moura *et al.*, 2008). Esse marcador também apresenta nível de resolução para inferências filogenéticas entre superfamílias, ordens e até subclasses (e.g., Collins *et al.*, 2005), inclusive para Hydroidolina (Cartwright *et al.*, 2008). Observamos que o sinal filogenético do 16S foi importante na definição das relações entre as seis linhagens e os gêneros representados nas análises, inclusive corroborando o monofiletismo de *Orthopyxis* e individualizando as três espécies que ocorrem na área de estudo.

Diferente do 16S, o marcador nuclear ITS foi pouco utilizado para inferências filogenéticas nos Hydrozoa (e.g., Fritz *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2010), sendo mais comumente utilizado nos Scyphozoa (Dawson & Jacobs, 2001; Dawson, 2005; Schroth *et al.*, 2002; Ki *et al.*, 2008). A grande variabilidade da região do ITS foi registrada para espécies do gênero *Aurelia* (Dawson & Jacobs, 2001; Ki *et al.*, 2008), bem como para outros invertebrados (Vogler & DeSalle, 1994, Insecta; Harris & Crandall, 2000, Decapoda; Nu-Wei *et al.*, 2006, Anthozoa), e foi considerada inadequada para inferências no nível supraespecífico (e.g., Harris & Crandall, 2000). Nossas análises de marcadores nucleares corroboraram os resultados dos marcadores mitocondriais ao definirem as seis linhagens congruentes a todos os marcadores e análises. Os altos valores de distância genética apresentados por eles, entretanto, são uma forte evidência de que a informação filogenética fornecida pelo ITS nos níveis mais inclusivos das árvores é inadequada.

Estudos moleculares são comuns para caracterizarem linhagens crípticas, como em *Aurelia* (7-9 linhagens distantes geneticamente 13-24% para COI e 7,5-14,5% para 16S; Dawson & Jacobs, 2001; Schroth *et al.*, 2002) e *Tamoya* (2 linhagens distantes 4,4-4,5% para o COI e 2,1-2,5% para 16S; Collins *et al.*, 2011). Resultados semelhantes foram obtidos para espécies dos gêneros *Coryne*, *Turritopsis* e *Cordylophora*, em que as distâncias interespecíficas variam de 12,35 a 15,3% para o marcador COI de 3,7 a 9,2% para o 16S (Schuchert, 2005; Miglietta *et al.*, 2007; Folino-Rorem *et al.*, 2009). As distâncias genéticas que encontramos entre as espécies *O. integra*, *O. sargassicola* e *O. crenata* estão dentro destes mesmos parâmetros, com 12,35-16% para COI e 7,81-10,2% para 16S. Entretanto, ressaltamos que a espécie *O. integra* é composta por duas linhagens com distâncias genéticas próximas àquelas que definem as demais espécies encontradas, podendo, portanto, se tratar de duas linhagens crípticas menos inclusivas. O descobrimento de diferentes linhagens em espécies presumivelmente cosmopolitas parece também ser recorrente em Campanulariidae (Govindarajan *et al.*, 2005a, 2006; Lindner *et al.*, 2011), mesmo nos casos de grupos com extensas revisões taxonômicas que objetivavam estabelecer seus limites interespecíficos (e.g., Cornelius, 1975, 1990).

Embora seja possível se definir as espécies de *Orthopyxis* do Atlântico sul-ocidental molecularmente, a tarefa não é simples do ponto de vista morfológico, devido à grande variação intraespecífica. Isso está documentado para *O. integra* (Broch, 1909; Bale, 1914; Nutting, 1915; Millard, 1975; Cornelius, 1982), classicamente assumida

como cosmopolita (Nutting, 1915; Cornelius, 1982; Vervoort & Watson, 2003). A espécie *O. integra* não aparece como monofilética em um estudo filogenético dos Campanulariidae (Govindarajan *et al.*, 2006), o que pode estar relacionado à ampla variabilidade morfológica do que se chama “*O. integra*” e ao elevado número de espécies nominais associadas à ela (Cornelius, 1982). Entretanto, ao menos para o Atlântico sul-ocidental, a espécie *O. integra* resultou monofilética, embora com uma grande distância genética entre suas duas linhagens (clados 2 e 3). Ambas as linhagens apresentam caracteres morfológicos presumivelmente diagnósticos da espécie, a saber, borda da hidroteca lisa e gonoteca característica (Cornelius 1982, 1995).

Além de *O. integra* e *O. sargassicola*, caracterizamos também a espécie *O. crenata*, um novo registro para o Atlântico sul-ocidental. Exemplares dessa espécie ocorreram no Ceará (Fortaleza), São Paulo (Ubatuba) e Santa Catarina (Penha e Laguna); outros registros globais envolvem o litoral do Chile (Leloup, 1974; Galea *et al.*, 2009), Nova Zelândia (Hartlaub, 1901; Ralph, 1957; Vervoort & Watson, 2003), África do Sul (Millard, 1975, como *Campanularia crenata*) e Japão (Hirohito, 1995, como *C. crenata*). Há discussões sobre a variabilidade da morfologia das cúspides de *O. crenata*, desde uma leve ondulação na borda da hidroteca a cúspides bem desenvolvidas (Ralph, 1957; Millard, 1975; Cornelius, 1982; Hirohito, 1995; Vervoort & Watson, 2003; Galea *et al.*, 2009), nesse último padrão inclusive sobrepondo-se à morfologia das cúspides de *O. sargassicola*. De fato, Calder (1991a) ressaltou a semelhança entre *O. crenata* e *O. sargassicola*, diferenciando-se pela gonoteca, que são claramente distintas (e.g. Figura 5, I e J), especialmente pela presença de anelações na gonoteca de *O. sargassicola*. Essa característica deixa evidente a necessidade da presença da gonoteca para a identificação dessas espécies, e torna necessária a revisão dos registros de *O. sargassicola* na região de estudo. Em nossas análises, o clado *O. crenata* (clado 6) mostrou-se geralmente relacionado às duas linhagens de *O. integra*, mesmo com seu pólipo morfológicamente semelhante ao pólipo de *O. sargassicola*, e talvez esta seja a razão da espécie ainda não ter sido registrada até agora para a região de estudo. Entretanto, Migotto (1996) observou características próximas àquelas de *O. crenata* em alguns espécimes que classificou como *O. sargassicola* de São Sebastião (SP), principalmente em relação à morfologia das cúspides da hidroteca e dos medusoides.

As espécies *O. integra* e *O. sargassicola* liberam medusoides, embora na primeira essa liberação aparentemente seja facultativa (Giard, 1898; Cornelius, 1982;

1995; Migotto, 1996). Neste estudo, a população de *O. integra* do Paraná apresenta-se bastante diferenciada das demais populações amostradas da espécie, e isso pode estar relacionado não somente à baixa capacidade dispersiva de seu estágio planctônico (e.g., Leclère *et al.* 2009, Gibbons *et al.*, 2010), mas também a fatores intrínsecos da região onde ela ocorre. De fato, fatores como movimentos de correntes, temperatura da água e características geográficas podem funcionar como barreiras para a dispersão das espécies e contribuir para a diferenciação genética entre populações (Cornelius, 1992b; Palumbi, 1994; Schroth *et al.*, 2002). O efeito do *rafting* na distribuição de espécies com baixo potencial dispersivo do estágio planctônico (Cornelius 1992a, 1992b; Miglietta *et al.*, 2009) também deve ser considerado, e pode explicar a distribuição de *O. sargassicola* na região de estudo. Calder (1991b) registrou essa espécie em frondes de *Sargassum* flutuante no Atlântico Norte e, igualmente, todos os exemplares coletados nesse estudo ocorreram em algas, principalmente *Sargassum*. Uma análise abrangente da distribuição de hidroides no Atlântico sul-ocidental encontrou áreas de distribuição mais extensas para as espécies que não possuem medusa em seu ciclo de vida, sugerindo o *rafting* como a principal forma de dispersão desses indivíduos (Miranda, 2009). As evidências de pouca estruturação entre as populações de *O. sargassicola* podem sugerir o mesmo. De maneira contrastante, os espécimes de *O. integra* do Paraná foram coletados majoritariamente em substratos fixos (mexilhões, cracas), o que diminui substancialmente a possibilidade de dispersão por *rafting*, teoricamente tendendo a aumentar a estruturação genética da população.

Os exemplares de *Campanularia* aqui registrados assemelham-se morfológicamente às espécies de *Orthopyxis* do Atlântico sul-ocidental, embora a morfologia das gonotecas também seja bastante distinta. No trofossoma, os espécimes de *Campanularia* não possuem o perissarco da hidroteca e pedículo espessados, como visto em muitos espécimes de *Orthopyxis* spp. Galea *et al.* (2009) consideram *C. subantarctica* sinônimo de *C. lennoxensis* Jäderholm, 1903, baseado no argumento de que a espessura do perissarco é uma característica variável entre os Campanulariidae. De fato, como comentado, a variabilidade morfológica apresentada pelos representantes da família é conhecida (e.g. Cornelius, 1982), porém as descrições da espécie *C. subantarctica* na região de estudo assemelham-se, em geral, aos espécimes descritos por Millard (1971), com perissarco menos espesso (e.g., Blanco, 1984; Genzano *et al.*, 1991). É interessante notar que as duas linhagens de *C. subantarctica* encontradas nesse

estudo nem sempre resultaram monofiléticas em nossas análises, e também apresentaram distância genética considerável entre si, o que ressalta a necessidade de estudos mais detalhados, principalmente para se compreender em que nível a espessura do perissarco não é informativa.

A dificuldade de identificação das espécies de *Campanularia* e *Orthopyxis* na região de estudo é evidente, principalmente considerando-se o grande número de espécies nominais descritas e a incerteza quanto às sinonímias (e.g., Blanco, 1964, 1967, 1976; 1994; Vannucci-Mendes, 1946; Vannucci, 1949, 1951, 1954; Calder, 1991a; Migotto, 1996; Genzano & Zamponi, 1997; Genzano *et al.*, 2009; Miranda *et al.*, 2011). Nossas análises filogenéticas corroboram o monofiletismo de *Orthopyxis*, o que é uma importante evidência para a compreensão dos limites entre os dois gêneros na região de estudo. Acreditamos que a compreensão dos limites interespecíficos do gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental, conforme nossas análises, esclarece muitas dificuldades taxonômicas envolvidas com as espécies desse gênero, e pode servir como modelo para o delineamento de estudos futuros com espécies da família Campanulariidae.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, C. & J.A. Sánchez. 2007. Molecular morphometrics: contribution of ITS2 sequences and predicted RNA secondary structures to octocoral systematics. *Bulletin of Marine Science* 81(3): 335-349.
- Altschul, S.F.; W. Gish; W. Miller; E.W. Myers & D.J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215(3): 403-410.
- Arai, M.N. & A. Brinckmann-Voss. 1980. Hydromedusae of British Columbia and Puget Sound. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences*, 204, 192p.
- Bale, W.M. 1914. Further notes on Australian hydroids. Part I. *Proceedings of the Royal Society of Victoria* 27: 72-93.
- Benzoni, F.; F. Stefani; M. Pichon & P. Galli. 2010. The name game: morpho-molecular species boundaries in the genus *Psammocora* (Cnidaria, Scleractinia). *Zoological Journal of the Linnean Society* 160: 421-456.
- Blanco, O.M. 1964. Algunos Campanularidos argentinos. *Revista del Museo de La Plata* 7: 149-171.



- Blanco, O.M. 1967. Contribución al conocimiento de los hidrozorios argentinos. *Revista del Museo de La Plata* 9: 243-297.
- Blanco, O.M. 1968. Nueva contribución al conocimiento de la fauna marina hidroide. *Revista del Museo de La Plata*: 10: 195-224.
- Blanco, O.M. 1976. Hidrozoos de la expedición "Walther Herwig". *Revista del Museo de La Plata* 12: 27-74.
- Blanco, O.M. 1984. *Symplectoscyphus marionensis* Millard, 1971 (Hydroida Thecata) y sus epizoicos. *Revista del Museo de La Plata* 13: 261-267.
- Blanco, O.M. 1994. Enumeración sistemática y distribución geográfica preliminar de los hidroides de la República Argentina, Suborden Athecata (Gymnoblastera, Anthomedusae), Thecata (Calyptoblastera, Leptomedusae) y Limnomedusae. *Revista del Museo de La Plata* 14: 181-216.
- Boero, F.; C. Bucci; A.M.R. Colucci; C. Gravili & L. Stabili. 2007. *Obelia* (Cnidaria, Hydrozoa, Campanulariidae): a microphagous, filter-feeding medusa. *Marine Ecology* 28(Suppl. 1): 178-183.
- Bouillon, J. 1985. Essai de classification des Hydropolypes-Hydroméduses (Hydrozoa-Cnidaria). *Indo-Malayan Zoology* 2: 29-243.
- Bremer, K. 1988. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* 42(4): 795-803.
- Bremer, K. 1994. Branch support and tree stability. *Cladistics* 10: 295-304.
- Broch, H. 1909. Die Hydroiden der Arktischen Meere. *Fauna Arctica* 5: 129-247.
- Budd, A.F.; S.L. Romano; N.D. Smith & M.S. Barbeitos. 2010. Rethinking the phylogeny of scleractinian corals: a review of morphological and molecular data. *Integrative and Comparative Biology*, 50(3): 411-427.
- Calder, D.R. 1991a. Shallow-water hydroids of Bermuda: the thecate, exclusive of Plumularioidea. *Life Science Contributions, Royal Ontario Museum* 154: 1-140.
- Calder, D.R. 1991b. Associations between hydroid species assemblages and substrate types in the mangal at Twin Cays, Belize. *Canadian Journal of Zoology* 69: 2067-2074.
- Cartwright, P.; N.M. Evans; C.W. Dunn; A.C. Marques; M.P. Miglietta; P.Schuchert & A. G. Collins. 2008. Phylogenetics of Hydroidolina (Hydrozoa: Cnidaria). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88: 1663-1672.

- Chen, S.-H.; S.-Y. Su; C.-Z. Lo; K.-H. Chen; T.-J. Huang; B.-H. Kuo & C.-Y. Lin. 2009. PALM: A paralleled and integrated framework inference with automatic likelihood model selectors. PLoS ONE 4(12): e8116.
- Clark, A.G. 1990. Inference of haplotypes from PCR-amplified samples of diploid populations. Molecular Biology and Evolution 7(2): 111-122.
- Collins, A.G. 2000. Towards understanding the phylogenetic history of Hydrozoa: hypothesis testing with 18S gene sequence data. Scientia Marina 64(supl. 1): 5-22.
- Collins, A.G.; S. Winkelmann; H. Hadrys & B. Schierwater. 2005. Phylogeny of Capitata (Cnidaria, Hydrozoa) and Corynidae (Capitata) in light of mitochondrial 16S rDNA data. Zoologica Scripta 34: 91-99.
- Collins, A.G.; P. Schuchert; A.C. Marques; T. Jankowski; M. Medina & B. Schierwater. 2006. Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models. Systematic Biology 55(1): 97-115.
- Collins, A.G.; B. Bentlage; W.B. Gillan; T.H. Lynn; A.C. Morandini & A.C. Marques. 2011. Naming the Bonaire banded box jelly, *Tamoya ohboya*, n.sp. (Cnidaria: Cubozoa: Carybdeida: Tamoyidae). Zootaxa 2753: 53-68.
- Cornelius, P.F.S. 1975. The hydroid species of *Obelia* (Coelenterata, Hydrozoa: Campanulariidae), with notes on the medusa stage. Bulletin of the British Museum (Natural History) 28: 249-293.
- Cornelius, P.F.S. 1982. Hydroids and medusae of the family Campanulariidae recorded from the eastern North Atlantic, with a world synopsis of genera. Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology series) 42 (2): 37-148.
- Cornelius, P.F.S. 1990. European *Obelia* (Cnidaria, Hydrozoa): systematics and identification. Journal of Natural History 24: 535-578.
- Cornelius, P.F.S. 1992a. Medusa loss in leptolid Hydrozoa (Cnidaria), hydroid rafting, and abbreviated life-cycles among their remote-island faunae: an interim review. Scientia Marina 56(2-3): 245-261.
- Cornelius, P.F.S. 1992b. The Azores hydroid fauna and its origin, with discussion of rafting and medusa suppression. Arquipélago, Life and Earth Sciences 10: 75-99.
- Cornelius, P. F.S. 1995. North-west European thecate hydroids and their medusae. Part 2. Sertulariidae to Campanulariidae. Synopses of the British Fauna New Series 50 (2): 1-386.

- Cunha, A.F. & G.B. Jacobucci. 2010. Seasonal variation of epiphytic hydroids (Cnidaria: Hydrozoa) associated to a subtropical *Sargassum cymosum* (Phaeophyta: Fucales) bed. *Zoologia* 27(6): 945-955.
- Cunningham, C.W. & L.W. Buss. 1993. Molecular evidence for multiple episodes of pedomorphosis in the family Hydractiniidae. *Biochemical Systematics and Ecology* 21(1): 57-69.
- Dawson, M.N. & D. K. Jacobs. 2001. Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa). *Biological Bulletin* 200: 92-96.
- Dawson, M.N. 2005. Incipient speciation of *Catostylus mosaicus* (Scyphozoa, Rhizostomeae, Catostylidae), comparative phylogeography and biogeography in south-east Australia. *Journal of Biogeography* 32: 515-533.
- Drummond A.J.; B. Ashton; S. Buxton; M. Cheung; A. Cooper; J. Heled; M. Kearse; R. Moir; S. Stones-Havas; S. Sturrock; T. Thierer & A. Wilson. 2010. Geneious v5.3. Disponível em: <http://www.geneious.com>.
- El Beshbeeshy, M. 1991. Systematische, morphologische und zoogeographische untersuchungen an den Thekaten Hydroiden des Patagonischen schelfs. PhD. Dissertation, Hamburg University, Hamburg, 390 pp.
- Folino-Rorem, N.C.; J.A. Darling & C.A. D'Ausilio. 2009. Genetic analysis reveals multiple cryptic invasive species of the hydrozoan genus *Cordylophora*. *Biological Invasions* 11: 1869-1882.
- Folmer, O.; M. Black; W. Hoeh; R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299.
- Fritz, G.B.; M. Pfannkuchen; A. Reuner; R.O. Schill & F. Brümmer. 2009. *Craspedacusta sowerbii*, Lankester 1880 – population dispersal analysis using COI and ITS sequences. *Journal of Limnology* 68(1): 46-52.
- Galea, H. 2007. Hydroids and hydromedusae (Cnidaria, Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 1597: 1–116.
- Galea, H.R. & Leclère, L. 2007. On some morphologically aberrant, auto-epizootic forms of *Plumularia setacea* (Linnaeus, 1758) (Cnidaria: Hydrozoa) from southern Chile. *Zootaxa* 1484: 39-49.

- Galea, H.R.; V. Häussermann & G. Försterra. 2009. New additions to the hydroids (Cnidaria: Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 2019: 1-28.
- Genzano G.N. 1990. Hidropólipos (Cnidaria) de Mar del Plata, Argentina. *Nerítica* 5: 35-54.
- Genzano, G.N.; E. Cuartas; & A. Excoffon. 1991. Porifera y Cnidaria de la Campaña Oca Balda 05/88. *Thalassas* 9: 63-78.
- Genzano, G.N. & M.O. Zamponi. 1997. Frecuencia de estudio y diversidad de los hidrozoos bentónicos de la plataforma continental argentina. *Ciencias Marinas* 23(3): 285-302.
- Genzano, G.N. & G.M. Rodriguez. 1998. Association between hydroid species and their substrates from the intertidal zone of Mar del Plata (Argentine). *Miscelània Zoològica* 21(1): 21-29.
- Genzano, G.N. & M.O. Zamponi. 2003. Hydroid assemblages from Mar del Plata, Argentina, at depths between 0 and 500m. Distribution and biological substrata. *Oceanologica Acta* 25: 303-313.
- Genzano, G.N.; M.O. Zamponi; A.C. Excoffon & F.H. Acuña. 2002. Hydroid populations from sublittoral outcrops off Mar del Plata, Argentina: abundance, seasonality and reproductive periodicity. *Ophelia* 56 (3): 161-170.
- Genzano, G.N.; H. Mianzan; L. Diaz-Briz & C. Rodriguez. 2008. On the occurrence of *Obelia* medusa blooms and empirical evidence of unusual massive accumulations of *Obelia* and *Amphisbetia* hydroids on the Argentina shoreline. *Latin American Journal of Aquatic Research* 36(2): 301-307.
- Genzano, G.N.; D. Giberto; L. Schejter; C. Bremec & P. Meretta. 2009. Hydroid assemblages from the Southwestern Atlantic Ocean (34-42°S). *Marine Ecology* 30: 33-46.
- Giard, M.A. 1898. Sur l'éthologie du *Campanularia caliculata* Hincks (stolonisation et allogonie). *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie et de ses filiales* 10(5): 17-20.
- Gibbons, M.J.; L.A. Janson; A. Ismail & T. Samaai. 2010. Life cycle strategy, species richness and distribution in marine Hydrozoa (Cnidaria: Medusozoa). *Journal of Biogeography* 37: 441-448.

- Goloboff, P.A.; J.S. Farris & K.C. Nixon. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786.
- Govindarajan, A.F.; K.M. Halanych & C.W. Cunningham. 2005a. Mitochondrial evolution and phylogeography in the hydrozoan *Obelia geniculata* (Cnidaria). *Marine Biology* 146: 213-222.
- Govindarajan, A.F.; S. Piraino; C. Gravili & S. Kubota. 2005b. Species identification of bivalve-inhabiting marine hydrozoans of the genus *Eugymnanthea*. *Invertebrate Biology* 124(1): 1-10.
- Govindarajan, A.F.; F. Boero & K.M. Halanych. 2006. Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae (Hydrozoa, Cnidaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 820-834.
- Grohmann, P.A.; M.M. Souza & C.C. Nogueira. 1997. Hydroids from the vicinity of a large industrial area in Vitória, Espírito Santo, Brazil. *Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Conference on Coelenterate Biology*, National Natuurhistorisch Museum, Leiden, pp. 227-232.
- Grohmann, P.A.; C.C. Nogueira & V.M.A. Silva. 2003. Hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) collected on the continental shelf of Brazil during the Geomar X Oceanographic Operation. *Zootaxa* 299: 1-19.
- Haddad, M.A. & A.P. Chiaverini. 2000. Repartição de espaço entre hidroides (Cnidaria, Hydrozoa) epifíticos em *Sargassum stenophyllum* (Phaeophyta, Fucales) de Guaratuba, Paraná. *Anais do V Simpósio de Ecossistemas Brasileiros: Conservação*, Vitória, 2: 101-109.
- Harris, D.J. & K.A. Crandall. 2000. Intragenomic variation within ITS1 and ITS2 of freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae): implications for phylogenetic and microsatellite studies. *Molecular Biology and Evolution* 17(2): 284-291.
- Hartlaub, C. 1901. Hydroiden aus dem Stillen ocean. *Ergebnisse einer Reise nach dem Pacific*. *Zoologischen Jahrbücher* 14: 349-379.
- Hartlaub, C. 1905. Die Hydroiden der magalhaensischen Region und chilenischen Küste. *Zoologische Jahrbücher Suppl.* 6(3): 497-714.
- Hincks, T. 1868. A history of the British hydroid zoophytes. Volume I – Text. London, John Van Voorst, Paternoster Row, pp. 1-338.

- Hirohito, Emperor Showa. 1995. The hydroids of Sagami Bay II. Thecata. Publications of the Biological Laboratory Imperial Household, Tokyo, Japan, 355p.
- Jäderholm, E. 1903. Aussereuropäische Hydroiden im schwedischen Reichsmuseum. Arkiv för Zoologi 1: 259–312.
- Jäderholm, E. 1905. Hydroiden aus antarktischen und subantarktischen Meeren gesammelt von der schwedischen Südpolarexpedition. Wissenschaftliche Ergebnisse der Schwedischen Südpolar-Expedition 1901-1903 5:1–41.
- Jäderholm, E. 1917. Hydroids from the South Seas. Redogörelse Norrköpings Högre Allmänna Läroverk Läsaret, 1916-1917, pp.1–25.
- Ji, Y.-J.; D.-X. Zhang & L.-J. He. 2003. Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates. Molecular Ecology Notes 3: 581-585.
- Katoh, K.; K. Misawa; K.-i. Kuma & T. Miyata. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. Nucleic Acids Research 30(14): 3059-3066.
- Kayal, E. & D.V. Lavrov. 2008. The mitochondrial genome of *Hydra oligactis* (Cnidaria, Hydrozoa) sheds new light on animal mtDNA evolution and cnidarian phylogeny. Gene 410: 177-186.
- Kelmo, F. & M. J. Attrill. 2003. Shallow-water Campanulariidae (Hydrozoa, Leptothecata) from Northern Bahía, Brazil. Revista de Biología Tropical 51(1):123-146.
- Ki, J-S.; D-S. Hwang; K. Shin; W.D. Yoon; D. Lim; Y.S. Kang; Y. Lee; & J-S. Lee. 2008. Recent moon jelly (*Aurelia* sp. 1) blooms in Korean coastal waters suggest global expansion: examples inferred from mitochondrial COI and nuclear ITS-5.8S rDNA sequences. ICES Journal of Marine Science 65: 443-452.
- Leclère, L.; P. Schuchert; C. Cruaud; A. Couloux; M. Manuel. 2009. Molecular phylogenetics of Thecata (Hydrozoa, Cnidaria) reveals long-term maintenance of life history traits despite high frequency of recent character changes. Systematic Biology 58(5): 509-526.
- Leloup, E. 1974. Hydropolypes calyptoblastiques du Chili. Report n 48 of the Lund University of Chile Expedition 1948-1949. Sarsia 55: 1-61.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25: 1451-1452.

- Lindner, A. & A.E. Migotto. 2002. The life cycle of *Clytia linearis* and *Clytia noliformis*: metagenic campanulariids (Cnidaria: Hydrozoa) with contrasting polyp and medusa stages. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82: 541-553.
- Lindner, A.; A.F. Govindarajan & A.E. Migotto. 2011. Cryptic species, life cycles, and the phylogeny of *Clytia* (Cnidaria: Hydrozoa: Campanulariidae). *Zootaxa* 2980: 23-36.
- Marques, A.C. 1996. A critical analysis of a cladistic study of the genus *Eudendrium* (Cnidaria: Hydrozoa), with some comments on the family Eudendriidae. *Journal of Comparative Biology* 1(3-4): 153-162.
- Marques, A.C. & A.G. Collins. 2004. Cladistic analysis of Medusozoa and cnidarians evolution. *Invertebrate Biology* 123(1): 23-42.
- Marques, A.C.; A.C. Morandini & A.E. Migotto. Synopsis of knowledge on Cnidaria Medusozoa from Brazil. *Biota Neotropica* 3(2): 1-18.
- Martínez, D.E.; A.R. Iñiguez; K.M. Percell; J.B. Willner; J. Signorovitch & R.D. Campbell. 2010. Phylogeny and biogeography of *Hydra* (Cnidaria: Hydridae) using mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57: 403-410.
- Matejusová, I.; M. Gelnar; A.J.A. McBeath; C.M. Collins & C.O. Cunningham. 2001. Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *International Journal for Parasitology* 31: 738-745.
- Miglietta, M.P.; S. Piraino; S. Kubota & P. Schuchert. 2007. Species in the genus *Turritopsis* (Cnidaria, Hydrozoa): a molecular evaluation. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 45(1): 11-19.
- Miglietta, M.P.; P. Schuchert & C.W. Cunningham. 2009. Reconciling genealogical and morphological species in a worldwide study of the family Hydractiniidae (Cnidaria, Hydrozoa). *Zoologica Scripta* 38: 403-430.
- Migotto, A.E. 1996. Benthic shallow-water hydroids (Cnidaria, hydrozoa) of the coast of São Sebastião, Brazil, including a checklist of Brazilian hydroids. *Zoologische Verhandelingen* 306: 1-125.
- Migotto, A.E.; A. C. Marques; A.C. Morandini & F. L. Silveira. 2002. Checklist of the Cnidaria Medusozoa of Brazil. *Biota Neotropica* 2(1):1-31.

- Millard, N.A.H. 1971. Hydrozoa. pp. 396-408. In: Bakker, E.M.Z; J.M. Winterbotton; R.A. Dyer. (Eds). Marion and Prince Edward Islands, A.A. Balkema, Cape Town, 427p.
- Millard, N.A.H. 1975. Monograph on the Hydroida of Southern Africa. Annals of the South African Museum 68: 1-513.
- Miranda, T.P. 2009. Faunística e distribuição geográfica de hidroides bentônicos (Cnidaria, Hydrozoa) do sudoeste do Atlântico. Dissertação de Mestrado, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 206p.
- Miranda, L.S.; A.G. Collins & A.C. Marques. 2010. Molecules clarify a cnidarian life cycle – The “Hydrozoan” *Microhydrula limopsicola* is an early stage of the Staurozoan *Haliclystus antarcticus*. PLoS ONE 5(4): e10182.
- Miranda, T.P.; M.A. Haddad; V. Shimabukuro; J. Dubiaski-Silva & A.C. Marques. 2011. Fauna de hidroides (Cnidaria, Hydrozoa) da região de Bombinhas, Santa Catarina, Brasil. Biota Neotropica, no prelo.
- Moura, C.J.; D.J. Harris; M.R. Cunha & A.D. Rogers. 2008. DNA barcoding reveals cryptic diversity in marine hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from coastal and deep-sea environments. Zoologica Scripta 37: 93-108.
- Nawrocki, A.M.; P. Schuchert & P. Cartwright. 2010. Phylogenetics and evolution of Capitata (Cnidaria: Hydrozoa), and the systematics of Corynidae. Zoologica Scripta 39: 290-304.
- Nogueira, C.C.; P.A. Grohmann & V.M.A.P. Silva. 1997. Hydroids from the vicinity of a nuclear power plant site (CNAAA-Unidade I) at Angra-dos-Reis, Rio de Janeiro, southeastern Brazil. Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Conference on Coelenterate Biology, National Natuurhistorisch Museum, Leiden, pp. 365-369.
- Nutting, C.C. 1915. American Hydroids. Part III. The Campanulariidae and the Bonneviellidae. Smithsonian Institution United States National Museum Especial Bulletin, 126p.
- Nu-Wei, V.W.; C.C. Wallace; C-F. Dai; K.R.M. Pillay & C.A. Chen. 2006. Analyses of the ribosomal internal transcribed spacers (ITS) and the 5.8S gene indicate that extremely high rDNA heterogeneity is a unique feature in the scleractinian coral genus *Acropora* (Scleractinia; Acroporidae). Zoological Studies 45(3): 404-418.



- Oliveira, O.M.P. & A.C. Marques. 2007. Epiphytic hydroids (Hydrozoa: Anthoathecata and Leptothecata) of the world. *Check List* 3(1): 21-38.
- Östman, C. 1982. Nematocysts and taxonomy in *Laomedea*, *Gonothyrea* and *Obelia* (Hydrozoa, Campanulariidae). *Zoologica Scripta* 11(4): 227-241.
- Östman, C. 1999. Nematocysts and their value as taxonomic parameters within the Campanulariidae (Hydrozoa). A review based on light and scanning electron microscopy. *Zoosystematica Rossica* 1: 17-28.
- Palumbi, S.R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25: 547-572.
- Peña Cantero, A.L.; A. Svoboda & W. Vervoort. 2004. Antarctic hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) of the families Campanulinidae, Lafoeidae and Campanulariidae from recent Antarctic expeditions with R.V. Polarstern, with the description of a new species. *Journal of Natural History* 38: 2269–2303.
- Peña Cantero, A.L.; V. Sentandreu & A. Latorre. 2010. Phylogenetic relationships of the endemic Antarctic benthic hydroids (Cnidaria, Hydrozoa): what does the mitochondrial 16S rRNA tell us about it? *Polar Biology* 33: 41-57.
- Ralph, P.M. 1957. New Zealand thecate hydroids. Part I. Campanulariidae and Campanulinidae. *Transactions of the Royal Society of New Zealand* 84(4): 811-854.
- Ritchie, J. 1907. The hydroids of the Scottish National Antarctic Expedition. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh* 45: 519–545.
- Rosso, S. & A.C. Marques. 1997. Patterns of intertidal hydrozoan distribution along the coast of São Paulo State, southeastern Brazil. *Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Conference on Coelenterate Biology*, National Natuurhistorisch Museum, Leiden, pp. 145-422.
- Schierwater, B. & A. Ender. 2000. *Sarsia marii* n. sp. (Hydrozoa, Anthomedusae) and the use of 16S rDNA sequences for unpuzzling systematic relationships in Hydrozoa. *Scientia Marina* 64(Supl. 1): 117-122.
- Schroth, W.; G. Jarms; B. Streit & B. Schierwater. 2002. Speciation and phylogeography in the cosmopolitan marine moon jelly, *Aurelia* sp. *BMC Evolutionary Biology* 2:1.
- Schuchert, P. 2001. Hydroids of Greenland and Iceland (Cnidaria, Hydrozoa). *Meddelelser om Grønland, Bioscience* 53: 1-184.

- Schuchert, P. 2005. Species boundaries in the hydrozoan genus *Coryne*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 36: 194-199.
- Schultz, J.; T. Müller; M. Achtziger; P.N. Seibel; T. Dandekar & M. Wolf. 2006. The internal transcribed spacer 2 database – a web server for (not only) low level phylogenetic analyses. *Nucleic Acids Research* 34: 704-707.
- Stechow, E. 1919. Zur Kenntnis der Hydroidenfauna des Mittelmeeres, Amerikas und anderer Gebiete, nebst Angaben über einige Kirchenpauer'sche Typen von Plumulariden. *Zoologischen Jahrbücher* 42: 1–172.
- Swofford, D.L., 2002. PAUP\* (Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods). Version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, EUA.
- van Iten, H.; J.M. Leme; M.G. Simões; A.C. Marques & A.G. Collins. 2006. Reassessment of the phylogenetic position of Conulariids (?Ediacaran-Triassic) within the subphylum Medusozoa (Phylum Cnidaria). *Journal of Systematic Palaeontology* 4(2): 109-118.
- Vannucci, M. 1949. Hydrozoa do Brasil. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 99(14): 219-266.
- Vannucci, M. 1951. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Paulista de Oceanografia. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 2: 69-99.
- Vannucci, M. 1954. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Oceanográfico. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 5: 95-149.
- Vannucci-Mendes, M. 1946. Hydroida Thecaphora do Brasil. *Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo* 4(14): 535-598.
- Vervoort, W. 1972. Hydroids from the Theta, Vema and Yelcho cruises of the Lamont-Doherty Geological Observatory. *Zoologische Verhandelingen* 120: 1–247.
- Vervoort, W. & J.E. Watson. 2003. The Marine Fauna of New Zealand: Leptothecata (Cnidaria: Hydrozoa) (Thecate Hydroids). National Institute of Water and Atmospheric Research (NIWA), NIWA Biodiversity Memoir 119: 1-538.
- Vogler, A.P. & R. DeSalle. 1994. Evolution and phylogenetic information content of the ITS-1 region in the tiger beetle *Cicindela dorsalis*. *Molecular Biology and Evolution* 11(3): 393-405.
- Zamponi, M.O.; G.N. Genzano; F.G. Acuña & A.C. Excoffon. 1998. Studies of benthic cnidarians taxocenes along a transect off Mar del Plata (Argentina). *Russian Journal of Marine Biology* 24(1): 7-13.

Zhang, D.-X. & G.M. Hewitt. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology* 12: 563-584.

Tabela 1. Registros de espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia* para a região de estudo e identificação posterior, de acordo com dados da literatura. (?) Indicam dúvida na identificação, segundo suas citações originais.

Registro	Autor do registro	Local do registro	Identificação posterior	Autor da identificação posterior
<i>Campanularia agas</i> Cornelius, 1982	Zamponi <i>et al.</i> , 1998; Genzano <i>et al.</i> , 2009	Uruguai, Argentina	-	-
<i>Campanularia caliculata</i> Hincks, 1853	Jäderholm, 1903 Hartlaub, 1905	Patagônia Estreito de Magalhães	- <i>Orthopyxis caliculata</i> Hincks, 1853 ? <i>Orthopyxis crenata</i> (Hartlaub, 1901)	- Blanco, 1964 Galea <i>et al.</i> , 2009
<i>Campanularia clytioides</i> (Lamouroux, 1824)	Hartlaub, 1905	Estreito de Magalhães	-	-
<i>Campanularia compressa</i> Clark, 1876	Jäderholm, 1905	Ilhas Malvinas	<i>Campanularia integra</i> Macgillivray, 1842	Blanco, 1994; Genzano & Zamponi, 1997
<i>Campanularia (Orthopyxis) everta</i> Clark, 1876	Blanco, 1976	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	<i>Campanularia subantarctica</i> Millard, 1971	Blanco, 1994
	Vervoort, 1972	Argentina, entre Tierra Del Fuego e Ilhas Malvinas, Estreito de Magalhães	<i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919) <i>Campanularia lennoxensis</i> Jäderholm, 1903 <i>Campanularia subantarctica</i> Millard, 1971	Vervoort & Watson, 2003; Galea, 2007 Galea <i>et al.</i> , 2009 Blanco, 1994
<i>Campanularia hesperia</i> Torrey, 1904	Vannucci-Mendes, 1946	Brasil, São Paulo, Ilha de Santo Amaro	? <i>Campanularia hesperia</i> Torrey, 1904	Migotto, 1996; Migotto <i>et al.</i> , 2002
<i>Campanularia hincksii</i> Alder, 1856	Grohmann <i>et al.</i> , 2003; Kelmo & Atrill, 2003	Brasil, Rio de Janeiro; Bahia	-	-
	Genzano & Zamponi, 1997; Zamponi <i>et al.</i> , 1998; Genzano <i>et al.</i> , 2009	Argentina, Mar del Plata	-	-
<i>Campanularia hincksii grandis</i> Billard, 1906	Blanco, 1968	Argentina, Buenos Aires, Quequén	<i>Campanularia hincksii</i> Alder, 1856	Blanco, 1994; Genzano, 1990
<i>Campanularia hicksoni</i> Totton, 1930	El Beshbeeshy, 1991	Argentina	? <i>Campanularia hicksoni</i> Totton, 1930	Peña Cantero <i>et al.</i> , 2004
<i>Campanularia integra</i> Macgillivray, 1842	Blanco, 1964, 1994	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	-	-
<i>Campanularia (Campanularia) laevis</i> Hartlaub, 1905	Vervoort, 1972	Argentina, Tierra del Fuego	<i>Campanularia agas</i> Cornelius, 1982	Genzano & Zamponi, 1997, 2003; Galea, 2007
<i>Campanularia laevis</i> Hartlaub, 1905	Vannucci, 1954	Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brasil	? <i>Campanularia agas</i> Cornelius, 1982	Migotto, 1996; Migotto <i>et al.</i> , 2002

Tabela 1. Continuação.

Registro	Autor do registro	Local do registro	Identificação posterior	Autor da identificação posterior
<i>Campanularia lennoxensis</i> Jäderholm, 1903	Jäderholm, 1903; Nutting, 1915 Stechow, 1919	Patagônia (Ilha Lennox) Rio de Janeiro, Brasil	- ? <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915)	- Migotto, 1996
<i>Campanularia subantarctica</i> Millard, 1971	Blanco, 1984; Genzano <i>et al.</i> , 1991, 2009	Argentina, Tierra del Fuego, Isla de los Estados	-	-
<i>Campanularia volubilis</i> (Linnaeus, 1758) var. <i>antarctica</i> Ritchie, 1913	Blanco, 1964	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	? <i>Campanularia antarctica</i> Stechow, 1922	Peña Cantero <i>et al.</i> , 2004
<i>Campanularia tinctoria</i> Hincks, 1861	Hartlaub, 1905	Ilhas Malvinas	? <i>Campanularia tinctoria</i> Hincks, 1861 <i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919)	Nutting, 1915 Galea, 2007
<i>Campanularia tinctoria</i> Hincks, 1861 var. <i>eurycalyx</i>	Jäderholm, 1905, 1917; Ritchie, 1907; Blanco, 1964 Hartlaub, 1905	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas; Ilhas Malvinas Ilhas Malvinas	<i>Campanularia subantarctica</i> Millard, 1971 <i>Campanularia subantarctica</i> Millard, 1971 <i>Campanularia eurycalyx</i> Stechow, 1924 <i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919) ? <i>Campanularia lennoxensis</i> Jäderholm, 1903	Blanco, 1994 Blanco, 1994 Genzano & Zamponi, 1997 Galea, 2007 Galea <i>et al.</i> , 2009
<i>Eucopeia crenata</i> Hartlaub, 1901	Hartlaub, 1905	Argentina, Tierra del Fuego	<i>Orthopyxis lennoxensis</i> (Jäderholm, 1903) <i>Campanularia (Orthopyxis) everta</i> Clark, 1976 <i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919) <i>Campanularia lennoxensis</i> Jäderholm, 1903	Genzano & Zamponi, 1997 Vervoort, 1972 Galea, 2007 Galea <i>et al.</i> , 2009
<i>Orthopyxis billardi</i> Vannucci, 1954	Vannucci, 1954	São João da Barra, Rio de Janeiro, Brasil	? <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915) <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915)	Calder, 1991a Migotto, 1996; Migotto <i>et al.</i> , 2002; Miranda <i>et al.</i> , 2011
<i>Orthopyxis caliculata</i> (Hincks, 1853)	Blanco, 1964	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	<i>Campanularia integra</i> Macgillivray, 1842	Blanco, 1994; Genzano & Zamponi, 1997

Tabela 1. Continuação.

Registro	Autor do registro	Local do registro	Identificação posterior	Autor da identificação posterior
<i>Orthopyxis clytioides</i> (Lamouroux, 1824)	Vannucci-Mendes, 1946	Ilha de Santo Amaro e Itanhaém, São Paulo, Brasil	? <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915) <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915) ? <i>Orthopyxis integra</i> (Macgillivray, 1842)	Migotto, 1996 Migotto <i>et al.</i> , 2002 Miranda <i>et al.</i> , 2011
<i>Orthopyxis crenata</i> (Hartlaub, 1901)	Milstein, 1976 Vannucci, 1954	Islas de La Coronilla, Uruguai Ilha de Santo Amaro, São Paulo, Brasil	- <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915) <i>Orthopyxis crenata</i> (Hartlaub, 1901)	- Calder, 1991a; Migotto, 1996; Migotto <i>et al.</i> 2002; Miranda <i>et al.</i> , 2011 Vervoort & Watson, 2003
<i>Orthopyxis everta</i> (Clark, 1976)	Blanco, 1967	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	<i>Campanularia subantarctica</i> Millard, 1971 <i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919) <i>Orthopyxis mollis</i> (Stechow, 1919) <i>Nomen nudum</i>	Blanco, 1994; Genzano & Zamponi, 1997, 2003 Vervoort & Watson, 2003 Galea, 2007 T.P. Miranda & A.C. Marques, com. pess.
<i>Orthopyxis hartalubi</i> El Beshbeeshy, 1991	El Beshbeeshy, 1991	Argentina	-	-
<i>Orthopyxis integra</i> (Macgillivray, 1842)	Haddad & Chiaverini, 2000; Miranda <i>et al.</i> , 2011	Brasil, Paraná e Santa Catarina	-	-
<i>Orthopyxis lennoxensis</i> (Jäderholm, 1903)	Vannucci-Mendes, 1946; Vannucci, 1951	Ilha de Santo Amaro e Ilha de São Sebastião, São Paulo, Brasil	<i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915)	Calder, 1991a; Migotto, 1996; Migotto <i>et al.</i> 2002; Miranda <i>et al.</i> , 2011
<i>Orthopyxis minuta</i> Vannucci, 1949	Vannucci, 1949	Ilha do Francês, Rio de Janeiro, Brasil	<i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915) ? <i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915) ? <i>Orthopyxis integra</i> (Macgillivray, 1842)	Migotto <i>et al.</i> , 2002; Miranda <i>et al.</i> , 2011 Migotto, 1996 Miranda <i>et al.</i> , 2011
<i>Orthopyxis sargassicola</i> (Nutting, 1915)	Migotto, 1996; Grohmann <i>et al.</i> , 2003; Miranda <i>et al.</i> , 2011	Brasil, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina	-	-

Tabela 2. Códigos e localidades de coleta dos materiais utilizados nas análises moleculares. Números iguais indicam haplótipos iguais. \*A sequência não foi amplificada. \*\*Informação não disponível.

Código da Amostra	Identificação da espécie	Localidade	Coordenadas Geográficas	Haplótipos 16S	Haplótipos CO1	Haplótipos ITS1	Haplótipos ITS2
<i>Obelia dichotoma</i>	<i>Obelia dichotoma</i>	Estados Unidos (EUA) Gloucester State Pier, Massachusetts	42°36'N - 70°39'W	23	22	28	30
<i>Obelia longissima</i>	<i>Obelia longissima</i>	EUA, Gloucester State Pier, Massachusetts	42°36'N - 70°39'W	24	23	29	31
Fortaleza1CE	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, Ceará (CE), Fortaleza, Praia de Caponga	04°02.348'S - 38°11.572'W	22	*	27	29
Aracruz3ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Espírito Santo (ES), Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	20	9	18	11
Aracruz4ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	13	19	13	11
Aracruz5ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	13	9	13	18
Aracruz6ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	13	9	17	18
Aracruz15ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	13	20	13	11
Aracruz25ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	13	9	25	26
Aracruz36ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia Formosa	19°59.677'S - 40°08.890'W	13	9	26	26
Aracruz37ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia Formosa	19°59.677'S - 40°08.890'W	21	21	*	*
Aracruz40ES	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, ES, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	*	20	13	11
Búzios1RJ	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Rio de Janeiro (RJ), Búzios, João Gonçalves	22°48'S - 41°56'W	10	*	10	7
Búzios2RJ	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, RJ, Búzios, João Gonçalves	22°48'S - 41°56'W	10	*	8	7
Búzios3RJ	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, RJ, Búzios, João Gonçalves	22°48'S - 41°56'W	10	18	8	7
Búzios4RJ	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, RJ, Búzios, João Gonçalves	22°48'S - 41°56'W	19	*	8	7
Paraty1RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty	**	18	9	13	11
Paraty2RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty	**	13	16	13	11
Paraty3RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty	**	14	17	22	26
Paraty4RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty	**	13	16	13	11
Paraty5RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty	**	14	9	23	26
Paraty7RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty, Ilha dos Ratos	23°11.640'S - 44°36.408'W	13	16	24	27
Paraty8RJ	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, RJ, Paraty, Ilha dos Meros	23°11.264'S - 44°34.635'W	14	9	18	28

Tabela 2. Continuação.

Código da Amostra	Identificação da espécie	Localidade	Coordenadas Geográficas	Haplótipos 16S	Haplótipos CO1	Haplótipos ITS1	Haplótipos ITS2
SãoSebastiãoSP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, São Paulo (SP), São Sebastião, Praia Preta	23°45'S - 48°24'W	17	15	19	21
Ubatuba3SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	13	12	17	18
Ubatuba4SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	14	9	18	19
Ubatuba5SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	15	13	17	20
Ubatuba6SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	13	12	19	21
Ubatuba7SP	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	16	*	20	22
Ubatuba8SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	13	9	21	23
Ubatuba9SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	13	14	21	23
Ubatuba10SP	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	16	*	20	24
Ubatuba11SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	15	13	19	25
Ubatuba12SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	13	*	19	21
Ubatuba13SP	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SP, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	15	13	18	21
IlhaMel1PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná (PR), Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	11	11	15	9
IlhaMel2PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	11	11	16	13
IlhaMel3PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	11	11	15	9
IlhaMel4PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	11	11	15	14
IlhaMel5PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	11	11	15	15
IlhaMel6PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	16	16
IlhaMel7PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	16	16
IlhaMel8PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	15	9
IlhaMel9PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	16	17
IlhaMel10PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	16	16
IlhaMel11PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	16	16
IlhaMel12PR	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, PR, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	11	11	*	*
Penha2SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina (SC), Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	7	5	8	7
Penha3SC	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	8	6	9	8



Tabela 2. Continuação.

Código da Amostra	Identificação da espécie	Localidade	Coordenadas Geográficas	Haplótipos 16S	Haplótipos CO1	Haplótipos ITS1	Haplótipos ITS2
Penha4SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	9	5	8	7
Penha6SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	10	5	10	7
Penha9SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	10	5	10	7
Penha12SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	11	7	11	9
Penha13SC	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	8	6	12	10
Penha16SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Penha, Praia Grande	26°46'S - 48°35'W	9	5	8	7
Penha18SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Penha, Praia da Armação	26°47'S - 48°37'W	10	8	8	7
Bombinhas6SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Bombinhas, Praia de Bombas	27°07.874'S - 48°30.817'W	10	*	8	7
Bombinhas7SC	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, SC, Bombinhas, Praia da Conceição	27°62.021'S - 48°29.534'W	10	*	10	7
Florianópolis4SC	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SC, Florianópolis, Ilha do Campeche	27°41'27"S - 48°27'51"W	12	9	13	11
Florianópolis5SC	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, SC, Florianópolis, Ilha do Campeche	27°41'27"S - 48°27'51"W	13	10	13	11
Laguna1SC	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, SC, Laguna, Prainha	28°36.097'S - 48°49.227'W	*	6	14	12
SanJuliánSJ1ARG	Campanulariidae gênero1	Argentina (ARG), Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	1	*	1	1
SanJuliánSJ2ARG	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	2	1	2	2
SanJuliánSJ3ARG	Campanulariidae gênero1	ARG, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	1	*	1	1
SanJuliánSJ4ARG	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	3	2	3	3
SanJuliánSJ5ARG	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	4	3	4	3
SanJuliánSJ6ARG	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	2	4	5	4
CaletaOlivia1ARG	<i>Orthopyxis</i> sp1	ARG, Caleta Olivia	46°25.539'S - 67°31.183'W	5	*	6	5
<i>Silicularia rosea</i>	<i>Silicularia rosea</i>	ARG, Cabo Santo Domingo, Rio Grande	53°41.330'S - 67°50.673'W	6	*	7	6

Tabela 3. *Primers e condições de amplificação para cada marcador.*

Marcador	Primers (Foward/Reverse)	Referência	Sequência	Condições de amplificação	Fragmento amplificado (aprox.)
16S	C&B1 (F) C&B2 (R)	Cunningham & Buss, 1993 (F,R)	(F) 5'TCGACTGTTTACCAAAAACATAGC3' (R) 5'ACGGAATGAACTCAAATCATGTAAG3'	Desnaturação inicial: 94°C, 3min; 5 ciclos: 94°C, 30seg; 45°C, 50seg; 72°C, 1min; 30 ciclos: 95°C, 30seg; 50°C, 45seg; 72°C, 1min; Extensão final: 72°C, 5min	610 pb
	C&B1 (F) 2Hydrom (R)	Ale, E., dados não publ. (R)	(R) 2Hydrom: 5'CTGTTATCCCTAAGGTAGC3'		475 pb
COI	LCO1490 (F) HCO2198 (R)	Folmer et al., 1994 (F,R)	(F) 5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG3' (R) 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA3'	Desnaturação inicial: 94°C, 2min; 10 ciclos: 94°C, 30seg; 48°C, 1min; 72°C, 1min20seg; 25 ciclos: 94°C, 30seg; 50°C, 40seg; 72°C, 1min20seg; Extensão final: 72°C, 7min	660 pb
	LCO1490 (F) HCOcato (R)	Dawson, 2005 (R)	(R) 5' CCTCCAGCAGGATCAAAGAAAG 3'		630pb
ITS1, 5.8s e ITS2	CAS18sF1 (F) CAS28sB1d (R)	Ji et al., 2003 (F,R)	(F) 5'TACACACCGCCGTCGCTACTA3' (R) 5'TTCTTTTCCTCCSCTTAYTRATATGCTTAA3'	Desnaturação inicial: 94°C, 3min; 35 ciclos: 95°C, 30seg; 50°C, 45seg; 72°C, 1min; Extensão final: 72°C, 7min	765 pb
	F5' (F) CAS28sB1d (R)	Schroth <i>et al.</i> , 2002 (F)	(F) 5'TAACAAGGTTTCCGTAGG3'		630 pb
	ITS1A (F) CAS18sB1d (R)	Matejusová <i>et al.</i> , 2001 (F)	(F) 5'GTAACAAGGTTTCCGTAGGTG3'		630 pb
	jfITS1-5F (F) ITS-R-28S-15 (R)	Dawson & Jacobs, 2001 (F) Maronna, M., dados não publ. (R)	(F) 5'GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC3' (R) 5'ACTCGCCGTTACTAGGGGAATCCTTGTTAG3'	Desnaturação inicial: 94°C, 2min; 35 ciclos: 94°C, 30seg; 55°C, 45seg; 72°C, 1min; Extensão final: 72°C, 7min	680 pb

Tabela 4. Informações sobre as análises filogenéticas realizadas. (P) Parcimônia, (MV) Máxima Verossimilhança.

	Total	Mitocondriais	Nucleares	16S	COI	ITS1	ITS2
Nº de caracteres	1553	1048	509	473	575	263	242
Nº de sítios informativos (P)	665	254	390	107	153	214	163
Nº de árvores mais parcimoniosas (P)	74	42	4115	3	11	5	2130
Menor Comprimento (P)	1276	491	1056	254	304	623	365
Modelo de evolução nucleotídica (MV)	GTR+G	GTR+G	GTR+G	GTR+I	GTR+G	GTR+G	SYM+G
-lnL (MV)	6571.3936	3621.5483	3515.6445	1881.0848	2105.0957	1962.6157	1411.8203

Tabela 5. Distâncias p (% , não corrigidas) mínimas e máximas das matrizes de dados mitocondriais (canto inferior esquerdo) e nucleares (canto superior direito). Valores na diagonal indicam distâncias médias entre indivíduos de um mesmo clado (marcadores mitocondriais/marcadores nucleares).

Clados	1	2	3	4	5	6	SanJulián1ARG G	CaletaOlivia1ARG
1	0.35/0.51	17.51- 44.05	19.05- 43.19	13.69- 45.42	18.39- 44.10	9.66- 41.07	22.02-40.72	12.30-36.72
2	8.68- 12.87	0.30/0.00	18.62- 27.86	9.84- 29.57	14.74- 25.30	13.22- 31.76	15.81-28.67	15.38-23.61
3	9.33- 16.17	7.81- 15.65	0.17/1.28	17.87- 28.60	24.10- 24.73	14.90- 35.54	19.98-33.19	17.70-29.36
4	7.38- 9.74	6.72- 11.65	8.24- 14.78	0.69/0.51	12.80- 26.38	11.19- 38.43	16.26-38.79	13.13-33.48
5	7.38- 9.74	6.72- 10.09	7.81- 14.78	2.60-7.83	0.10/0.00	13.06- 40.55	19.25-33.31	14.66-27.52
6	9.33- 13.39	8.68- 13.74	9.33- 15.48	7.81- 10.96	7.81- 10.61	4.43/3.31	17.13-34.58	2.52-32.52
SanJulián1ARG	7.38- 8.03	7.16-7.38	8.24	4.77	4.77	7.38-8.03	0.00	17.57-30.13
CaletaOlivia1ARG	5.86- 6.51	6.07-6.29	8.24	4.56	5.21	7.38-8.46	3.69	0.00

Tabela 6. Diversidade genética das populações de *Orthopyxis* e *Campanularia* e clados obtidos pelas análises filogenéticas, a partir dos marcadores mitocondriais e nucleares concatenados. OS= *Orthopyxis sargassicola*, OI= *Orthopyxis integra*. Códigos das localidades estão de acordo com a Tabela 1. Número de haplótipos exclusivos em colchetes.

Região Geográfica	N		Número de Haplótipos		Diversidade Haplotípica (Hd)		Diversidade Nucleotídica ( $\pi$ ) (%)	
	16S+COI	ITS1+ITS2	16S+COI	ITS1+ITS2	16S+COI	ITS1+ITS2	16S+COI	ITS1+ITS2
ES (OS)	8	8	5 [4]	5 [2]	0.7857	0.7857	0.12%	0.49%
RJ (OS)	7	4	4 [3]	2 [1]	0.8095	0.5000	0.19%	0.84%
SP (OS)	9	9	6 [4]	4 [2]	0.8889	0.7778	0.28%	0.73%
SC (OS)	2	2	2 [2]	1 [0]	1.0000	0.0000	0.19%	0.00%
RJ (OI)	*	3	*	1 [0]	*	0.0000	*	0.00%
PR (OI)	12	7	1 [1]	4 [4]	0.0000	0.8095	0.00%	1.27%
SC (OI)	7	6	5 [5]	2 [1]	0.9048	0.3333	3.51%	6.69%
Clado 1	26	23	15	8	0.9385	0.8142	0.22%	0.70%
Clado 2	7	8	5	1	0.9048	0.0000	0.21%	0.00%
Clado 3	13	8	2	5	0.1539	0.8571	0.02%	1.20%
Clado 4	2	2	2	2	1.0000	1.0000	5.49%	0.56%
Clado 5	2	3	2	1	1.0000	0.0000	0.19%	0.00%
Clado 6	2	5	1	5	0.0000	1.0000	0.00%	4.08%
Total**	52	49	27	22	0.9329	0.9434	7.98%	19.58%

\* A sequência do marcador COI foi amplificada para apenas um indivíduo dessa população.

\*\* Se refere a todas as sequências, incluindo-se as espécies *O. crenata* e *C. subantarctica*.

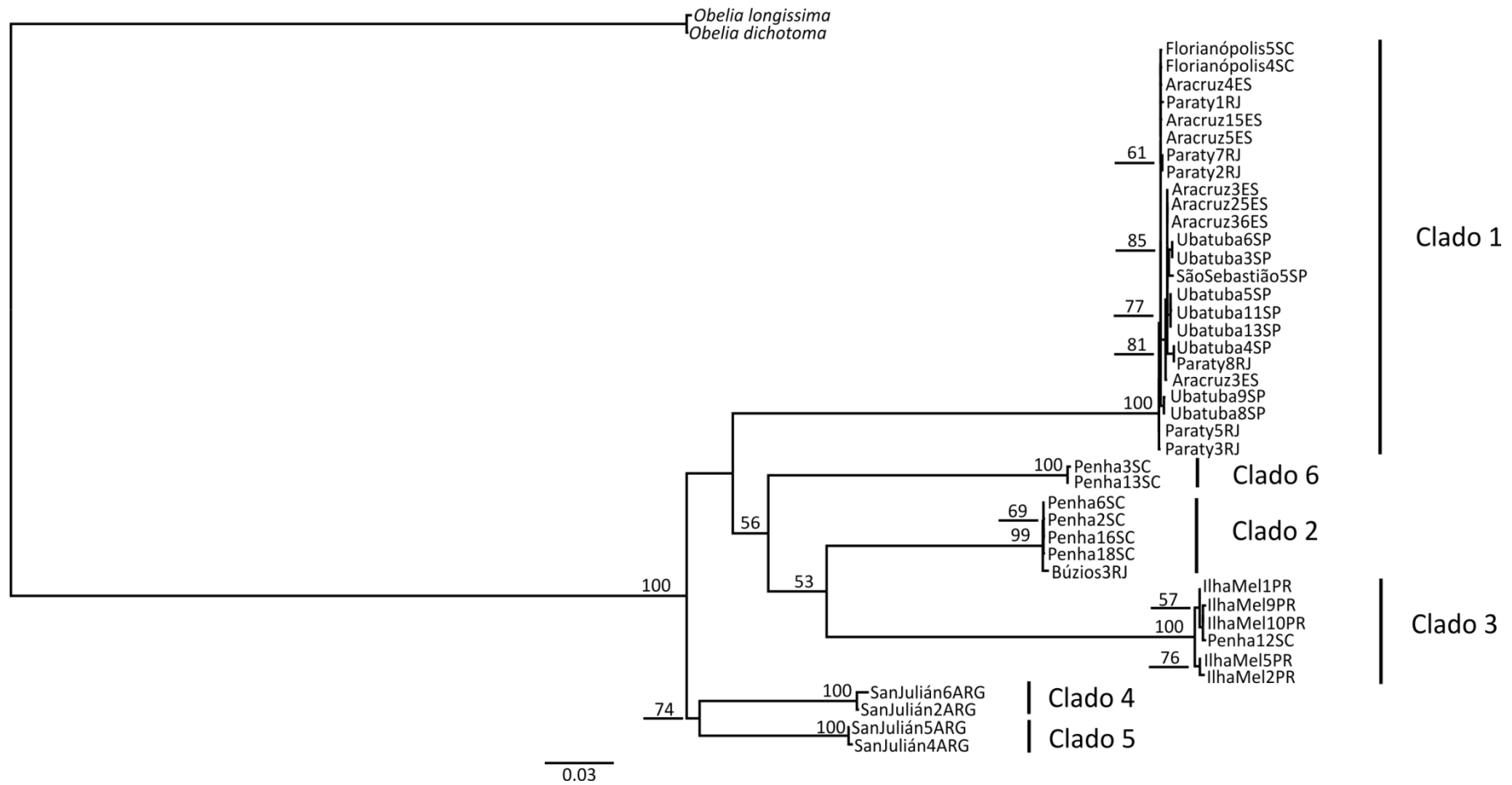


Figura 1. Hipótese resultante de análise de Máxima Verossimilhança, a partir da matriz de dados concatenados (evidência total). Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.

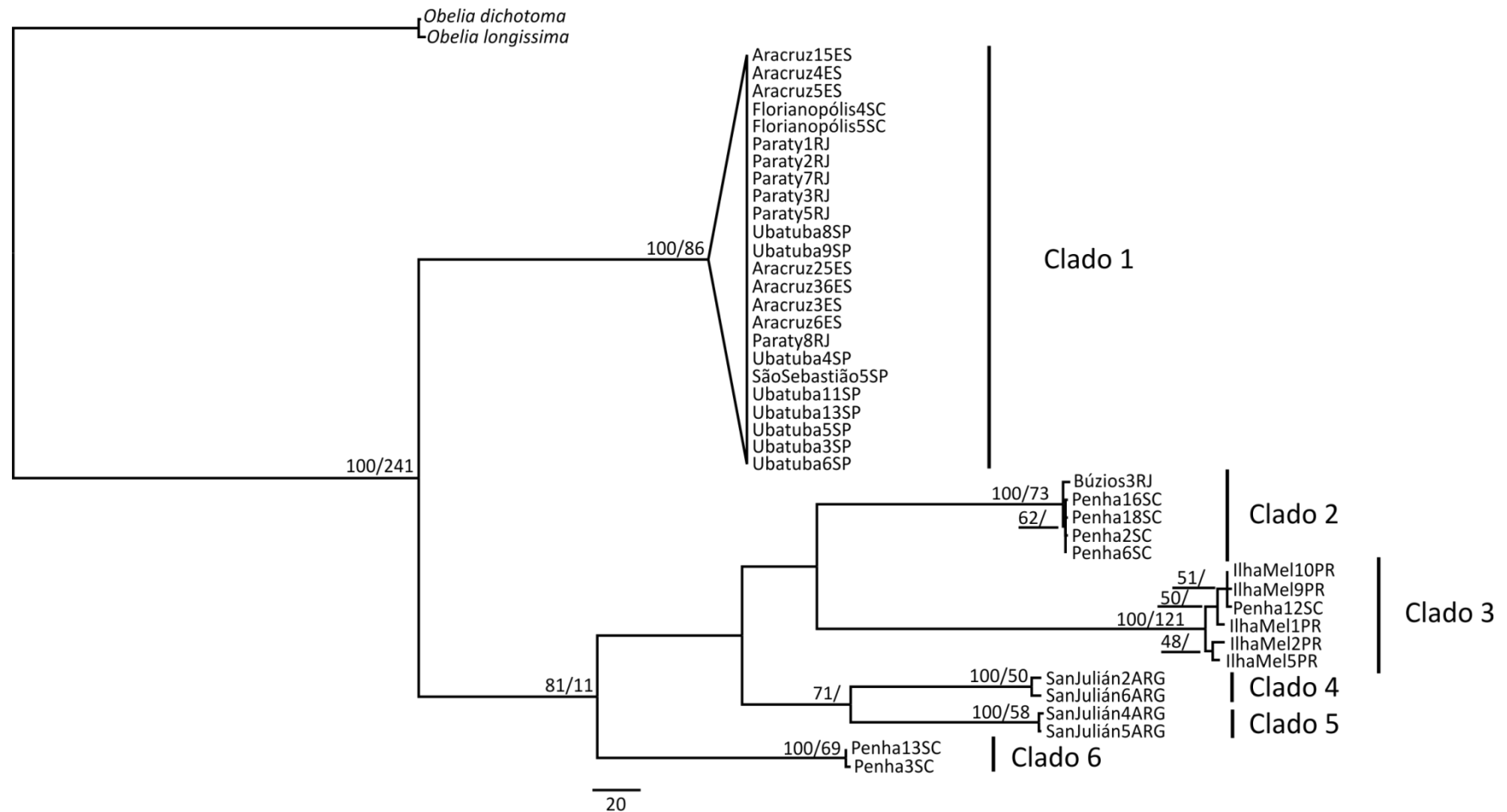


Figura 2. Hipótese de consenso estrito obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de dados concatenados (evidência total). Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.

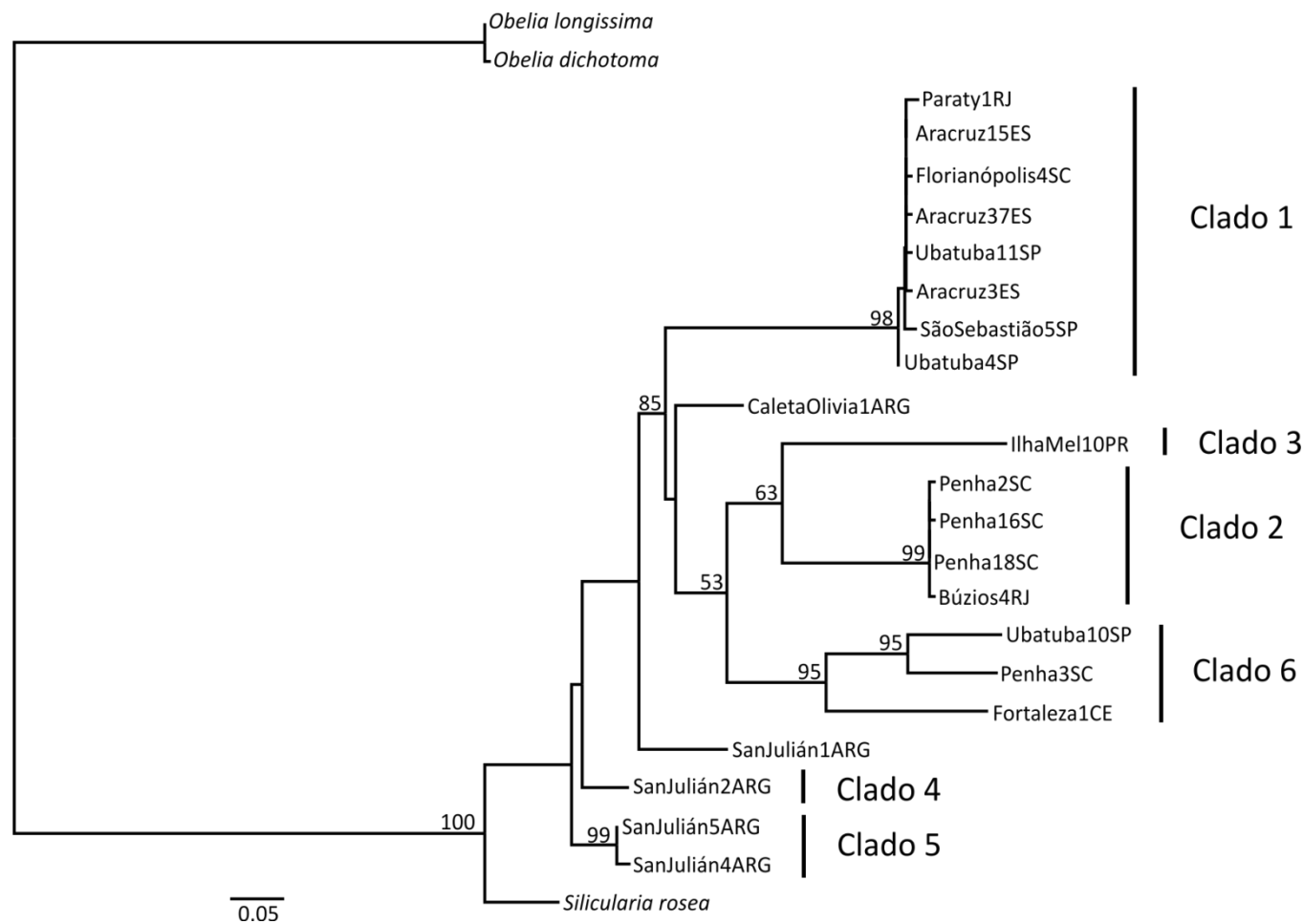


Figura 3. Hipótese resultante de análise de Máxima Verossimilhança, a partir da matriz de dados de 16S. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.

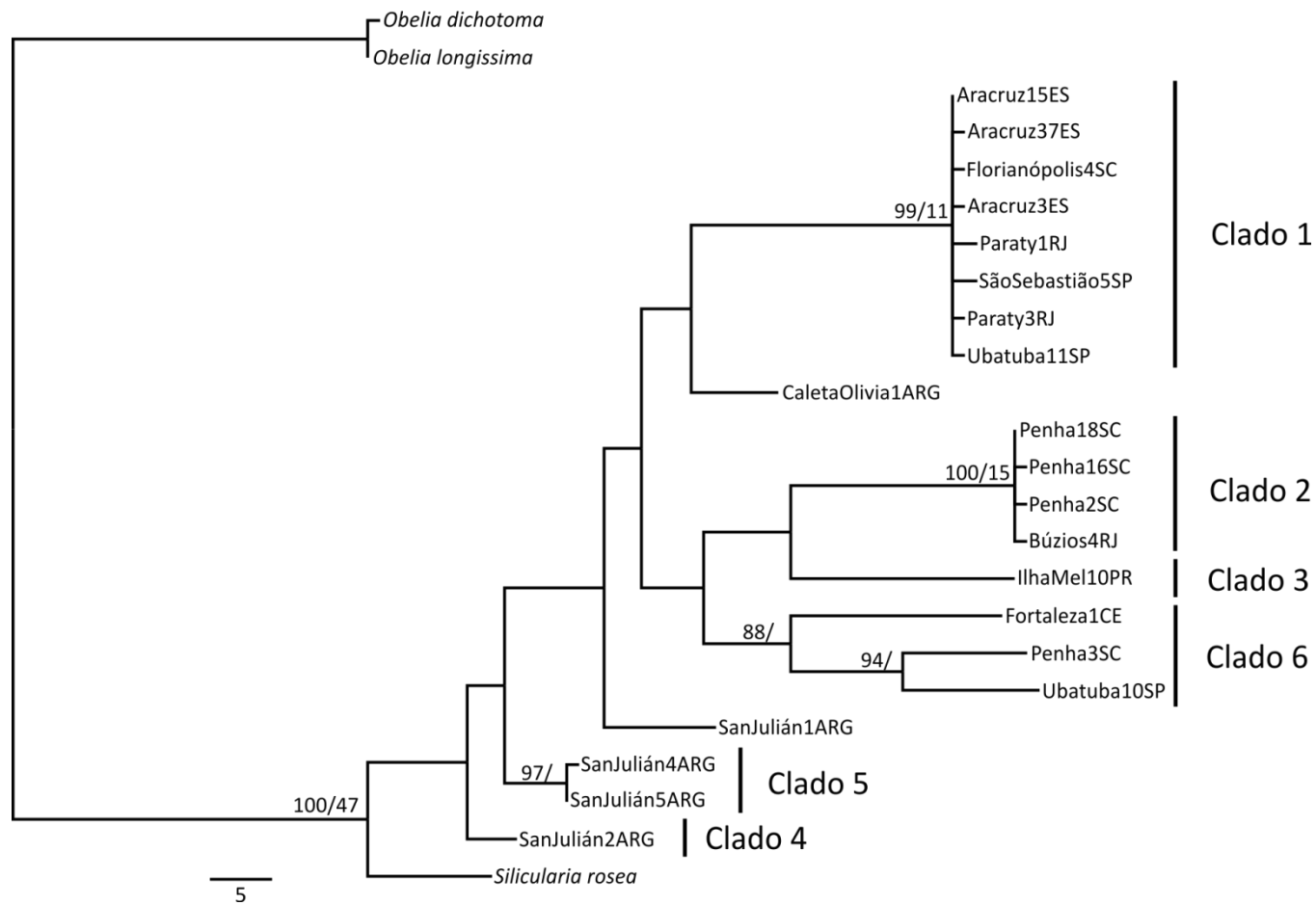


Figura 4. Uma das árvores mais parcimoniosas (com topologia igual à do consenso estrito) obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de dados de 16S. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



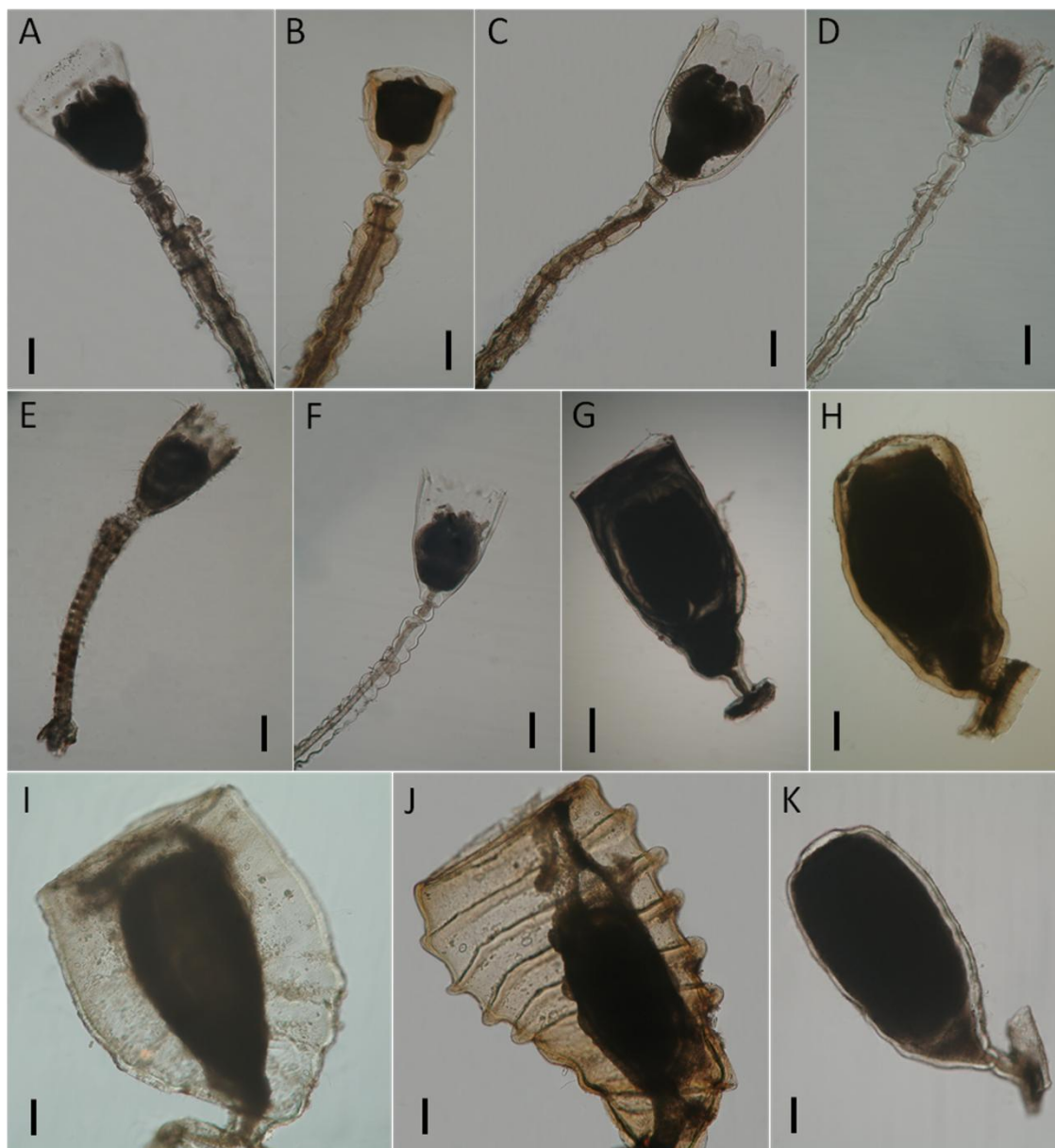


Figura 5. Morfologia de alguns espécimes utilizados neste estudo. A, B - *Orthopyxis integra*, pólipo; C - *Orthopyxis sargassicola*, pólipo; D - *Orthopyxis crenata*, pólipo; E, F - *Campanularia subantarctica*, pólipo; G, H - Gonotecas de *O. integra*; I - Gonoteca de *O. crenata*; J - Gonoteca de *O. sargassicola*; K - Gonoteca de *C. subantarctica*. Escalas: A-F, I-K=100µm; G, H=200µm.

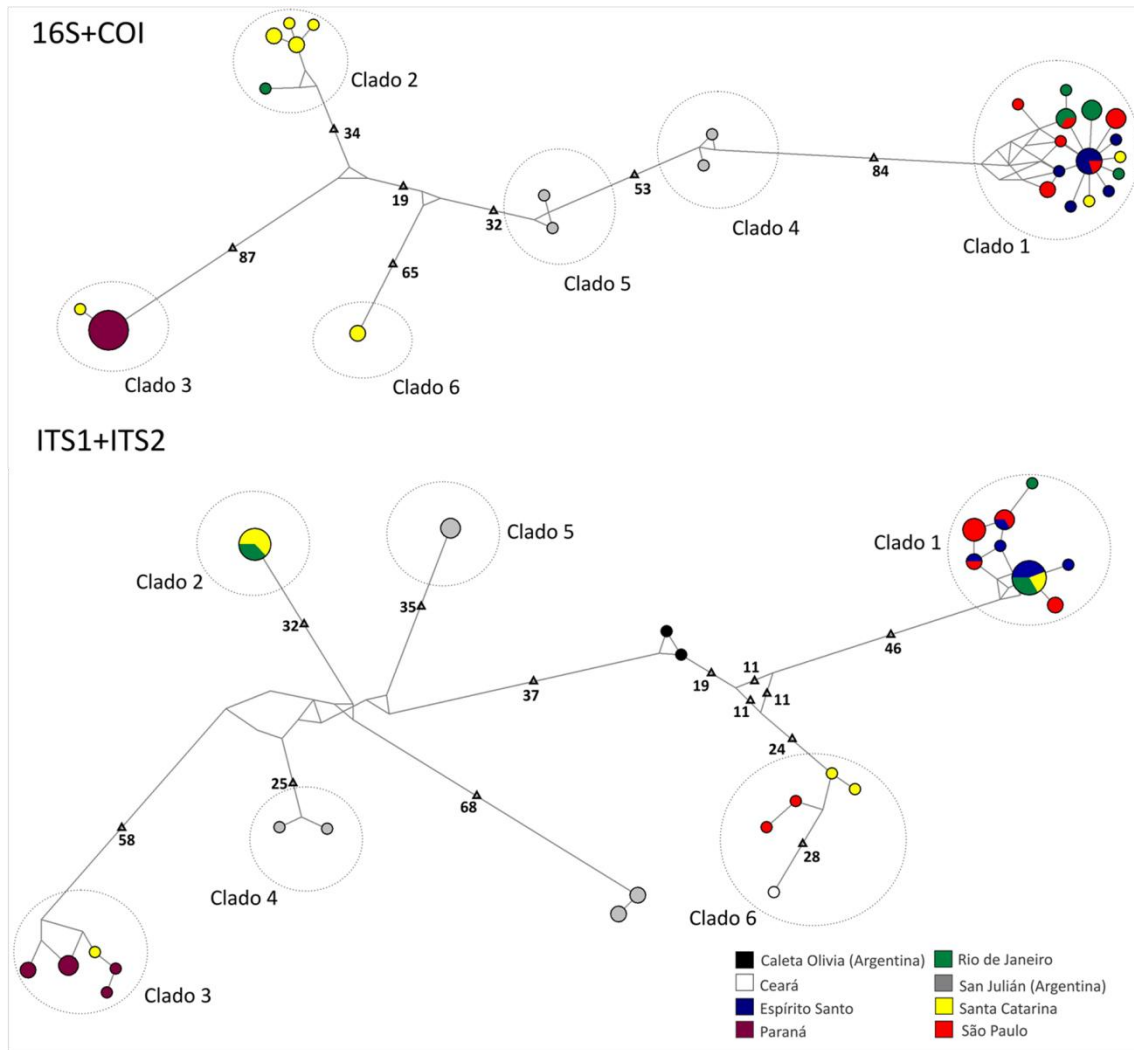


Figura 6. Redes de haplótipos dos marcadores mitocondriais concatenados (16S+COI) e nucleares concatenados (ITS1+ITS2). Triângulos indicam número de mutações. Ramos sem triângulos possuem de 1 a 3 mutações. Círculos pontilhados indicam os indivíduos pertencentes aos clados obtidos pelas análises filogenéticas.

## CAPÍTULO 2

### VARIABILIDADE E RELEVÂNCIA DOS CARACTERES MORFOLÓGICOS NA DELIMITAÇÃO INTERESPECÍFICA DE LINHAGENS RELACIONADAS A *ORTHOPYXIS* NO ATLÂNTICO SUL-OCIDENTAL

#### ABSTRACT

The well known morphological variation in *Orthopyxis* has negative implications in the taxonomy of this genus, because the characters used in species delimitation frequently overlap. We carried out morphometric analyses (using Principal Component Analysis – PCA and Analysis of Variance – ANOVA) in order to investigate the variability of morphological characters, including the cnidae, as well as their relevance for the delimitation of species boundaries in *Orthopyxis* and related lineages, such as *Campanularia*. The patterns of morphological variation were similar among all levels (intracolony, intraspecific, interspecific and between genera), and the majority of the morphological characters were variable. Among the characters analyzed, the absence of cusps has proved to be adequate to characterize *O. integra*, although *O. sargassicola* and *O. crenata* can only be determined by the characters of the gonotheca, since the height of the cusps is variable and frequently overlap between these species. The shape of the hydrotheca can be used for species delimitation in *Orthopyxis*, but its variability has to be cautiously evaluated. Despite the overlap of morphological characters of *Campanularia* and *Orthopyxis*, the species of *Campanularia* presented, in general, a thinner perisarc and greater values of length and diameter of various parts of the polyp. Nematocysts length was also shown to be an important character for genera delimitation. We conclude that morphological variability, when properly investigated, may reveal informative characters for the delimitation of species and genera, and must be incorporated into the taxonomic studies of hydroid groups with variable morphology.

#### RESUMO

A variabilidade morfológica em *Orthopyxis* é conhecida há tempos, e tem implicações negativas na taxonomia do gênero, já que leva à sobreposição de seus caracteres diagnósticos e dificulta a delimitação interespecífica. Nesse sentido, realizamos análises morfométricas (utilizando a Análise de Componentes Principais - PCA e Análise de Variância – ANOVA) com o objetivo de avaliar a variabilidade de

caracteres da morfologia e do cnidoma e sua relevância na determinação interespecífica em *Orthopyxis* e linhagens próximas, representadas por espécies de *Campanularia*. Os padrões de variação morfológica foram similares entre os níveis estudados (intracolônia, intraespecífico, interespecífico e entre gêneros), sendo que a maioria dos caracteres morfológicos são amplamente variáveis. Dentre os caracteres analisados, a ausência de cúspides é adequada para caracterizar corretamente *O. integra*, porém as espécies *O. crenata* e *O. sargassicola* só podem ser determinadas pelos caracteres da gonoteca, já que a altura de suas cúspides se mostrou bastante variável, sobrepondo-se entre elas. O formato da hidroteca pode ser utilizado para a determinação interespecífica em *Orthopyxis*, porém sua variabilidade deve ser avaliada com cuidado. Apesar da morfologia das espécies de *Campanularia* se sobrepor às de *Orthopyxis*, elas apresentaram, em geral, perissarco menos espesso, e maiores valores de comprimento e diâmetro de várias partes do pólip. O comprimento dos nematocistos também se mostrou um caráter importante para a delimitação dos gêneros. Concluímos que a variabilidade morfológica, quando investigada apropriadamente, pode apontar caracteres informativos para a diagnose de espécies e gêneros, e deve ser considerada na taxonomia de grupos de hidroides com morfologia variável.

## INTRODUÇÃO

A plasticidade fenotípica de um organismo é a expressão de diferentes fenótipos sob fatores abióticos ou bióticos distintos (Agrawal, 2001; Pigliucci, 2005). Ela é frequente em organismos coloniais marinhos (e.g., Bruno & Edmunds, 1998; Okamura & Partridge, 1999; Van Winkle *et al.*, 2000; Bell & Barnes, 2000; Rossi *et al.*, 2000; Forsman *et al.*, 2009), sendo que a plasticidade de tamanho e forma da colônia deve estar relacionada evolutivamente à ocupação de ambientes heterogêneos (Hughes, 1989; Marfenin, 1997; Gili & Hughes, 1995). A ocorrência de variação morfológica intraespecífica nos Hydrozoa é bem documentada (e.g., Blackstone & Yund, 1989; Silveira & Migotto, 1991; Oliveira *et al.* 2000; Shimabukuro & Marques, 2006), estando relacionada à disponibilidade de alimento (Burmam & Buss, 2008), hidrodinamismo (Silveira & Migotto, 1991; Oliveira *et al.* 2000; Kaandorp, 1999; Griffith & Newberry 2008), latitude e temperatura da água (Naumov, 1969; Ralph, 1956), substrato de ocorrência das espécies (Hughes, 1986; Andrade & Migotto, 1999; Kubota, 2000) e interações interespecíficas (Yund, 1991; Van Winkle *et al.*, 2000).

Dentre os Hydrozoa, a família Campanulariidae Johnston, 1836 é conhecida pela variabilidade morfológica dos seus representantes (Ralph, 1957; Millard, 1975; Cornelius, 1982), gerando dúvidas na definição de algumas espécies (e.g., *Obelia longissima* (Pallas, 1766) e *Obelia dichotoma* (Linnaeus, 1758); ver Cornelius, 1975, 1990). A plasticidade dos seus ciclos de vida também dificulta a taxonomia da família (Cornelius, 1982; Boero *et al.*, 1996; Govindarajan *et al.*, 2006). A variabilidade morfológica de alguns campanulariídeos foi correlacionada a gradientes de latitude e temperatura da água (Ralph, 1956, 1957) e à disponibilidade de alimento (Crowell, 1957), mas de fato pouco se sabe sobre os fatores determinantes desta variabilidade.

Espécies de *Orthopyxis* também apresentam morfologia variável dentre os Campanulariidae. Essa percepção iniciou-se com a descrição de variações no tamanho e espessura das paredes e na forma das cúspides da hidroteca de duas espécies (Broch, 1909, para “*Campanularia (Orthopyxis)*”), e já contou inclusive com hipóteses de respostas ambientais na relação da diminuição do tamanho da hidroteca com o aumento da temperatura para *Orthopyxis integra* (Naumov, 1969). De fato, características frequentemente consideradas variáveis são a presença de sinuosidades no pedículo e a espessura do perissarco (Millard, 1975; Calder, 1991; Cornelius, 1995; Miranda *et al.*, 2011), assim como variações no formato da gonoteca e na altura das cúspides hidrotecais (Cornelius, 1995; Migotto, 1996; Galea *et al.*, 2009; Miranda *et al.*, 2011). Dentre as espécies do gênero com variação morfológica geralmente comentada nas descrições estão *Orthopyxis integra* (Macgillivray, 1842) (e.g., Cornelius, 1982, 1995; Millard, 1975), *Orthopyxis crenata* (Hartlaub, 1901) (e.g., Millard, 1975; Galea *et al.*, 2009) e *Orthopyxis sargassicola* (Nutting, 1915) (e.g., Migotto, 1996; Miranda *et al.*, 2011). A variabilidade morfológica apresentada para estas espécies leva à sobreposição de seus caracteres diagnósticos e dificulta a definição dos caracteres relevantes para sua delimitação interespecífica.

A falta de consenso em relação aos caracteres morfológicos utilizados na definição de gêneros e espécies é comum entre os Hydrozoa, demandando revisões taxonômicas que buscam esclarecer a taxonomia destes grupos (e.g., Peña-Cantero *et al.*, 1998; Marques *et al.*, 2005; Peña-Cantero *et al.*, 2007 para Lafoeidae A. Agassiz, 1865 e Miglietta *et al.*, 2009 para Hydractiniidae L. Agassiz, 1862). Evidentemente, identificações incorretas têm impactos negativos em estudos ecológicos e biogeográficos (cf. Lozier *et al.*, 2009). Porém, há a questão subjacente se a morfologia

de determinado clado, como por exemplo *Orthopyxis*, exprime ou contém caracteres adequados na definição de linhagens específicas, ou se estes caracteres estão mascarados ou inexistentes devido à plasticidade morfológica. Muitas vezes estes caracteres não são discretos, e dependem de uma abordagem morfométrica para caracterizá-los. A morfometria tem sido usada para a definição de limites interespecíficos em diversos grupos de cnidários (e.g., Morandini & Marques, 2010; Chen *et al.*, 2011; Collins *et al.*, 2011), assim como para hidroides (Oliveira *et al.*, 2000; Shimabukuro & Marques, 2006). Além disso, o estudo do cnidoma também contribui para delimitação de espécies de Campanulariidae (e.g., Östman, 1982, 1999; Lindner & Migotto, 2001).

Este estudo tem o objetivo de avaliar a variabilidade e nível de informação de caracteres da morfologia e do cnidoma na delimitação interespecífica e estruturação intraespecífica de *Orthopyxis* do Atlântico sul-ocidental, bem como de linhagens próximas, como espécies do gênero *Campanularia*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material estudado foram espécimes de *Orthopyxis* e *Campanularia* coletados para esse estudo e outros depositados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brasil, e no Museo de La Plata, Argentina (Tabela 1). Os materiais foram coletados manualmente durante a maré baixa, ou por meio de mergulho livre e mergulho autônomo, sobre substratos diversos, como algas, bivalves (mexilhões) e cirripédios (cracas) (Tabela 1). Os materiais foram anestesiados em solução de 1:1 de água do mar e MgCl<sub>2</sub> a 7,5% e fixados em álcool 70-100% ou formalina a 10%.

O estudo morfológico incluiu dados morfométricos do pólipo, gonoteca e cnidoma tomados em microscópio Zeiss Axioskop, com auxílio de ocular micrométrica. Os parâmetros medidos foram determinados considerando-se a compressão lateral típica das espécies do gênero (e.g., Calder, 1991), com medidas nas vistas do perissarco com espessamento máximo e mínimo (Figura 1, Tabela 2). Dados morfométricos do hidrante (comprimento dos tentáculos, altura e largura do corpo do hidrante) não foram considerados pela possibilidade de refletirem um valor subestimado devido à retração dos pólipos quando fixados. Embora a avaliação do número de tentáculos fosse possível mesmo em hidrantes retraídos, os pólipos encontravam-se frequentemente sem o hidrante, razão pela qual esta variável também foi desconsiderada nas análises, mas o número de tentáculos foi considerado para comparações entre as espécies e com dados

da literatura. Muitas colônias estudadas não apresentavam gonotecas, e por isso as análises morfométricas foram realizadas separadamente para as medidas dos pólipos e para as medidas da gonoteca. O estudo morfométrico foi complementado por observações morfológicas por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura. Para tanto, os pólipos foram desidratados gradualmente em série de etanol, secos ao ponto crítico e metalizados com ouro.

O estudo do cnidoma foi realizado com esmagamentos dos hidrantes entre lâmina e lamínula, seguido da observação das preparações ao microscópico para tomar medidas de comprimento e diâmetro das cápsulas não explodidas. Os tipos dos nematocistos foram identificados de acordo com a terminologia de Mariscal (1974) e Östman (1979a).

Os dados foram analisados nos níveis intraespecífico, interespecífico e entre gêneros. Em todos os casos, a Análise de Componentes Principais (PCA, da sigla em inglês) foi utilizada para comparações dos padrões morfométricos, utilizando-se os programas Systat 8.0 e Xsltat 2011 (Addinsoft) a partir da matriz de correlação das variáveis morfométricas, e o *biplot* de correlação foi gerado para inferências sobre a influência das variáveis morfométricas nos padrões observados (Jolliffe, 2002). Diferenças na razão comprimento/diâmetro e nas medidas de comprimento das cápsulas não explodidas de nematocistos das espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia* foram avaliadas por meio do teste de Kruskal-Wallis no programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007), seguido pelo teste de Dunn, no caso de resultados significativos.

#### *Avaliação intraespecífica*

O estudo da variabilidade morfológica intraespecífica para cada espécie de *Orthopyxis* foi realizado por meio de comparações intracoloniais e intra- e interpopulacionais. Para comparações intracoloniais, três pólipos de uma mesma colônia de *O. sargassicola* (de Bombinhas, SC), *O. integra* e *O. crenata* (ambas de Penha, SC) foram avaliados. Para comparações intra- e interpopulacionais, um pólipo de colônias provenientes de localidades diferentes foi avaliado para cada espécie, a saber: *O. sargassicola*, com duas colônias de Santa Catarina (Florianópolis), 12 de São Paulo (Ubatuba), sete do Rio de Janeiro (Paraty) e 12 do Espírito Santo (Aracruz); *O. integra* com nove de Santa Catarina (Penha e Bombinhas), 12 do Paraná (Ilha do Mel) e quatro do Rio de Janeiro (Búzios); *O. crenata* com três de Santa Catarina (Penha, em que

foram medidos mais de um pólipos por colônia, e Laguna), duas de São Paulo (Ubatuba) e uma do Ceará (Fortaleza). Não foram realizadas análises com as medidas das gonotecas devido ao número reduzido de colônias férteis.

#### *Avaliação interespecífica*

O estudo da variabilidade morfológica interespecífica para as três espécies foi realizado com comparações das mesmas medidas feitas para os pólipos do estudo intraespecífico, com a adição de mais cinco colônias do Paraná (Ilha do Mel) da espécie *O. integra*. Desta forma, a análise baseou-se nos dados de 112 colônias para *O. integra*, 33 para *O. sargassicola* e 7 para *O. crenata*. As comparações com as medidas da gonoteca foram baseadas em uma gonoteca por colônia, em um total de 42 colônias para *O. sargassicola*, 90 para *O. integra* e sete para *O. crenata*, provenientes das mesmas localidades descritas para os pólipos de cada espécie.

#### *Comparações entre gêneros*

Um estudo comparado foi realizado para as variáveis morfométricas das espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia*. Para *Orthopyxis* utilizamos as mesmas três espécies já apresentadas e mais 31 pólipos determinados como *O. caliculata* da coleção do Museo de La Plata (MLP47 a 55). Para *Campanularia*, utilizamos *C. subantarctica* (quatro colônias de San Julián, Argentina) e *C. agas* (uma colônia de Mar Del Plata, Argentina; MZUSP5344). Ainda para *Campanularia*, utilizamos também materiais da coleção do Museo de La Plata (Tabela 1), sendo que a maioria destes são preparações permanentes em lâminas microscópicas, poucos com gonotecas – por esse motivo, somente medidas do pólipos foram analisadas, e não foram incluídos vários parâmetros (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 29, 33, 35, 37, 45, 47, 49, veja Tabela 2) pela impossibilidade de medir estes em lâminas permanentes. Ademais, embora muitas das espécies de *Campanularia* da coleção do Museo de La Plata tenham sido descritas e determinadas por Olga Blanco (Blanco, 1964, 1967, 1976, 1984) e posteriormente reidentificadas por ela e outros autores (Blanco, 1994; Genzano, 1990; Vervoort & Watson, 2003; Galea 2007; Galea *et al.* 2009), há dúvidas não esclarecidas sobre essas identificações, especialmente devido à falta de gonoteca na maioria dos materiais. Mantivemos os nomes originais de Blanco em nossa análise, preservando a informação dos padrões morfológicos e suas respectivas identificações.



## RESULTADOS

### *Variação morfológica intraespecífica*

As colônias de *Orthopyxis* apresentaram ampla variação intracolonial (Figura 2), principalmente nos comprimentos do pólipos (1), pedículo (31) e gonoteca (53), além da espessura do perissarco (Figura 2, B, D e F). O comprimento e diâmetro dos pólipos geralmente tiveram uma relação inversamente proporcional com as espessuras do perissarco, o que é evidente em *O. integra* e *O. crenata* (Figura 2, C-F), mas menos claro em *O. sargassicola* (Figura 2, A e B).

Há também ampla variação entre as populações das espécies de *Orthopyxis*. Para *O. sargassicola* (Tabela 3), os parâmetros mais variáveis (estimados pela amplitude dos dados) foram os comprimentos do pedículo, da hidroteca e da gonoteca, os diâmetros na borda e na base da hidroteca, as sinuosidades do pedículo e número de tentáculos, além da espessura do perissarco (Figura 3). Os três primeiros componentes da PCA com as variáveis morfométricas de *O. sargassicola* explicam 53% da variação dos dados, sendo 29,57% explicado pelo primeiro componente (Figura 4). Esse componente é responsável pela separação de algumas colônias do RJ e SC que apresentaram hidrotecas mais compridas, perissarco menos espesso, e menores valores de medidas de diâmetro em geral (Figura 3, Tabela 3). Há, ainda, alta correlação entre os vetores das variáveis de comprimento da hidroteca e altura mínima e máxima das cúspides, ou seja, uma relação esperada de que hidrotecas mais compridas tendam a apresentar cúspides mais altas. Os segundo e terceiro componentes principais parecem não ser responsáveis por nenhuma separação evidente entre os espécimes observados.

Para *O. integra* ficou clara a relação inversamente proporcional entre as medidas de comprimento e diâmetro e espessura do perissarco, principalmente quando essas medidas são comparadas entre as populações do RJ e SC e a população do PR (Tabela 4, Figura 5). A variação dos parâmetros avaliados para essa espécie concorda com aquela descrita para *O. sargassicola*. Os exemplares identificados como *Orthopyxis caliculata* e *C. integra* depositados no Museu de La Plata demonstraram valores médios e amplitude dos parâmetros avaliados muito semelhantes aos espécimes de *O. integra* do Brasil (Tabela 4, Figura 5). Entretanto, um dos exemplares de *Campanularia integra* (MLP 41, Figura 5N) apresenta o perissarco menos espesso (medidas do perissarco medial do pedículo e hidroteca são 6,87 $\mu$ m e 6,57 $\mu$ m, respectivamente) e comprimento da hidroteca maior (454,29 $\mu$ m) que os demais.

A PCA com as variáveis morfométricas de *O. integra* apresentou os três primeiros componentes principais como responsáveis por 71,13% da variação dos dados, sendo 36,65% explicado pelo primeiro componente (Figura 6). O primeiro componente principal determinou dois grupos, um com os espécimes de SC e RJ (com perissarco mais espesso e pedículo mais sinuoso), e outro com os espécimes do PR somados a um único espécime de SC, com maiores comprimento e diâmetro da hidroteca. Esses dois grupos também se diferenciam pelo substrato de ocorrência das colônias (SC e RJ são epifíticas, PR são epizoicas). O segundo e terceiros componentes contrastam algumas variáveis morfométricas (e.g., diâmetro da hidrorriza, número de constrições do perissarco do pedículo, e outras medidas de comprimento e diâmetro), mas não é clara a relação dessas variáveis com as amostras.

Para *O. crenata*, o comprimento do pólipó e do pedículo, número de sinuosidades do pedículo, altura das cúspides, número de tentáculos e comprimento da gonoteca apresentaram grande variabilidade (Tabela 5, Figura 7). Os três primeiros componentes principais da PCA com as variáveis morfométricas de *O. crenata* explicam 51,94% da variação dos dados (Figura 8). Em geral, os componentes contrastam algumas medidas de espessura e comprimento da hidroteca, porém isso não implica em nenhum agrupamento evidente.

#### *Variação morfológica interespecífica*

Os mesmos padrões de variação morfológica intraespecífica são verificados quando as espécies de *Orthopyxis* são comparadas entre si (Figura 9). Os comprimentos do pólipó (1), do pedículo (31), da hidroteca (43) e gonoteca (43) são os parâmetros mais variáveis, e novamente com relação inversamente proporcional entre medidas de comprimento e diâmetro e as medidas de espessura do perissarco.

A PCA com as variáveis morfométricas do pólipó e gonoteca apresentam os três primeiros componentes principais como responsáveis, respectivamente, por 61,06% e 46,83% da variação dos dados, a maior parte da variação representada pelo primeiro componente (31,81 e 21,98%, respectivamente; Figura 10). Esse componente determina o agrupamento da maioria das colônias de *O. integra* pelo número de cúspides (ausentes nessa espécie) e das colônias de *O. sargassicola* + *O. crenata* pelos maiores valores de comprimento da hidroteca (principalmente *O. sargassicola*) e número de sinuosidades do pedículo. Em relação às gonotecas, o primeiro componente contrasta aquelas que

apresentam maior comprimento e diâmetro com gonotecas que apresentam perissarco mais espesso, determinando um grupo correspondente aos espécimes do RJ e SC da espécie *O. integra*. O segundo componente principal do pólipo contrasta as medidas de espessura do perissarco e as medidas de comprimento e diâmetro, sendo responsável pela separação dos mesmos grupos de *O. integra* observados anteriormente. Os demais componentes do pólipo e gonoteca não são responsáveis pela separação de nenhum grupo referente às espécies (*biplots* não mostrados).

#### *Variação intergenérica: comparações com Campanularia*

O padrão geral de variabilidade dos parâmetros morfométricos é mantido também no nível genérico (Figura 11). Os principais parâmetros que variam entre os gêneros são o tamanho do pólipo, comprimento do pedículo, comprimento da hidroteca e medidas de espessura do perissarco em geral. As espécies de *Campanularia* apresentam maiores medidas de comprimento e diâmetro do pólipo, e perissarco menos espesso que *Orthopyxis*. A PCA com as variáveis morfométricas dos gêneros apresenta os três primeiros componentes principais como responsáveis por 65,63% da variação dos dados (Figura 12). O primeiro componente principal contrasta o número de sinuosidades do pedículo e número de constrições do perissarco do pedículo com as demais variáveis, porém a morfologia de ambos os gêneros aparece sobreposta. O segundo componente é responsável pela diferenciação de dois grupos: o primeiro, com altos valores de espessura do perissarco incluindo os mesmos espécimes de *O. integra* das análises anteriores; o segundo grupo, com altos valores de comprimento do pólipo, do pedículo e da hidroteca incluindo as espécies identificadas como *Campanularia hincksii*, *C. hincksii grandis* e *C. hincksoni* da coleção do Museo de La Plata. O terceiro componente principal parece ser responsável pela separação das espécies *O. integra*, *O. caliculata* e *C. integra* em relação às demais, embora este padrão não seja tão evidente.

#### *Evidências da morfologia dos nematocistos*

Em todas as espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia* avaliadas foram encontrados os nematocistos do tipo microbásico mastigóforo A e B, de acordo com Östman (1979a, mas veja Östman, 1999) (Figura 13). Os nematocistos do tipo A são menores que os do tipo B – ambos são encontrados em maior concentração no hidrante, embora o tipo A esteja concentrado nos tentáculos. Os nematocistos do tipo B podem

também ser encontrados ao longo do pedículo. O teste de Kruskal-Wallis não encontrou diferenças significativas na razão comprimento/diâmetro dos nematocistos tipo A das espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia* ( $H=6.43$ ,  $p>0.05$ ), mas resultou em diferenças significativas na razão comprimento/diâmetro dos nematocistos do tipo B ( $H=51.39$ ,  $p<0.01$ ). A espécie *O. sargassicola* apresentou a razão dos nematocistos significativamente maior que a de *Campanularia subantarctica*, que foi por sua vez significativamente maior que a razão dos nematocistos das espécies *O. integra* e *O. crenata* (Figura 14A).

Os dados demonstram que *C. subantarctica* apresentou nematocistos do tipo B maiores, principalmente em termos de comprimento, que os nematocistos das espécies de *Orthopyxis*. O teste resultou em diferenças significativas no comprimento dos nematocistos do tipo B ( $H=190.17$ ;  $p<0.01$ ) para todas as espécies avaliadas (Figura 14B), porém a média de comprimento dos nematocistos de *C. subantarctica* é maior que a média do comprimento dos nematocistos das demais espécies de *Orthopyxis*.

## DISCUSSÃO

### *Variabilidade morfológica de Orthopyxis*

A morfologia das espécies de *Orthopyxis* mostrou-se variável em todos os níveis estudados. No nível intracolônial, pólipos de uma mesma colônia apresentaram variação morfológica especialmente relacionada ao comprimento do pólipo, pedículo e gonoteca, além da espessura do perissarco. Organismos coloniais, como os hidrozoários, têm crescimento diferenciado de determinadas partes da colônia devido à alocação diferenciada de recursos relacionada a variações locais do ambiente, como a disponibilidade de alimento (Marfenin, 1997; Blackstone, 2003; Burmann & Buss, 2008). Esse crescimento diferenciado já foi reportado em Campanulariidae (Berrill, 1950; Crowell, 1957), podendo ser a causa dos padrões intracoloniais que observamos em *Orthopyxis*.

O padrão intra e interpopulacional para as diferentes espécies e localidades repetiu o padrão de variação intracolônial. Dentre os parâmetros avaliados, a espessura do perissarco e o comprimento das estruturas em geral (pólipo, pedículo, hidroteca e gonoteca) foram os mais variáveis. A variação na espessura do perissarco em *Orthopyxis* é conhecida (Bale, 1914; Nutting, 1915; Cornelius, 1995), e variações no tamanho da colônia, número de ramificações, comprimento da hidroteca e tentáculos,

número de anelações no pedículo e comprimento da gonoteca ocorrem em espécies dos gêneros *Obelia*, *Silicularia* (Ralph, 1956) e *Clytia* (Lindner & Migotto, 2002).

Os parâmetros morfométricos de *O. sargassicola* são congruentes com aqueles descritos para o Atlântico norte (Calder, 1991) e Atlântico sul (Migotto, 1996). Dentre os parâmetros mais variáveis, os pedículos e as gonotecas possuem comprimentos máximos menores nos espécimes do Atlântico norte (Calder, 1991) em relação aos do sul (para São Sebastião; Migotto, 1996) e aos deste estudo. Variações no tamanho da hidroteca também foram verificadas entre as populações de *O. sargassicola* deste estudo, mas a relação entre comprimento da hidroteca e temperatura, conforme reportada na literatura (Naumov, 1969; Ralph, 1956) não foi testada. A morfologia de hidroides também pode ser influenciada pela variação de parâmetros ambientais relacionadas à profundidade e hidrodinamismo (Gili & Hughes, 1995; Kaandorp, 1999), o que ficou demonstrado em *Pennaria* (Wedler, 1975). De fato, as colônias do RJ e SC estavam à cerca de dez metros de profundidade, e as demais na região entremarés, o que talvez explique as diferenças morfológicas aqui encontradas, ainda que não haja evidências inequívocas desta hipótese.

As populações de *O. integra* que estudamos apresentaram, em geral, maior amplitude de variação dos parâmetros morfométricos que as do Atlântico norte europeu (Cornelius, 1995) e Nova Zelândia (Vervoort & Watson, 2003), mas semelhante às do sul da África, especialmente no número de sinuosidades do pedículo e espessura do perissarco ("*Campanularia integra*", Millard, 1975). Dentre os parâmetros mais variáveis, as medidas da hidroteca e gonoteca e comprimento do pedículo apresentaram valores mínimos de amplitude menores que aqueles da Europa (Cornelius, 1995) e Nova Zelândia (Vervoort & Watson, 2003).

As medidas de espessura do perissarco são os parâmetros que distinguem a população do PR das populações do RJ e SC (Figura 6). Neste caso, a ocorrência em diferentes substratos pode ser a causa desta diferenciação: espécimes de SC e RJ são epifíticos, ocorrendo principalmente em *Sargassum*, enquanto espécimes do PR são epizoicos, ocorrendo principalmente em conchas de mexilhões. As adaptações a diferentes tipos de substrato podem ter implicações na morfologia da colônia (e.g., Hughes, 1986; Andrade & Migotto, 1999; Kubota, 2000), tanto para epifitismo (Hayward, 1980; Boero, 1987; Hughes *et al.* 1991a, 1991b; Llobet *et al.* 1991) quanto

para epizoísmo (Piraino *et al.*, 1994; Gili & Hughes, 1995; Kubota, 2000; Miglietta *et al.*, 2006) bem com, espera-se, para substratos duros e fixos.

Como já mencionado, alguns estudos relacionam a morfologia dos pólipos ao hidrodinamismo do local onde ocorrem (e.g., Wedler, 1975; Boero 1984; Harvell & Labarbera, 1985), com colônias de regiões expostas às ondas tendendo a serem menores e com mais anelações, o que aumentaria sua flexibilidade (Boero 1984; Gili & Hughes, 1995). Essa relação não foi verificada nas colônias de *O. integra*, em que pólipos maiores, frequentemente com poucas sinuosidades (assumindo-se que tenham função similar às anelações) ocorreram em regiões expostas às ondas, como a população epizoica do PR. Porém, esses pólipos apresentaram perissarco menos espesso, provavelmente lhes conferindo maior flexibilidade. Por sua vez, colônias epifíticas apresentaram pólipos menores, com perissarco espesso e mais sinuosidades, características que concordam com o hábito epifítico (Hughes *et al.*, 1991a; Gili & Hughes, 1995). O perissarco espesso pode proteger o hidrante, o que explicaria a menor frequência de hidroides atecados em ambientes epifíticos, uma vez que não possuem teca para proteção de seu hidrante (Shepherd & Watson, 1970; Faucci & Boero, 2000). Entretanto, a relação entre espessura do perissarco e proteção ao hidrante não é clara nas populações epizoicas, sugerindo que outros fatores possam determinar a morfologia dos pólipos em cada caso.

Nas colônias de *O. crenata* também há uma relação inversa entre espessura do perissarco e comprimento e diâmetro dos pólipos. Igualmente, números de sinuosidades no pedículo e de tentáculos e comprimento da gonoteca mostraram-se parâmetros bem variáveis. A variação de alguns parâmetros é semelhante à descrita para espécimes do Chile (Galea *et al.*, 2009) e Nova Zelândia (Vervoort & Watson, 2003), embora os chilenos tenham ocasionalmente limites máximos superiores (Galea *et al.*, 2009). As gonotecas dos materiais brasileiros têm menor comprimento e diâmetro que o registrado na literatura. Um caráter que pode ser importante na diagnose da espécie é o comprimento da hidroteca dos espécimes do litoral brasileiro, que possui pouca variação, padrão observado também em outros locais (Vervoort & Watson, 2003). Porém, esta variabilidade menor pode ser resultado de uma amostragem pequena, o que pode explicar a falta de padrões morfológicos evidentes na PCA.

As descrições de *O. sargassicola*, *O. integra* e *O. crenata* incluem poucos caracteres diagnósticos, sendo comum que as características usadas se sobreponham

(Macgillivray, 1842; Hartlaub, 1901; Nutting, 1915; Millard, 1975; Cornelius, 1982, 1995; Calder, 1991; Galea *et al.*, 2009), conforme inclusive demonstrado em nossos dados. No geral, os caracteres muito variáveis e inadequados como diagnósticos são (1) comprimento dos pólipos; (2) comprimento e diâmetro do pedículo; (3) comprimento e diâmetro da gonoteca; (4) número de cúspides; (5) número de sinuosidades do pedículo; (6) número de tentáculos; (7) espessamento do perissarco. A inadequação de parte desses caracteres foi exposta por Cornelius (1982), embora ele considerasse alguns caracteres da hidoteca adequados para taxonomia da família. De fato, as PCAs diferenciaram dois grupos em relação ao comprimento da hidoteca, provavelmente relacionada à hidoteca típica e frequentemente campanular em *O. integra*, contrastando com a hidoteca quase tubular em algumas colônias de *O. sargassicola*. Embora a hidoteca de *O. crenata* também seja campanular, ela não se diferenciou de *O. sargassicola* nas análises, provavelmente pelo número reduzido de amostras. Portanto, diferenças no tamanho e forma da hidoteca ajudam na diagnose das espécies de *Orthopyxis*, mas desde que a variabilidade do comprimento da hidoteca seja estritamente considerada.

Outro caráter nas características do pólipo que auxilia na identificação de *O. integra* é ausência de cúspides no bordo da hidoteca. A altura das cúspides, porém, não é adequada para diferenciar *O. crenata* e *O. sargassicola* na área de estudo por ser muito variável nas duas espécies. Mesmo sabendo-se ser variável, a altura das cúspides foi utilizada na diagnose de *O. crenata* (e.g., Ralph, 1957; Millard, 1975; Galea *et al.*, 2009), mas demonstramos que há sobreposição com as outras espécies. Além disso, as PCAs evidenciaram a relação entre a altura das cúspides e o comprimento da hidoteca em *O. sargassicola*. Esses fatos deixam claro que a diferenciação entre *O. crenata* e *O. sargassicola* na área de estudo deve ser feita com base nas características da gonoteca, que são aneladas em *O. sargassicola* e lisas em *O. crenata*.

Há grande discussão na literatura sobre a validade e delimitação dos gêneros *Orthopyxis* e *Campanularia*. Autores que consideram a existência dos dois gêneros apresentam, como principais características distintivas, o perissarco espesso e a formação de medusas reduzidas, livres ou retidas em *Orthopyxis*, enquanto *Campanularia* teria perissarco fino e não forma medusa, apresentando gonóforos na forma de esporossacos fixos (Bale, 1914; Nutting, 1915; Ralph, 1957; Calder, 1991; Cornelius, 1995; Bouillon *et al.*, 2004). O argumento contrário é que essas

características são insuficientes para separação dos dois gêneros, principalmente em relação ao espessamento do perissarco (Hincks, 1868; Millard, 1975; Hirohito, 1995). Embora tenhamos demonstrado que o espessamento do perissarco é variável em *Orthopyxis*, isso não justifica a inadequação desse caráter para distinguir os gêneros, já que desconhecemos o quão variável ele é nas espécies de *Campanularia*. Nossos dados morfométricos de algumas espécies de *Campanularia* apontam para evidências de que seu perissarco é fino em relação às espécies de *Orthopyxis*, além de pólipos, pedículos e hidrotecas serem mais compridos. Porém, essas evidências não transparecem na PCA, em que os parâmetros morfométricos de *Campanularia* e *Orthopyxis* estão sobrepostos, evidenciando a similaridade morfológica entre suas espécies e justificando as confusões taxonômicas que os envolvem (e.g., Cornelius, 1982).

Muitos estudos demonstraram a importância da análise dos nematocistos e sua morfometria na delimitação de gêneros e espécies em Campanulariidae (Östman, 1979a, 1979b, 1982, 1999; Cornelius & Östman, 1987; Lindner & Migotto, 2001), padrão este aqui corroborado. A diferença no comprimento dos nematocistos microbásicos mastigóforos tipo B de *Campanularia* e *Orthopyxis* é evidente, com aproximadamente 6µm de variação, constituindo uma importante característica diagnóstica para os gêneros na área de estudo, embora a avaliação de um maior número de espécies de *Campanularia* seja desejável para corroborar esta hipótese. A razão comprimento/diâmetro dos microbásicos mastigóforos tipo B foi diferente também entre as espécies de *Orthopyxis*, mas a amplitude dessa diferença foi muito pequena (0,4 a 0,5µm), dificultando a adoção dessa característica para delimitação das espécies.

#### *Inferências taxonômicas*

Várias referências anteriores à *Orthopyxis* spp. para o litoral do Atlântico sul-ocidental precisam ser reavaliadas à luz de nossos dados.

Vannucci-Mendes (1946) registrou a espécie *Orthopyxis lennoxensis* (Jäderholm, 1903) para o litoral do estado de São Paulo, posteriormente identificada como *Orthopyxis sargassicola* (Calder, 1991; Migotto, 1996; Migotto *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2011). Embora restritos, os parâmetros morfométricos descritos por Vannucci são semelhantes aos que encontramos para os espécimes de São Paulo, exceto pelo comprimento dos pólipos, que é maior que o registrado (Calder, 1991; Migotto, 1996; este estudo). Uma vez que demonstramos haver ampla variação morfológica em *O.*



*sargassicola*, não há parâmetros morfométricos determinantes para sua identificação. Entretanto, a morfologia geral das gonotecas de *O. lennoxensis* (Vannucci-Mendes, 1946) apresenta o padrão característico de anelações de *O. sargassicola*, o que corrobora sua determinação como *O. sargassicola*, inclusive incluindo-se os registros posteriores de *O. lennoxensis* (Vannucci, 1951) e sua reidentificação como *O. crenata* (Vannucci, 1954).

Vannucci (1954) propôs e descreveu a espécie *Orthopyxis billardi* para o litoral do Rio de Janeiro, também posteriormente determinada como *O. sargassicola* (Migotto, 1996; Migotto *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2011; e duvidosamente por Calder, 1991). O comprimento da hidoteca dos materiais de Vannucci concorda com a amplitude dos espécimes do RJ, mas anelações na base do pedículo representadas nas pranchas não ocorrem nos materiais que estudamos. Uma vez que Vannucci (1954) não faz referência a gonotecas, não é possível concluir o status taxonômico de *O. billardi*, e a reidentificação como *O. sargassicola* é duvidosa.

Vannucci-Mendes (1946) registrou a espécie *Orthopyxis clytioides* (Lamouroux, 1824) para o litoral do estado de São Paulo, posteriormente reidentificada duvidosamente como *O. sargassicola* (Migotto, 1996) e *O. integra* (Miranda *et al.*, 2011). De fato, a morfologia de *O. integra* concorda com a descrição original dos pólipos e gonotecas de *O. clytioides* (Vannucci-Mendes, 1946).

Vannucci (1949) propôs e descreveu a espécie *Orthopyxis minuta* para o litoral do Rio de Janeiro, e comparou a espécie a *O. clytioides*, de quem se diferenciaria pelo tamanho dos pólipos e formato da gonoteca. A aceitação desta determinação tem sido duvidosa (Migotto, 1996; Miranda *et al.* 2011). Os parâmetros morfométricos, a ausência de cúspides e a morfologia das gonotecas descritos por Vannucci (1949) são semelhantes aos de *O. integra*, que consideramos a determinação correta do material.

Blanco (1964) registrou a espécie *O. caliculata* para a região de Puerto Madryn, na Argentina, ressaltando em sua descrição o espessamento do perissarco e formato da hidoteca, características que seriam variáveis. Com base no estudo do material-tipo, Cornelius (1982) considerou *Campanularia caliculata* Hincks, 1853 sinônimo de *Orthopyxis integra*, e Blanco (1994) re-identificou seus espécimes de *O. caliculata* como "*Campanularia integra*". O estudo da morfometria dos materiais da coleção do Museo de La Plata identificados como *O. caliculata* e *C. integra* realmente deixa claro a similaridade destas espécies com *O. integra* do litoral brasileiro. Uma vez demonstrada

e aceita a validade de ambos os gêneros, os registros apontados para a Argentina devem ser propriamente referenciados como *O. integra*.

Curiosamente, Blanco (1964) também registrou *Campanularia integra* para a região de Punta Peñas, e comentou as diferenças desse material e *O. caliculata*. Em nosso estudo da coleção do Museu de La Plata, um dos materiais estudados por Blanco (1964) e identificado como *C. integra* (MLP 41), é de fato diferente dos materiais de *O. caliculata* e dos demais espécimes de *C. integra*, principalmente no que se refere ao perissarco mais fino e hidoteca mais comprida. Essas características de MLP41 correspondem às características diagnósticas do gênero *Campanularia*. De fato, as PCAs mostram que MLP41 não agrupa com as ocorrências de *O. integra*, *O. caliculata* e demais exemplares de *C. integra*, embora essa evidência seja inconclusiva. Além disso, a ausência de gonotecas impede uma identificação segura deste material no momento.

O estudo morfométrico das espécies do gênero *Orthopyxis* permitiu a revisão dos caracteres morfológicos utilizados para a diagnose das espécies, determinando a amplitude de variação destes. A investigação da variabilidade morfológica em *Orthopyxis* deixa claro que, muitas vezes, os caracteres tradicionalmente utilizados para diagnose das espécies não são adequados, e por isso contribuem para muitas confusões taxonômicas que envolvem essas espécies. Nesse sentido, esse estudo mostra que a variabilidade morfológica, quando investigada, pode apontar caracteres informativos para a diagnose de espécies e gêneros, e deve ser mais frequentemente considerada na taxonomia de grupos com morfologia variável.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, A.A. 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* 294: 321-326.
- Andrade, L.P. & A.E. Migotto. 1999. Variação morfológica de *Aglaophenia latecarinata* (Cnidaria, Hydrozoa, Aglaopheniidae) da região do Canal de São Sebastião, São Paulo, Brasil. In: VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar, Trujillo, 1: 412-413.
- Ayres, M.; M. Ayres Jr.; D.L. Ayres & A.A.S. Santos. 2007. BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas, versão 5. Belém, Pará, Brasil.

- Bale, W.M. 1914. Further notes on Australian Hydroids. Part I. Proceedings of the Royal Society of Victoria 27: 72-93.
- Bell, J.J. & D.K.A. Barnes. 2000. The influences of bathymetry and flow regime upon the morphology of sublittoral sponge communities. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 80: 707-718.
- Berrill, N.J. 1950. Growth and form in calyptoblastic hydroids. II. Polymorphism within the Campanularidae [SIC]. Journal of Morphology 87(1): 1-26.
- Blackstone, N.W. & P.O. Yund. 1989. Morphological variation in a colonial marine hydroid: a comparison of size-based and age-based heterochrony. Paleobiology 15(1): 1-10.
- Blackstone, N.W. 2003. Redox signaling in the growth and development of colonial hydroids. The Journal of Experimental Biology 206: 651-658.
- Blanco, O.M. 1964. Algunos campanularidos argentinos. Revista del Museo de La Plata 7: 149-171.
- Blanco, O.M. 1967. Contribución al conocimiento de los hidrozoarios argentinos. Revista del Museo de La Plata 9: 243-297.
- Blanco, O.M. 1976. Hidrozoos de la expedición "Walther Herwig". Revista del Museo de La Plata 12: 27-74.
- Blanco, O.M. 1984. *Symplectoscyphus marionensis* Millard, 1971 (Hydroida Thecata) y sus epizoicos. Revista del Museo de La Plata 13: 261-267.
- Blanco, O.M. 1994. Enumeración sistemática y distribución geográfica preliminar de los hidroides de la República Argentina, suborden Athecata (Gymnoblastera, Anthomedusae), Thecata (Calyptoblastera, Leptomedusae) y Limnomedusae. Revista del Museo de La Plata 14: 181-216.
- Boero, F. 1984. The ecology of marine hydroids and effects of environmental factors: a review. Marine Ecology 5(2): 93-118.
- Boero, F. 1987. Evolutionary implications of habitat selection in the hydroids of *Posidonia oceanica* meadows, p. 251 - 256. In: J. Bouillon; F. Boero; F. Cicogna & P.F.S. Cornelius (Eds.). Modern Trends in the Systematics, Ecology, and Evolution of Hydroids and Hydromedusae, Clarendon Press, Oxford, XXI+328p.
- Boero, J.; J. Bouillon & S. Piraino. 1996. Classification and phylogeny in the Hydroidomedusae (Hydrozoa, Cnidaria). Scientia Marina 60(1): 17-33.

- Bouillon, J.; M.D. Medel; F. Pagès; J.M. Gili; F. Boero & C. Gravili. 2004. Fauna of the Mediterranean Hydrozoa. *Scientia Marina* 68 (Suppl. 2): 1-449.
- Broch, H. 1909. Die Hydroiden der Arktischen Meere. *Fauna Arctica* 5: 129-247.
- Bruno, J.F. & P.J. Edmunds. 1998. Metabolic consequences of phenotypic plasticity in the coral *Madracis mirabilis* (Duchassaing and Michelotti): the effect of morphology and water flow on aggregate respiration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 229: 187-195.
- Burmann D. & L.W. Buss. 2008. Nutritional physiology and colony form in *Podocoryna carnea* (Cnidaria: Hydrozoa). *Invertebrate Biology* 127(4): 368-380.
- Calder, D.R. 1991. Shallow-water hydroids of Bermuda: the thecate, exclusive of Plumularioidea. *Life Science Contributions, Royal Ontario Museum* 154: 1-140.
- Chen, K-S.; H.J. Hsieh; S. Keshavmurthy; J.K.L. Leung; I-T. Lien; Y. Nakano; S. Plathong; H. Huang & C.A. Chen. 2011. Latitudinal gradient of morphological variations in zebra coral *Oulastrea crispata* (Scleractinia: Faviidae) in the West Pacific. *Zoological Studies* 50(1): 43-52.
- Collins, A.G.; B. Bentlage; W.B. Gillan; T.H. Lynn; A.C. Morandini & A.C. Marques. 2011. Naming the Bonaire banded box jelly, *Tamoya ohboya*, n.sp. (Cnidaria: Cubozoa: Carybdeida: Tamoyidae). *Zootaxa* 2753: 53-68.
- Cornelius, P.F.S. 1975. The hydroid species of *Obelia* (Coelenterata, Hydrozoa: Campanulariidae), with notes on the medusa stage. *Bulletin of the British Museum (Natural History)* 28: 249-293.
- Cornelius, P.F.S. 1982. Hydroids and medusae of the family Campanulariidae recorded from the eastern North Atlantic, with a world synopsis of genera. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology series)* 42 (2): 37-148.
- Cornelius, P.F.S. 1990. European *Obelia* (Cnidaria, Hydroida): systematics and identification. *Journal of Natural History* 24: 535-578.
- Cornelius, P. F.S. 1995. North-west European thecate hydroids and their medusae. Part 2. Sertulariidae to Campanulariidae. *Synopses of the British Fauna New Series* 50 (2): 1-386.
- Cornelius, P.F.S. & C. Östman. 1987. Redescription of *Laomedea exigua* M. Sars, a hydroid new to Scandinavia, with comments on its nematocysts, life cycle and feeding movements. *Zoologica Scripta* 16(1): 1-8.

- Crowell, S. 1957. Differential responses of growth zones to nutritive level, age, and temperature in the colonial hydroid *Campanularia*. *Journal of Experimental Zoology* 134(1): 63-90.
- Fauci, A. & F. Boero. 2000. Structure of an epiphytic hydroid community on *Cystoseira* at two sites of different wave exposure. *Scientia Marina* 64 (supl.1): 255-264.
- Forsman, Z.H.; D.J. Barshis; C.L. Hunter & R.J. Toonen. 2009. Shape-shifting corals: molecular markers show morphology is evolutionary plastic in *Porites*. *BMC Evolutionary Biology* 9:45.
- Galea, H. 2007. Hydroids and hydromedusae (Cnidaria, Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 1597: 1-116.
- Galea, H.R.; V. Häussermann & G. Försterra. 2009. New additions to the hydroids (Cnidaria: Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 2019: 1-28.
- Genzano G.N. 1990. Hidropólipos (Cnidaria) de Mar del Plata, Argentina. *Nerítica* 5: 35-54.
- Gili, J. & R.G. Hughes. 1995. The ecology of marine benthic hydroids. *Oceanography and Marine Biology: an annual review* 33: 351-426.
- Govindarajan, A.F.; F. Boero & K.M. Halanych. 2006. Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae (Hydrozoa, Cnidaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 820-834.
- Griffith, K.A. & A.T. Newberry. 2008. Effect of flow regime on the morphology of a colonial cnidarian. *Invertebrate Biology* 127(3): 259-264.
- Hartlaub, C., 1901. Hydroiden aus dem Stillen ocean. *Ergebnisse einer Reise nach dem Pacific*. *Zoologische Jahrbücher* 14: 349-379.
- Harvell, C.D. & M. Labarbera. 1985. Flexibility: a mechanism for control of local velocities in hydroid colonies. *Biological Bulletin* 168: 312-320.
- Hayward, P.J. 1980. Invertebrate epiphytes of coastal marine algae, p. 761-787. In: J.H. Price; D.E.G. Irvine & W.F. Farnham (Eds.). *The shore environment. Volume 2: Ecosystems. The Systematics Association Special Volume, XX+* 1044p.
- Hincks, T. 1868. *A history of the British hydroid zoophytes*. John Van Voorst, London, 338p.

- Hirohito, Emperor Showa. 1995. The hydroids of Sagami Bay II. Thecata. Biological Laboratory Imperial Household, Tokyo, Japan, 355p.
- Hughes, R.G. 1986. Differences in the growth, form and life history of *Plumularia setacea* (Ellis and Solander) (Hydrozoa: Plumulariidae) in two contrasting habitats. Proceedings of the Royal Society of London Biological Sciences 228 (1251): 113-125.
- Hughes, R.N. 1989. A functional biology of clonal animals. Chapman and Hall, 331p.
- Hughes, R.G.; S. Johnson & I.D. Smith. 1991a. The growth patterns of some hydroids that are obligate epiphytes of seagrass leaves. Hydrobiologia 216/217: 205-210.
- Hughes, R.G.; A. Garcia Rubies & J.M. Gili. 1991b. The growth and degeneration of the hydroid *Sertularia perpusilla*, an obligate epiphyte of leaves of the seagrass *Posidonia oceanica*. Hydrobiologia 216/217: 211-214.
- Jolliffe, I.T. 2002. Principal Components Analysis. Second Edition, Springer Series in Statistics, 457p.
- Kaandorp, J.A. 1999. Morphological analysis of growth forms of branching marine sessile organisms along environmental gradients. Marine Biology 134: 295-306.
- Kubota, S. 2000. Parallel, paedomorphic evolutionary processes of the bivalve-inhabiting hydrozoans (Leptomedusae, Eirenidae) deduced from the morphology, life cycle and biogeography, with special reference to taxonomic treatment of *Eugymnanthea*. Scientia Marina 64(Suppl. 1): 241-247.
- Lindner, A. & A.E. Migotto. 2001. Merotrichous isorhiza, a nematocyst new to the Campanulariidae (Cnidaria: Hydrozoa), and its relevance for the classification of cnidae. Proceedings of the Biological Society of Washington 114(4): 825-832.
- Lindner, A. & A.E. Migotto. 2002. The life cycle of *Clytia linearis* and *Clytia noliformis*: metagenic campanulariids (Cnidaria: Hydrozoa) with contrasting polyp and medusa stages. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 82: 541-553.
- Llobet, I.; J.M. Gili & R.G. Hughes. 1991. Horizontal, vertical and seasonal distributions of epiphytic hydrozoa on the alga *Halimeda tuna* in the Northwestern Mediterranean Sea. Marine Biology 110(1): 151-159.
- Lozier J.D.; P. Aniello & M.J. Hickerson. 2009. Predicting the distribution of Sasquatch in western North America: anything goes with ecological niche modelling. Journal of Biogeography 36: 1623-1627.

- MacGillivray, J. 1842. Catalogue of the marine zoophytes of the neighbourhood of Aberdeen. *Annals and Magazine of Natural History* 1(9): 462-469.
- Marfenin, N.N. 1997. Adaptation capabilities of marine organisms. *Hydrobiologia* 355: 153-158.
- Mariscal, R.N. 1974. Nematocysts, pp. 129-178. In: Muscatine, L. & H.M. Lenhoff (Eds.). *Coelenterate biology*. Academic Press, New York, 373p.
- Marques, A.C.; A. Peña-Cantero; A.E. Migotto. 2005. Revision of the genus *Cryptolarella* Stechow, 1913 (Lafoeidae, Leptothecata, Hydrozoa). *Journal of Natural History* 39(9): 709-722.
- Miglietta, M.P.; C. Gravili & S. Kubota. 2006. Unique behaviours of the hydroids of *Eugymnanthea* (Hydrozoa, Leptomedusae, Eirenidae) living in the mantle cavity of bivalves. *Thalassia Salentina* 29: 107-112.
- Miglietta, M.P.; P. Schuchert & C.W. Cunningham. 2009. Reconciling genealogical and morphological species in a worldwide study of the family Hydractiniidae (Cnidaria, Hydrozoa). *Zoologica Scripta* 38: 403-430.
- Migotto, A.E. 1996. Benthic shallow-water hydroids (Cnidaria, hydrozoa) of the coast of São Sebastião, Brazil, including a checklist of Brazilian hydroids. *Zoologische Verhandelingen* 306: 1-125.
- Migotto, A.E.; A.C. Marques; A.C. Morandini & F.L. Silveira. 2002. Checklist of the Cnidaria Medusozoa of Brazil. *Biota Neotropica* 2(1): 1-31.
- Millard, N.A.H. 1975. Monograph on the Hydroida of Southern Africa. *Annals of the South African Museum* 68: 1-513.
- Miranda, T.P.; M.A. Haddad; V. Shimabukuro; J. Dubiaski-Silva & A.C. Marques. 2011. Fauna de hidroides (Cnidaria, Hydrozoa) da região de Bombinhas, Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica*, no prelo.
- Morandini, A.C. & A.C. Marques. 2010. Revision of the genus *Chrysaora* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria: Schyphozoa). *Zootaxa* 2464: 1-97.
- Naumov, D.V. 1969. Hydroids and Hydromedusae of the USSR. Israel Program for Scientific Translations, Washington, D.C. *Fauna S.S.S.R.*, 70: 1-660.
- Nutting, C.C. 1915. American Hydroids. Part III. The Campanulariidae and the Bonneviellidae. *Smithsonian Institution United States National Museum Especial Bulletin*, 126p.

- Okamura, P. & J.C. Partridge. 1999. Suspension feeding adaptations to extreme flow environments in a marine bryozoan. *Biological Bulletin* 196: 205-215.
- Oliveira, O.M.P.; A.C. Marques & A.E. Migotto. 2000. Morphometric patterns of two fouling *Eudendrium* spp. (Hydrozoa, Anthomedusae, Eudendriidae) from São Sebastião (SP, SE Brazil). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 43(5): 519-526.
- Östman, C. 1979a. Two types of nematocysts in Campanulariidae (Cnidaria, Hydrozoa) studied by light and scanning electron microscopy. *Zoologica Scripta* 8: 5-12.
- Östman, C. 1979b. Nematocysts in the *Phialidium* medusae of *Clytia hemisphaerica* (Hydrozoa, Campanulariidae) studied by light and scanning electron microscopy. *Zoon* 7: 125-142.
- Östman, C. 1982. Nematocysts and taxonomy in *Laomedea*, *Gonothyraea* and *Obelia* (Hydrozoa, Campanulariidae). *Zoologica Scripta* 11 (4): 227-241.
- Östman, C. 1999. Nematocysts and their value as taxonomic parameters within the Campanulariidae (Hydrozoa). A review based on light and scanning electron microscopy. *Zoosystematica Rossica* 1: 17-28.
- Peña Cantero, A.L.; A.M. García-Carrascosa; W. Vervoort. 1998. On the species of *Filellum* Hincks, 1868 (Cnidaria: Hydrozoa) with the description of a new species. *Journal of Natural History* 32: 297-315.
- Peña-Cantero A.L.; A.C. Marques & A.E. Migotto. 2007. Revision of the genus *Acryptolaria* Norman, 1875 (Cnidaria, Hydrozoa, Lafoeidae). *Journal of Natural History* 41 (5-8): 229-291.
- Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution* 20(9): 481-486.
- Piraino, S.; C. Todaro; S. Geraci & E. Boero. 1994. Ecology of the bivalve-inhabiting hydroid *Eugymnanthea inquilina* in the coastal sounds of Taranto (Ionian Sea, SE, Italy). *Marine Biology* 118: 695-703.
- Ralph, P.M. 1956. Variation in *Obelia geniculata* (Linnaeus, 1758) and *Silicularia bilabiata* (Coughtrey, 1875) (Hydrozoa, F. Campanulariidae). *Transactions of the Royal Society of New Zealand* 84(2): 279-296.
- Ralph, P.M. 1957. New Zealand thecate hydroids. Part I. Campanulariidae and Campanulinidae. *Transactions of the Royal Society of New Zealand* 84(4): 811-854.



- Rossi, S.; J.M. Gili & R.G. Hughes. 2000. The effects of exposure to wave action on the distribution and morphology of the epiphytic hydrozoans *Clava multicornis* and *Dynamena pumila*. *Scientia Marina* 64(1): 135-140.
- Shepherd, S.A. & J.E. Watson. 1970. The sublittoral ecology of West Island, south Australia. 2. The association between hydroids and algal substrate. *Transactions of the Royal Society of South Australia* 94: 139-146.
- Shimabukuro, V. & A.C. Marques. 2006. Morphometrical analysis, histology, and taxonomy of *Thyroscyphus ramosus* (Cnidaria, Hydrozoa) from the coast of Brazil. *Zootaxa* 1184: 29-42.
- Silveira, F.L. & A.E. Migotto. 1991. The variation of *Halocordyle disticha* (Cnidaria, Athecata) from the Brazilian coast: an environmental indicator species? *Hydrobiologia* 216/217: 437-442.
- Van Winkle, D.H.; K. Longnecker & N.W. Blackstone. 2000. The effects of hermit crabs on hydractiniid hydroids. *Marine Ecology* 21(1): 55-67.
- Vannucci, M. 1949. Hydrozoa do Brasil. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 99(14): 219-266.
- Vannucci, M. 1951. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Paulista de Oceanografia. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 2: 69-99.
- Vannucci, M. 1954. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Oceanográfico. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 5: 95-149.
- Vannucci-Mendes, M. 1946. Hydroida Thecophora do Brasil. *Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo* 4(14): 535-598.
- Vervoort, W. & J.E. Watson. 2003. The marine fauna of New Zealand: Leptothecata (Cnidaria: Hydrozoa) (Thecate Hydroids). National Institute of Water and Atmospheric Research (NIWA), NIWA Biodiversity Memoir 119: 1-538.
- Wedler, E. 1975. Ökologische Untersuchungen an Hydroiden des Felslitorals von Santa Marta (Kolumbien). *Helgoland Marine Research* 27(3): 324-363.
- Yund, P.O. 1991. Natural selection on hydroid colony morphology by intraspecific competition. *Evolution* 45(7): 1564-1573.

Tabela 1. Informações sobre os materiais utilizados nas análises morfológicas. MLP = Museo de La Plata (Argentina); MZUSP = Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; Este estudo = materiais coletados e ainda não depositados. Amostras provenientes do MLP encontram-se com os nomes das espécies conforme determinações originais entre aspas – para sinonímias veja Blanco (1994), Genzano (1990), Vervoort & Watson (2003), Galea (2007) e Galea *et al.* (2009). \*Informação não disponível.

Procedência	Nº de amostras	Identificação da espécie	Localidade	Coordenadas Geográficas	Gonóforo	Substrato
Este estudo	1	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil (BR), Ceará (CE), Fortaleza, Praia de Caponga	04°02.348'S - 38°11.572'W	Ausente	Alga
Este estudo	7	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Espírito Santo, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	3	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Espírito Santo, Aracruz, Praia dos Padres	19°55.941'S - 40°07.327'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	2	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Espírito Santo, Aracruz, Praia Formosa	19°59.677'S - 40°08.890'W	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Rio de Janeiro, Búzios, João Gonçalves	22°48'S - 41°56'W	Presente	Alga
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Rio de Janeiro, Búzios, João Gonçalves	22°48'S - 41°56'W	Ausente	Alga
Este estudo	5	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Rio de Janeiro, Paraty	*	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Rio de Janeiro, Paraty, Ilha dos Ratos	23°11.640'S - 44°36.408'W	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, Rio de Janeiro, Paraty, Ilha dos Meros	23°11.264'S - 44°34.635'W	Ausente	Alga
Este estudo	7	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	3	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, São Paulo, Ubatuba, Praia do Lázaro	23°30'S - 45°08'W	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, São Paulo, São Sebastião, Praia Preta	23°45'S - 48°24'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
MZUSP0183	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	BR, São Paulo, São Sebastião, Praia de Barequeçaba	23°49.888'S - 45°25.915'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
MZUSP0256	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, São Paulo, Ilha Bela, Praia do Sino	23°44.800'S - 45°20.948'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
MZUSP1319	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	Brasil, São Paulo, Caraguatatuba, Ilha de Massaguaçu	23°25'S - 44°49'W	Presente	Alga
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	Ausente	Bivalve (mexilhão) e cirripédio
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	Ausente	Bivalve (mexilhão)
Este estudo	5	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia do Miguel	25°33'22.12"S - 48°17'55.36"W	Presente	Bivalve (mexilhão)
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	Ausente	Bivalve (mexilhão) e cirripédio
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	Ausente	Bivalve (mexilhão)
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	Presente	Bivalve (mexilhão) e cirripédio
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	Ausente	<i>Phragmatopoma</i>
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	Ausente	Cirripédio
Este estudo	3	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Paraná, Ilha do Mel, Praia de Fora	25°34'22.58"S - 48°18'32.77"W	Presente	Bivalve (mexilhão)
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	Ausente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	2	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, Santa Catarina, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	Presente	Alga
Este estudo	2	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	Ausente	Alga
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina, Penha, Praia da Paciência	26°46'38"S - 48°36'10"W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina, Penha, Praia Grande	26°46'S - 48°35'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
Este estudo	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina, Penha, Praia da Armação	26°47'S - 48°37'W	Ausente	Alga
MZUSP4265	1	<i>Orthopyxis integra</i>	Brasil, Santa Catarina, Bombinhas, Praia de Bombas	27°07.874'S - 48°30.817'W	Presente	Alga ( <i>Sargassum</i> )
MZUSP4177	1	<i>Orthopyxis integra</i>	BR, Santa Catarina, Bombinhas, Praia da Conceição	27°62.021'S - 48°29.534'W	Presente	Alga

Tabela 1. Continuação.

Proveniência	Nº de amostras	Identificação da espécie	Localidade	Coordenadas Geográficas	Gonóforo	Substrato
MZUSP4597	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	BR, Santa Catarina, Florianópolis, Ilha do Campeche	27°41'27"S - 48°27'51"W	Ausente	Alga
MZUSP4665	1	<i>Orthopyxis sargassicola</i>	BR, Santa Catarina, Florianópolis, Ilha do Campeche	27°41'27"S - 48°27'51"W	Presente	Alga
MZUSP4704	1	<i>Orthopyxis crenata</i>	Brasil, Santa Catarina, Laguna, Prainha	28°36.097'S - 48°49.227'W	Presente	Alga
MLP 425	1	" <i>Campanularia (Orthopyxis) everta</i> "	Argentina (ARG), Buenos Aires	41°13'S - 64°01'W	Ausente	? <i>Eudendrium</i>
MZUSP5344	1	<i>Campanularia agas</i>	Argentina, Buenos Aires, Mar del Plata	*	Ausente	*
MLP 36	1	" <i>Campanularia hincksii grandis</i> "	Argentina, Buenos Aires, Quequén	*	Ausente	Banco de mexilhões
MLP 37	1	" <i>C. hincksii grandis</i> "	Argentina, Buenos Aires, Quequén	*	Ausente	Banco de mexilhões
MLP 38	1	" <i>C. hincksii grandis</i> "	Argentina, Buenos Aires, Quequén	*	Ausente	Banco de mexilhões
MLP 39	1	" <i>C. hincksii grandis</i> "	Argentina, Buenos Aires, Quequén	*	Ausente	Banco de mexilhões
MLP 40	1	" <i>Campanularia hincksii</i> "	Argentina, Buenos Aires, Quequén	*	Ausente	Banco de mexilhões
MLP 47	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	*
MLP 48	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	*
MLP 49	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	*
MLP 50	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	<i>Symplectoscyphus</i>
MLP 51	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	*
MLP 52	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	*
MLP 53	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	*
MLP 54	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Ausente	<i>Sertularella</i> sp.
MLP 2400	1	" <i>C. (Orthopyxis) everta</i> "	Argentina, Chubut, Puerto Madryn	*	Presente	<i>Symplectoscyphus glacialis</i>
MLP 55	1	" <i>Orthopyxis caliculata</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	<i>Sertularella antarctica</i>
MLP 41	1	" <i>Campanularia integra</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	<i>S. meridionalis</i>
MLP 44	1	" <i>Campanularia tincta</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	*
MLP 45	1	" <i>Campanularia tincta</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	*
MLP 46	1	" <i>Campanularia tincta</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	*
MLP 42	1	" <i>Campanularia volubilis antarctica</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	*
MLP 43	1	" <i>C. volubilis antarctica</i> "	Argentina, Santa Cruz, Punta Peñas	*	Ausente	*
Este estudo	1	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Santa Cruz, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	Presente	Anthoathecata sp.
Este estudo	1	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Santa Cruz, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	Ausente	Alga
Este estudo	2	<i>Campanularia subantarctica</i>	ARG, Santa Cruz, Puerto San Julián, Praia La Mina	49°09.413'S - 67°37.987'W	Ausente	Sertulariidae
MLP 228	1	" <i>C. (Orthopyxis) everta</i> "	Argentina, Tierra del Fuego, Isla de los Estados	*	Ausente	<i>Symplectoscyphus marionensis</i>
MLP 664	1	" <i>Campanularia subantarctica</i> "	Argentina, Tierra del Fuego, Isla de los Estados	*	Ausente	*
MLP 8536	1	" <i>Campanularia integra</i> "	Argentina, Tierra del Fuego, Estancia Moat	55°01.48'S - 66°41.7'W	Ausente	*
MLP 8558	1	" <i>Campanularia subantarctica</i> "	Argentina, Tierra del Fuego, Bahía Sloggett	55°00'S - 66°20.6'W	Presente	<i>Symplectoscyphus</i>
MLP 358	1	" <i>Campanularia hicksoni</i> "	Antártica, Peter I Island	68°45'S - 90°41'W	Presente	*
MLP 359	1	" <i>Campanularia hicksoni</i> "	Antártica, Peter I Island	68°45'S - 90°41'W	Ausente	*
MLP 361	1	" <i>Campanularia hicksoni</i> "	Antártica, Peter I Island	68°45'S - 90°41'W	Presente	*
MLP 479	1	" <i>Campanularia hicksoni</i> "	Antártica, Isla Baja	63°22'S - 62°00' a 61°55'W	Ausente	*

Tabela 2. Parâmetros utilizados nas análises morfométricas para as espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia*.

(1) Comprimento do pólipó	(27) Número de tentáculos
(2) Diâmetro da hidrorriza	(28) Diâmetro máximo da esférula subhidrotecal
(3) Espessura máxima do perissarco da hidrorriza	(29) Diâmetro mínimo da esférula subhidrotecal
(4) Espessura mínima do perissarco da hidrorriza	(30) Comprimento da esférula subhidrotecal
(5) Espessura máxima do perissarco distal (na borda) da hidroteca	(31) Comprimento do pedículo
(6) Espessura mínima do perissarco distal (na borda) da hidroteca	(32) Diâmetro máximo distal (no ápice) do pedículo
(7) Espessura máxima do perissarco medial da hidroteca	(33) Diâmetro mínimo distal (no ápice) do pedículo
(8) Espessura mínima do perissarco medial da hidroteca	(34) Diâmetro máximo medial do pedículo
(9) Espessura máxima do perissarco proximal (na base) da hidroteca	(35) Diâmetro mínimo medial do pedículo
(10) Espessura mínima do perissarco proximal (na base) da hidroteca	(36) Diâmetro máximo proximal (na base) do pedículo
(11) Espessura máxima do perissarco distal (no ápice) do pedículo	(37) Diâmetro mínimo proximal (na base) do pedículo
(12) Espessura mínima do perissarco distal (no ápice) do pedículo	(38) Número máximo de sinuosidades do pedículo
(13) Espessura máxima do perissarco medial do pedículo	(39) Número máximo de constrições do perissarco do pedículo
(14) Espessura mínima do perissarco medial do pedículo	(40) Número de cúspides
(15) Espessura máxima do perissarco proximal (na base) do pedículo	(41) Altura máxima das cúspides
(16) Espessura mínima do perissarco proximal (na base) do pedículo	(42) Altura mínima das cúspides
(17) Espessura máxima do perissarco da esférula subhidrotecal	(43) Comprimento da hidroteca
(18) Espessura mínima do perissarco da esférula subhidrotecal	(44) Diâmetro máximo distal (na borda) da hidroteca
(19) Espessura máxima do perissarco distal (na borda) da gonoteca	(45) Diâmetro mínimo distal (na borda) da hidroteca
(20) Espessura mínima do perissarco distal (na borda) da gonoteca	(46) Diâmetro máximo medial da hidroteca
(21) Espessura máxima do perissarco medial da gonoteca	(47) Diâmetro mínimo medial da hidroteca
(22) Espessura mínima do perissarco medial da gonoteca	(48) Diâmetro máximo proximal (na base) da hidroteca
(23) Espessura máxima do perissarco proximal (na base) da gonoteca	(49) Diâmetro mínimo proximal (na base) da hidroteca
(24) Espessura mínima do perissarco proximal (na base) da gonoteca	(50) Comprimento do pedúnculo da gonoteca
(25) Espessura máxima do perissarco do pedúnculo da gonoteca	(51) Diâmetro máximo do pedúnculo da gonoteca
(26) Espessura mínima do perissarco do pedúnculo da gonoteca	(52) Diâmetro mínimo do pedúnculo da gonoteca
	(53) Comprimento da gonoteca
	(54) Diâmetro máximo distal (na borda) da gonoteca
	(55) Diâmetro mínimo distal (na borda) da gonoteca
	(56) Diâmetro máximo medial da gonoteca
	(57) Diâmetro mínimo medial da gonoteca
	(58) Diâmetro máximo proximal (na base) da gonoteca
	(59) Diâmetro mínimo proximal (na base) da gonoteca
	(60) Número máximo de sinuosidades da gonoteca

Tabela 3. Principais medidas (média±erro padrão [mínimo-máximo]) de *Orthopyxis sargassicola* e comparações com dados da literatura. Np=número de pólipos medidos; Ng=número de gonotecas medidas; (N=quando número diferente). As medidas de diâmetro se referem ao diâmetro da posição de máximo espessamento do perissarco. \*Informações não disponíveis. \*\*Vannucci-Mendes (1946).

Medidas (µm)	ES (Np=12; Ng=3)	RJ (Np=7; Ng=0)	SP (Np=12; Ng=10)	SC (Np=2; Ng=1)	Total (Np=33; Ng=14)	Calder (1991)	Migotto (1996)	<i>O. lennoxensis</i> **
Comprimento do pólipio	1881.67±91.86 [1580-2640]	1928.57±111.34 [1620-2360]	1600±83.48 [1160-2260]	1820±360 [1460-2180]	1785.45±57.43 [1160-2640]	*	*	[2500-3000]
<b>Hidrorriza</b>								
Diâmetro	76.25±6.19 [45-115]	71.25±6.94 [35-125]	60.71±4.68 [45-75]	45±10 [35-55]	69.24±3.75 [35-125]	*	[60-112]	*
Espessura do perissarco	27.71±2.86 [12.5-47.5]	13.93±2.66 [5-27.5]	27.29±2.55 [17.5-50]	20 [20]	24.17±1.76 [5-50]	*	*	*
<b>Pedículo</b>								
Comprimento	1335±78.70 [1110-2110]	1298.57±91.48 [1050-1690]	1035.83±60.02 [630-1340]	1250±350 [900-1600]	1213.33±48.64 [630-2110]	[600-1700]	[568-2070]	*
Diâmetro	87.71±3.89 [65-110]	68.21±6.52 [50-95]	80.42±3.28 [65-100]	72.5±2.5 [70-75]	80±2.58 [50-110]	[56-80]	[64-136]	*
Espessura do perissarco medial	15.2±1.3 [10-22.5]	7.86±0.89 [5-12.5]	13.96±1.36 [5-22.5]	10±2.5 [7.5-12.5]	12.88±0.86 [5-22.5]	*	*	*
Número máximo de sinuosidades	18.92±0.62 [14-22]	9.43±2.28 [3-20]	16.25±1.09 [13-25]	8.5±5.5 [3-14]	15.30±0.97 [3-25]	*	[6-20]	*
<b>Hidroteca</b>								
Comprimento	494.17±15.64 [430-590]	520.71±15.52 [470-570]	480.83±18.77 [380-640]	545±5 [540-550]	498.03±9.77 [380-640]	[383-569]	[344-528]	[340-435]
Diâmetro na borda	324.58±8.89 [290-375]	269.29±9.09 [235-315]	316.25±8.66 [255-350]	305±15 [290-320]	308.64±6.07 [235-375]	[197-289]	[248-440]	[265-365]
Diâmetro na base	166.67±8.40 [140-185]	151.43±12.23 [120-205]	155±7.88 [125-225]	162.5±27.5 [135-190]	158.94±5.02 [120-225]	[101-149]	[80-144]	*
Espessura do perissarco medial	30.52±4.97 [2.5-37.5]	8.57±4.87 [2.5-37.5]	25.21±3.53 [2.5-42.5]	6.25±1.25 [5-7.5]	22.46±2.86 [2.5-42.5]	*	*	*
Número de cúspides	10.75±0.22 [10-12]	11.29±0.47 [10-14]	11.42±0.31 [10-13]	11 [11]	11.12±0.17 [10-14]	[12-14]	[10-14]	[11-12]
<b>Hidrante</b>								
Número de tentáculos	15.83±2.80 [19-24] (N=9)	23.29±0.81 [21-26]	22.30±0.68 [18-26] (N=10)	29 [29] (N=1)	22.41±0.42 [18-29]	aprox. 24	[23-26]	*
<b>Gonoteca</b>								
Comprimento	720±124.23 [500-930]	-	1002±48.94 [710-1260]	1100 [1100]	827.14±93.32 [500-1260]	aprox. 500	[920-1280]	[1090-1170]
Diâmetro na borda	686.67±16.67 [670-720]	-	688±22.10 [580-800]	610 [610]	682.14±16.78 [580-800]	[229-373]	[620-700]	*
Diâmetro medial (máximo)	726.67±21.86 [700-770]	-	736±29.60 [560-860]	675 [675]	729.64±21.63 [560-860]	aprox. 500	[680-920]	[680-900]
Espessura do perissarco medial	34.17±3 [30-40]	-	35.5±5.19 [20-65]	10 [10]	33.39±4.11 [10-65]	*	*	*
<b>Nematocistos (Hidrante)</b>								
Microbásico mastigóforo tipo A (Comp. X Diam.)	5.25±0.06 [4.5-6]x1.85±0.03 [1.5-2] (N=50)	5.27±0.09 [4-6]x1.88±0.06 [1.5-3] (N=30)	5.24±0.08 [4-6]x1.98±0.02 [1.5-2] (N=40)	-	5.25±0.04 [4-6]x1.90±0.02 [1.5-3] (N=120)	*	6.5-7.0x2	*
Microbásico mastigóforo tipo B (Comp. X Diam.)	8.97±0.11 [8-10]x2.23±0.06 [1.5-3] (N=50)	8.57±0.12 [7-10]x2.15±0.06 [1.5-2.5] (N=30)	8.45±0.09 [7.5-10]x2.1±0.04 [2-3] (N=40)	-	8.7±0.07 [7.5-10]x2.17±0.03 [1.5-3] (N=120)	*	[10-11]x[2.5-3]	*

Tabela 4. Principais medidas (média±erro padrão [mínimo-máximo]) de *Orthopyxis integra*, comparações com dados da literatura e com os materiais identificados como *O. caliculata* e *C. integra* da coleção do Museo de La Plata. Np=número de pólipos medidos; Ng=número de gonotecas medidas; (N=quando número diferente). As medidas de diâmetro se referem ao diâmetro da posição de máximo espessamento do perissarco. \*Informações não disponíveis. \*\*MLP 47 a 55, Blanco (1964); \*\*\*MLP 8536.

Medidas (µm)	RJ (Np=4; Ng=2)	PR (Np=17; Ng=9)	SC (Np=45; Ng=19)	Total (Np=66; Ng=30)	Cornelius (1995)	Vervoort & Watson (2003)	<i>O. caliculata</i> ** (Np=31; Ng=0)	<i>C. integra</i> *** (Np=4; Ng=0)
Comprimento do pólipos	965±46.46 [840-1060]	1731.18±149.34 [600-2520]	1303.78±63.20 [760-2360]	1393.33±63.02 [760-2520]	*	*	1528.71±110.83 [679.61-2686.11]	1587.56±464.89 [900.76-2916.12]
<b>Hidrorriza</b>								
Diâmetro	90±6.12 [75-100]	90.59±2.87 [75-120]	84.89±3.20 [35-125]	86.67±2.34 [35-125]	*	[100-170]	- (material em lâmina)	169.23±19.52 [129.99-219.05]
Espessura do perissarco medial	37.5±3.54 [32.5-47.5]	24.56±1.39 [12.5-40]	39.94±2.04 [10-70]	35.83±1.66 [10-70]	*	*	28.55±4.09 [7.03-64.57]	22.03±3.64 [14.73-31.98]
<b>Pedículo</b>								
Comprimento	627.50±55.43 [470-710]	1120.29±156.05 [190-2000]	895.22±56.97 [480-1970]	936.97±57.37 [190-2000]	até 2000	[740-3280]	1183.16±104.07 [355.07-2649.46]	1204.09±410.07 [451.88-2322.41]
Diâmetro	98.75±1.25 [95-100]	111.76±3.46 [90-145]	93.61±2.95 [62.5-150]	98.60±2.40 [62.5-150]	*	[73-125]	87.01±2 [61.91-106.08]	101.21±10.04 [71.11-130.27]
Espessura do perissarco medial	26.25±1.61 [22.5-30]	11.69±0.72 [8.75-20]	21.03±1.87 [10-82.5]	18.94±1.40 [8.75-82.5]	*	*	8.73±0.58 [3.39-16.73]	15.37±5.31 [8.64-31.18]
Número máximo de sinuosidades	7±1.68 [5-12]	3.88±0.64 [0-12]	8.16±0.62 [3-26]	6.98±0.51 [0-26]	*	*	14.52±0.93 [6-23]	0 [0]
<b>Hidroteca</b>								
Comprimento	275±15.55 [230-300]	438.82±14.56 [340-520]	331.33±7.39 [230-430]	355.61±8.89 [230-520]	[400-550]	[295-390]	348.86±7.94 [235.11-425.26]	288.81±51.28 [179.86-399.32]
Diâmetro na borda	273.75±1.25 [270-275]	383.82±12.40 [325-490]	289.67±4.45 [225-335]	312.95±6.78 [225-490]	[300-350]	[275-350]	269.97±8.77 [105.15-342.91]	440.57±39.31 [337.49-516.48]
Diâmetro na base	158.75±6.88 [145-175]	179.85±4.61 [160-200]	158.94±5.19 [100-325]	164.32±3.90 [100-325]	*	*	155.43±7.39 [108.87-321.21]	213.60±20.97 [177.48-261.27]
Espessura do perissarco medial	28.75±1.25 [25-30]	7.28±0.63 [2.5-12.5]	27.83±1.88 [7.5-52.5]	22.59±1.71 [2.5-52.5]	*	*	8.91±0.69 [4.41-21.7]	28.55±5.89 [16.32-42.35]
<b>Hidrante</b>								
Número de tentáculos	24.25±0.85 [22-26]	33.18±1.20 [24-40]	23.62±0.49 [18-30] (N=34)	26.62±0.76 [18-40] (N=55)	*	*	21.04±0.64 [15-29]	- (material sem hidrante)
<b>Gonoteca</b>								
Comprimento	1145±25 [1120-1170]	1265.56±48.74 [1090-1460]	1172.63±54.63 [640-1520]	1198.67±37.93 [640-1520]	900	1150	-	-
Diâmetro na borda	620±20 [600-640]	737.22±9.76 [690-780]	663.68±34.84 [450-1180]	682.83±23.10 [450-1180]	700	390	-	-
Diâmetro medial (máximo)	600±40 [560-640]	687.22±11.93 [610-730]	666.32±17.41 [510-760]	668.17±12.21 [510-760]	*	615	-	-
Espessura do perissarco medial	30±5 [25-35]	20.56±1 [15-25]	43.82±1.78 [30-60]	35.92±2.29 [15-60]	*	*	-	-
<b>Nematocistos (Hidrante)</b>								
Microbásico mastigóforo tipo A (Comp. X Diam.)	5.27±0.09 [4.5-6]x 1.82±0.04 [1.5-2] (N=30)	5.03±0.05 [4-6]x 1.70±0.05 [1.5-2] (N=30)	5.11±0.08 [4-6]x 1.85±0.06 [1.5-3] (N=40)	4.95±0.10 [4-6]x 1.73±0.04 [1.5-3] (N=100)	*	*	-	-
Microbásico mastigóforo tipo B (Comp. X Diam.)	9.58±0.10 [8-10]x 2.72±0.06 [2.5-3] (N=30)	10.35±0.09 [10-11]x 2.80±0.05 [2.5-3] (N=30)	10.6±0.11 [9-12]x 3.01±0.06 [2-4] (N=40)	9.84±0.20 [8-12]x 2.76±0.06 [2-4] (N=100)	*	*	-	-

Tabela 5. Principais medidas (média±erro padrão [mínimo-máximo]) de *Orthopyxis crenata* e comparações com dados da literatura. Np=número de pólipos medidos; Ng=número de gonotecas medidas; (N=quando número diferente). As medidas de diâmetro se referem ao diâmetro da posição de máximo espessamento do perissarco. \*Informações não disponíveis.

Medidas (µm)	CE (Np=1; Ng=0)	SP (Np=2; Ng=1)	SC (Np=10; Ng=6)	Total (Np=13; Ng=7)	Vervoort & Watson (2003)	Galea <i>et al.</i> (2009)
Comprimento do pólipo	1820	1700±80 [1620-1780]	1044±90.08 [720-1660]	1205.62±105.52 [720-1820]	*	*
<b>Hidrorriza</b>						
Diâmetro	85	75±15 [60-90]	80.50±5.02 [65-105]	80±4.08 [60-105]	[28-110]	*
Espessura do perissarco medial	20	25±5 [20-30]	26.5±3.69 [12.5-42.5]	25.77±2.80 [12.5-42.5]	*	*
<b>Pedículo</b>						
Comprimento	430	1200±140 [1060-1340]	568±100.10 [370-1150]	654.62±99.44 [370-1340]	[740-2130]	[940-2755]
Diâmetro	85	77.5±12.5 [65-90]	93±3 [75-100]	90±3.04 [65-100]	[45-95]	[95-120]
Espessura do perissarco medial	10	13.75±6.25 [7.5-20]	14.5±1.86 [7.5-27.5]	14.04±1.56 [7.5-27.5]	*	*
Número máximo de sinuosidades	20	19.5±2.5 [17-22]	9.10±1.02 [5-15]	11.54±1.47 [5-22]	*	*
<b>Hidroteca</b>						
Comprimento	390	407.5±22.5 [385-430]	355.5±16.34 [300-440]	366.15±13.40 [300-440]	[350-390]	[425-605]
Diâmetro na borda	255	310±5 [305-315]	289.5±10.23 [215-335]	290±8.27 [215-335]	[225-350]	[320-460]
Diâmetro na base	175	155±10 [145-165]	157.25±5.28 [125-170]	158.27±4.24 [125-170]	*	*
Espessura do perissarco medial	8	22.13±3.04 [12.5-26.25]	23.75±1.25 [22.5-25]	21.25±2.49 [8-26.25]	*	*
Número de cúspides	15	12.5±1.5 [11-14]	12±0.45 [9-14]	12.31±0.43 [9-15]	[13-14]	cerca de 12
Altura máxima das cúspides	30	28.75±3.75 [25-32.5]	28.75±1.95 [17.5-37.5]	28.85±1.48 [17.5-37.5]	*	*
<b>Hidrante</b>						
Número de tentáculos	24	26.5±1.5 [25-28]	17.5±1.38 [15-24] (N=6)	22.22±1.66 [15-28]	cerca de 14	*
<b>Gonoteca</b>						
Comprimento	-	1030	913.33±15.42 [850-960]	930±21.16 [850-1030]	870	[1720-2100]
Diâmetro na borda	-	580	630±21.13 [540-690]	622.86±19.24 [540-690]	265	[815-940]
Diâmetro medial (máximo)	-	490	696.67±10.85 [650-730]	667.14±30.92 [490-730]	325	[950-1075]
Espessura do perissarco medial	-	25	18.54±1.14 [15-22.5]	19.46±1.33 [15-25]	*	*
<b>Nematocistos (Hidrante)</b>						
Microbásico mastigóforo tipo A (Comp. X Diam.)	-	5.3±0.15 [5-6]x2±0.07 [1.5-2.5] (N=10)	5.05±0.05 [5-6]x1.83±0.08 [1-2.5] (N=20)	5.13±0.06 [5-6]x1.88±0.06 [1-2.5] (N=30)	*	[5-5.7]x[1.4-1.6]
Microbásico mastigóforo tipo B (Comp. X Diam.)	-	9.5±0.22 [8-10]x2.55±0.16 [2-3] (N=10)	10±0.1 [9-11]x2.88±0.06 [2.5-3.5] (N=20)	9.83±0.11 [8-11]x2.77±0.07 [2-3.5] (N=30)	*	[9.6-12.1]x[2.8-3.7]

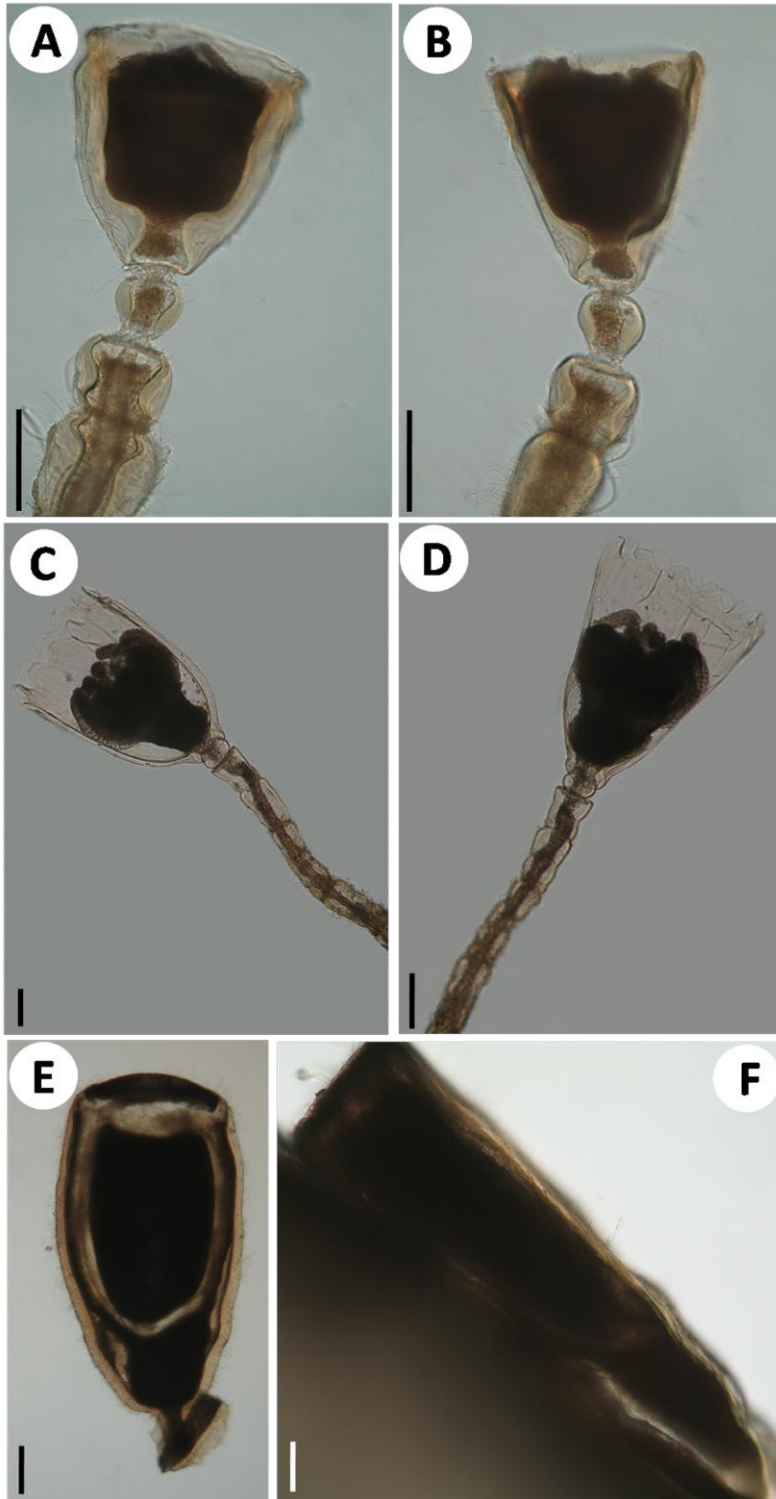


Figura 1. Exemplos da compressão lateral das espécies de *Orthopyxis*. A, B: máximo e mínimo espessamento do perissarco, respectivamente, no pólipo de *O. integra*. C, D: máximo e mínimo espessamento do perissarco, respectivamente, no pólipo de *O. sargassicola*. E, F: máximo e mínimo espessamento do perissarco, respectivamente, na gonoteca de *O. integra*. Escalas: A-D, F=100 $\mu$ m; E=200 $\mu$ m.



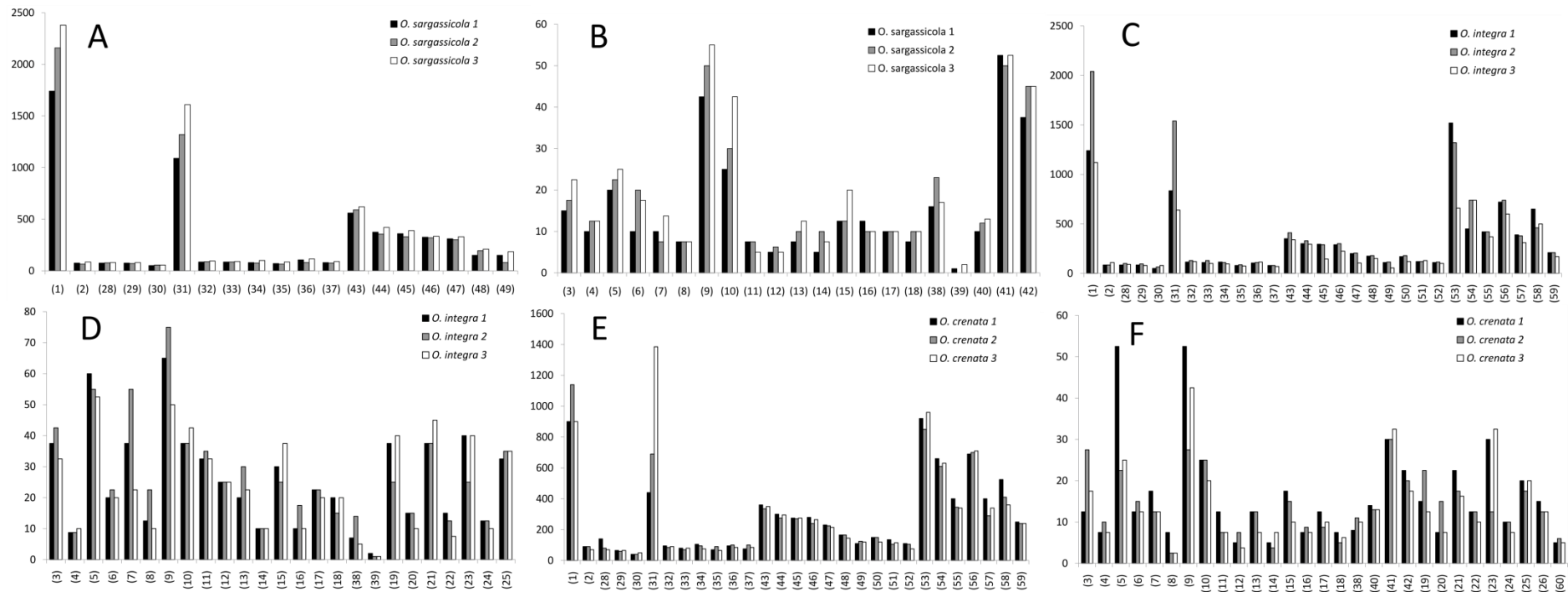


Figura 2. Médias dos parâmetros morfométricos estudados para três pólipos de uma mesma colônia das espécies de *Orthopyxis*. A, B: *O. sargassicola*; C, D: *O. integra*; E, F: *O. crenata*. A, C, E: Medidas de comprimento e diâmetro; B, D, F: Medidas de espessura do perissarco e outros parâmetros morfométricos discretos (número de cúspides, número de sinuosidades do perissarco, etc.). Os números dos parâmetros morfométricos são os apresentados na Tabela 2.

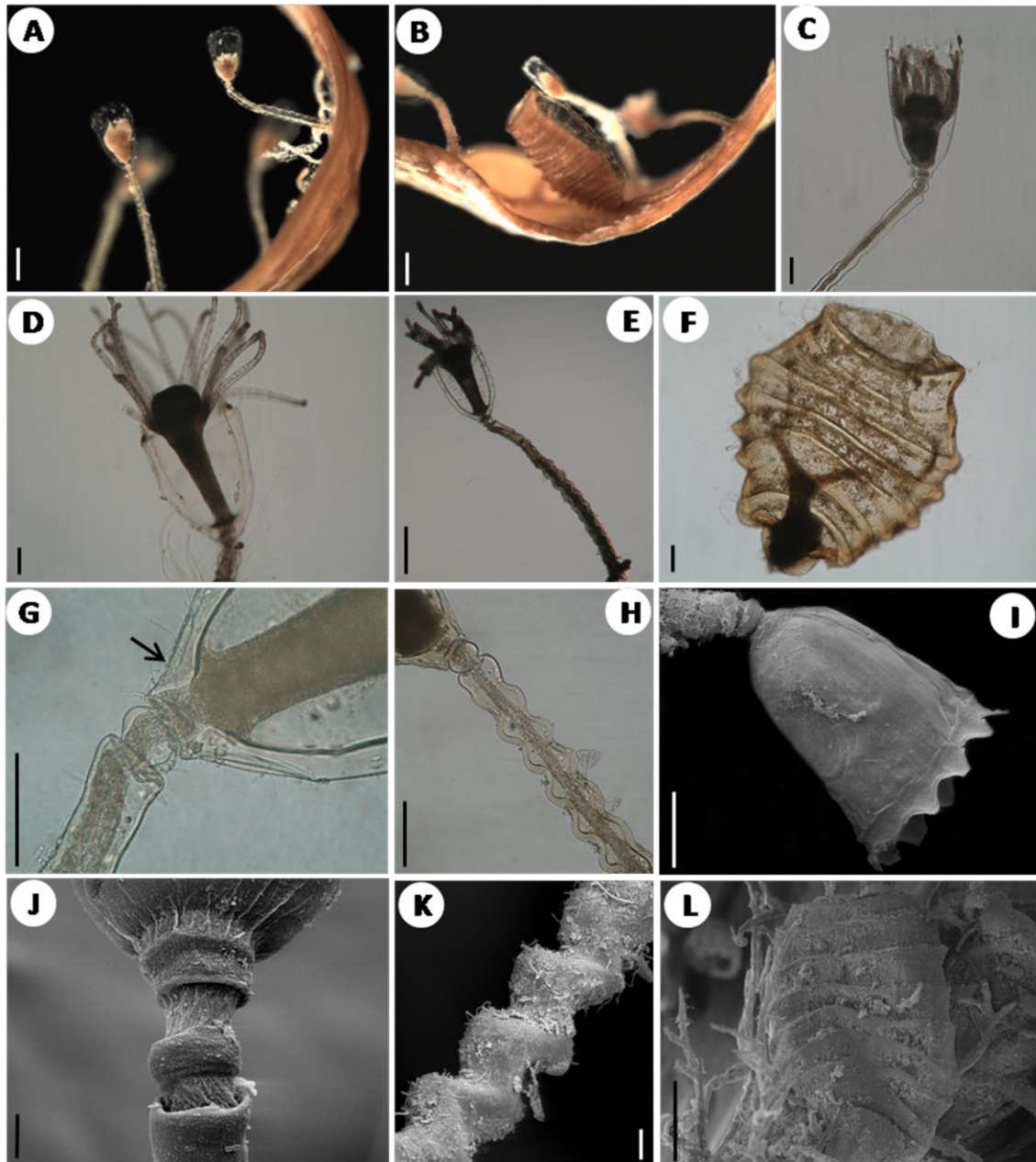


Figura 3. *Orthopyxis sargassicola*. A, B: Colônia (com gonoteca em B) sobre alga do gênero *Sargassum*; C: Espécime do Rio de Janeiro (Paraty), com hidroteca comprida, cúspides altas, perissarco pouco espesso e pedículo praticamente liso; D: Espécime do Espírito Santo (Aracruz) com perissarco da hidroteca bastante espesso; E: Espécime de São Paulo (Ubatuba); F: Gonoteca; G: Detalhe do espessamento na base da hidroteca (seta), frequentemente mencionada em descrições de espécies do gênero; H: Detalhe das sinuosidades do pedículo; I: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostrando a hidroteca, com detalhe das cúspides; J: MEV mostrando a esférula subhidrotecal; K: MEV do pedículo, mostrando as sinuosidades em ziguezague; L: MEV da gonoteca, com detalhes das anelações típicas dessa espécie. Escalas: A, B=300 $\mu$ m; C, D, F-I=100 $\mu$ m; E, L=200 $\mu$ m; J, K=20 $\mu$ m.

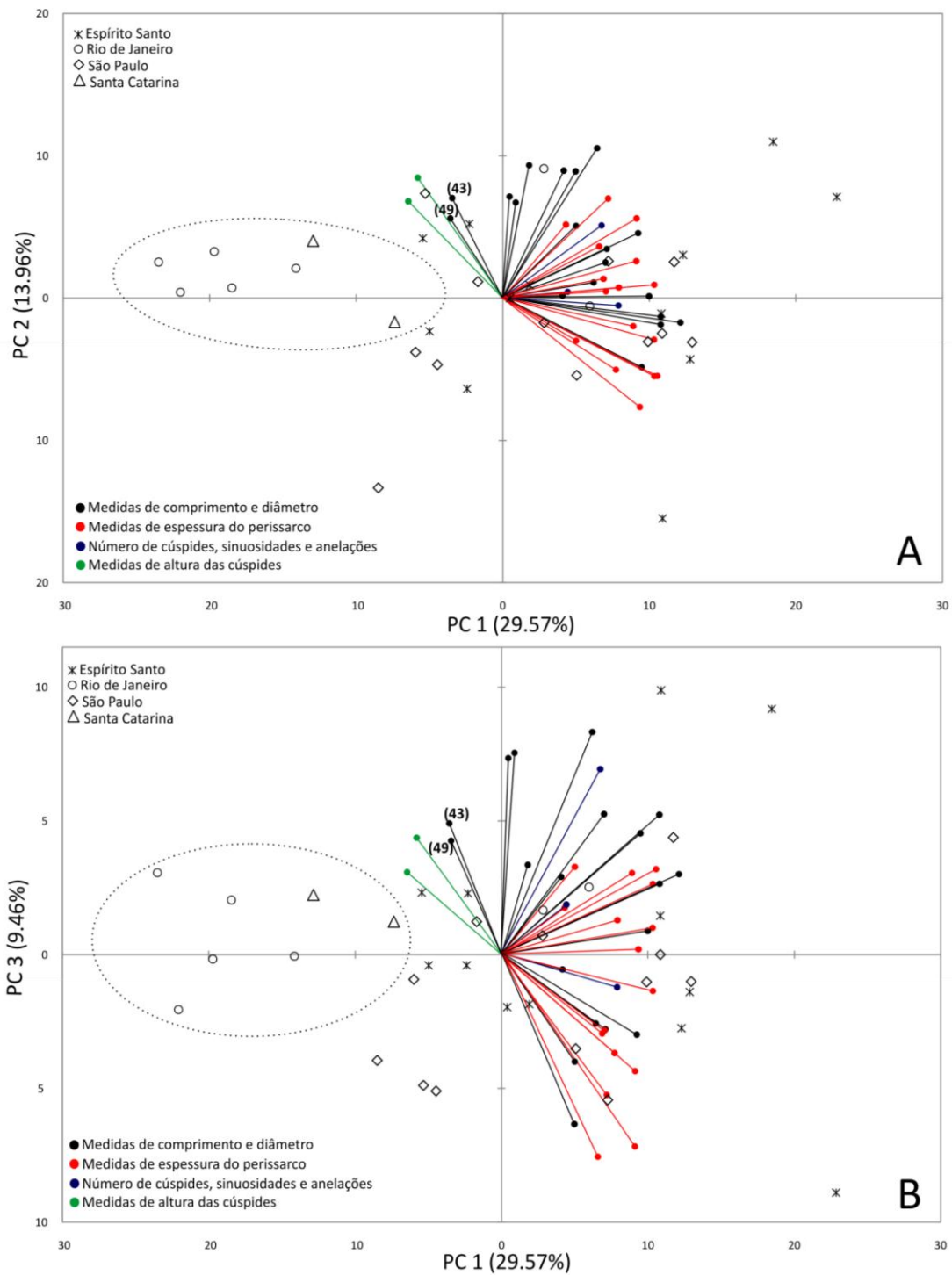


Figura 4. *Biplot* de correlação do primeiro e segundo componentes principais (A) e primeiro e terceiro componentes principais (B) da PCA com as variáveis morfométricas das populações de *Orthopyxis sargassicola* (somente medidas do pólipos). Entre parênteses: porcentagem da variação explicada de cada componente. Os números das variáveis são os apresentados na Tabela 2.

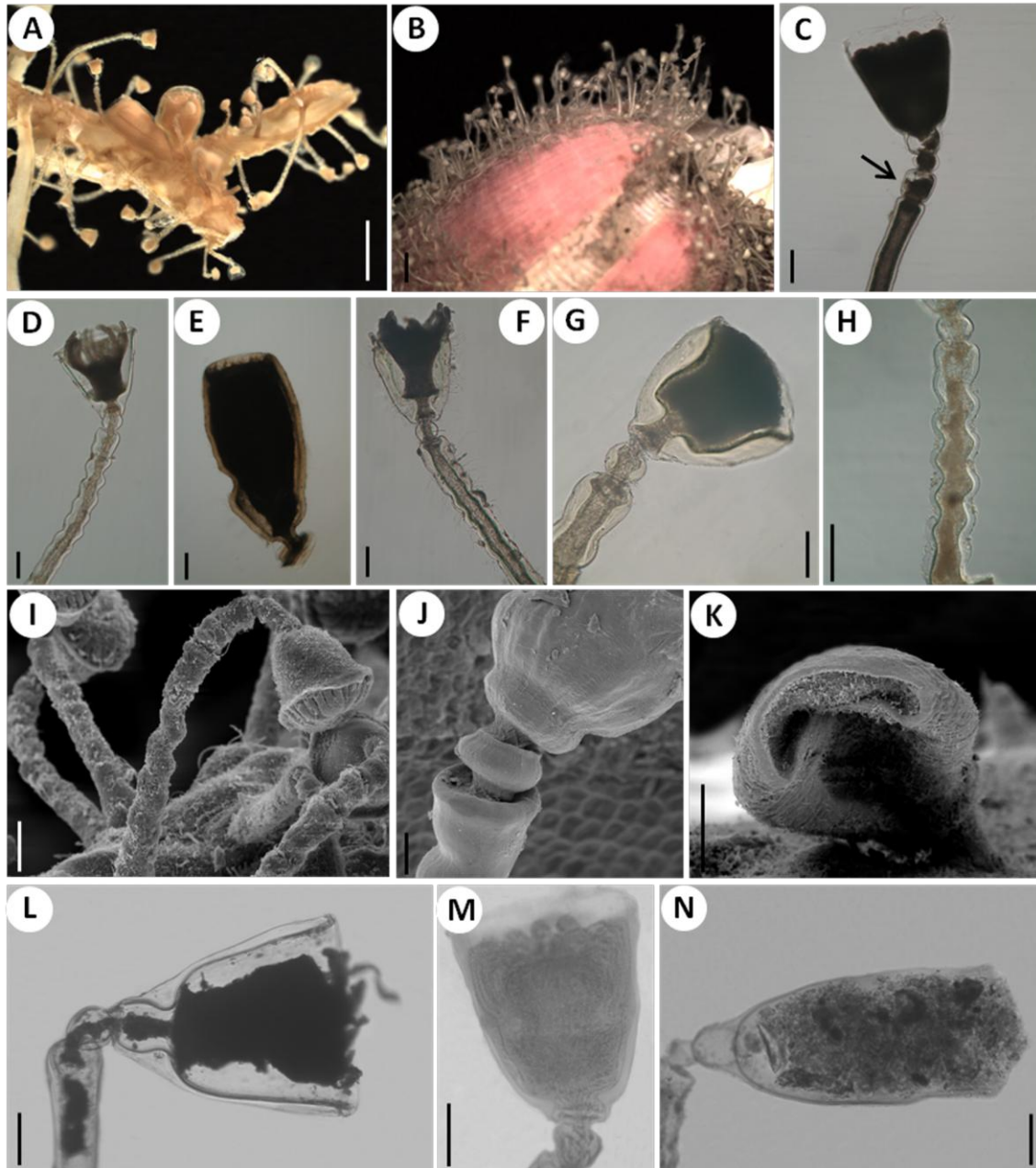


Figura 5. *Orthopyxis integra*. A, B: Colônia (com gonotecas) sobre alga (A) e cirripédio (B); C: Espécime do Paraná (Ilha do Mel), com perissarco pouco espesso e pedículo sem sinuosidades, mas com uma constrição do perissarco (seta); D: Espécime de Santa Catarina (Penha); E: Gonoteca; F: Espécime do Rio de Janeiro (Paraty), com perissarco espesso; G: Detalhe da hidroteca e espessura do perissarco de um espécime de Santa Catarina (Bombinhas); H: Detalhe das sinuosidades do pedículo; I: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do pólipo de espécimes de Santa Catarina (Bombinhas); J: MEV, com detalhe da esférula subhidrotecal; K: MEV mostrando compressão lateral da gonoteca; L-N: Exemplos da coleção do Museo de La Plata. L: *Campanularia integra* (MLP8536); M: *Orthopyxis caliculata* (MLP55); N: *Campanularia integra* (MLP41). Escalas: A, B=1mm; C, D, F-I, K, M, N=100 $\mu$ m; E, L=200 $\mu$ m; J=20 $\mu$ m.



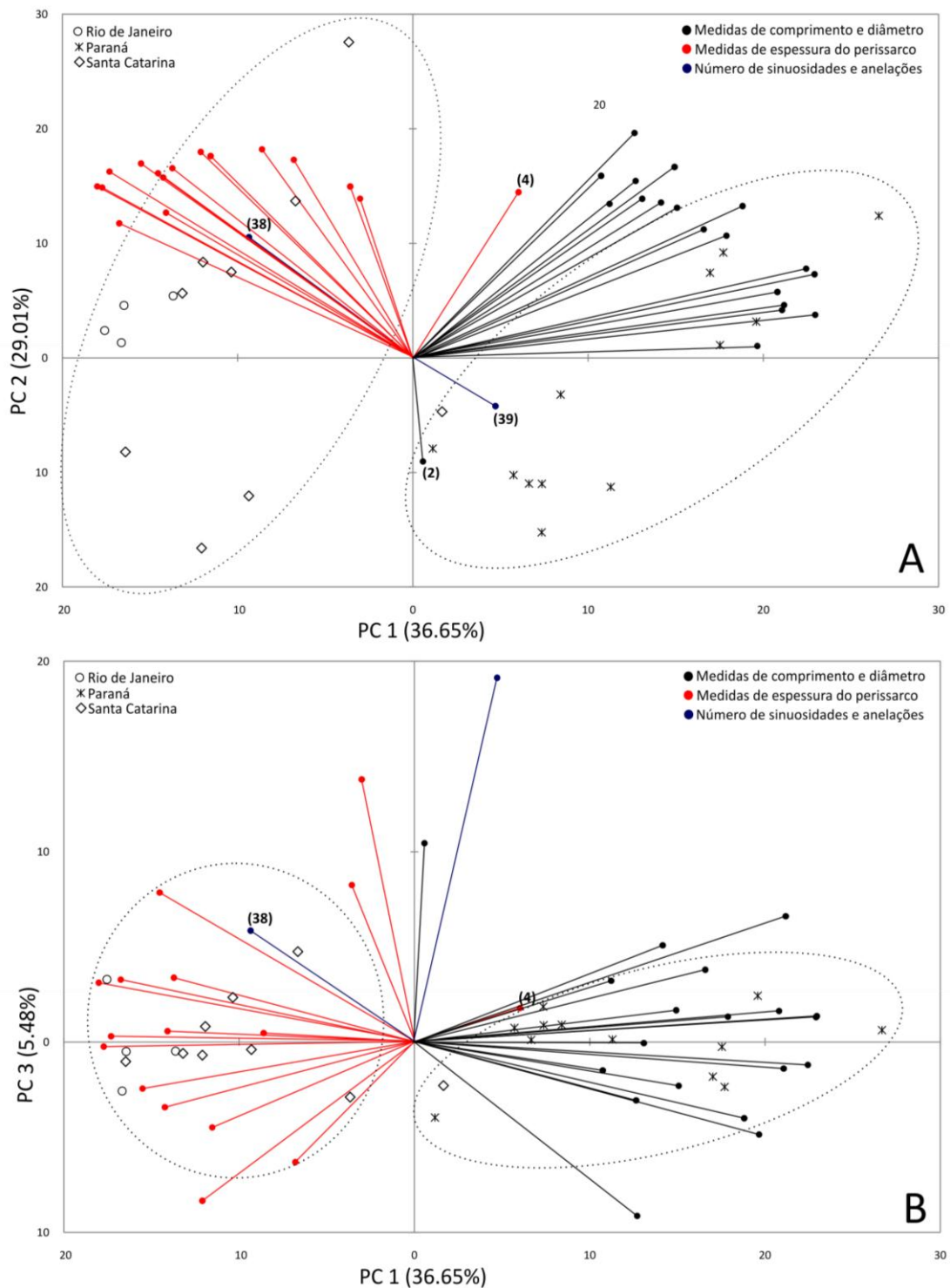


Figura 6. *Biplot* de correlação do primeiro e segundo componentes principais (A) e primeiro e terceiro componentes principais (B) da PCA com as variáveis morfométricas das populações de *Orthopyxis integra* (somente medidas do pólipó). Entre parênteses: porcentagem da variação explicada de cada componente. Os números das variáveis são os apresentados na Tabela 2.

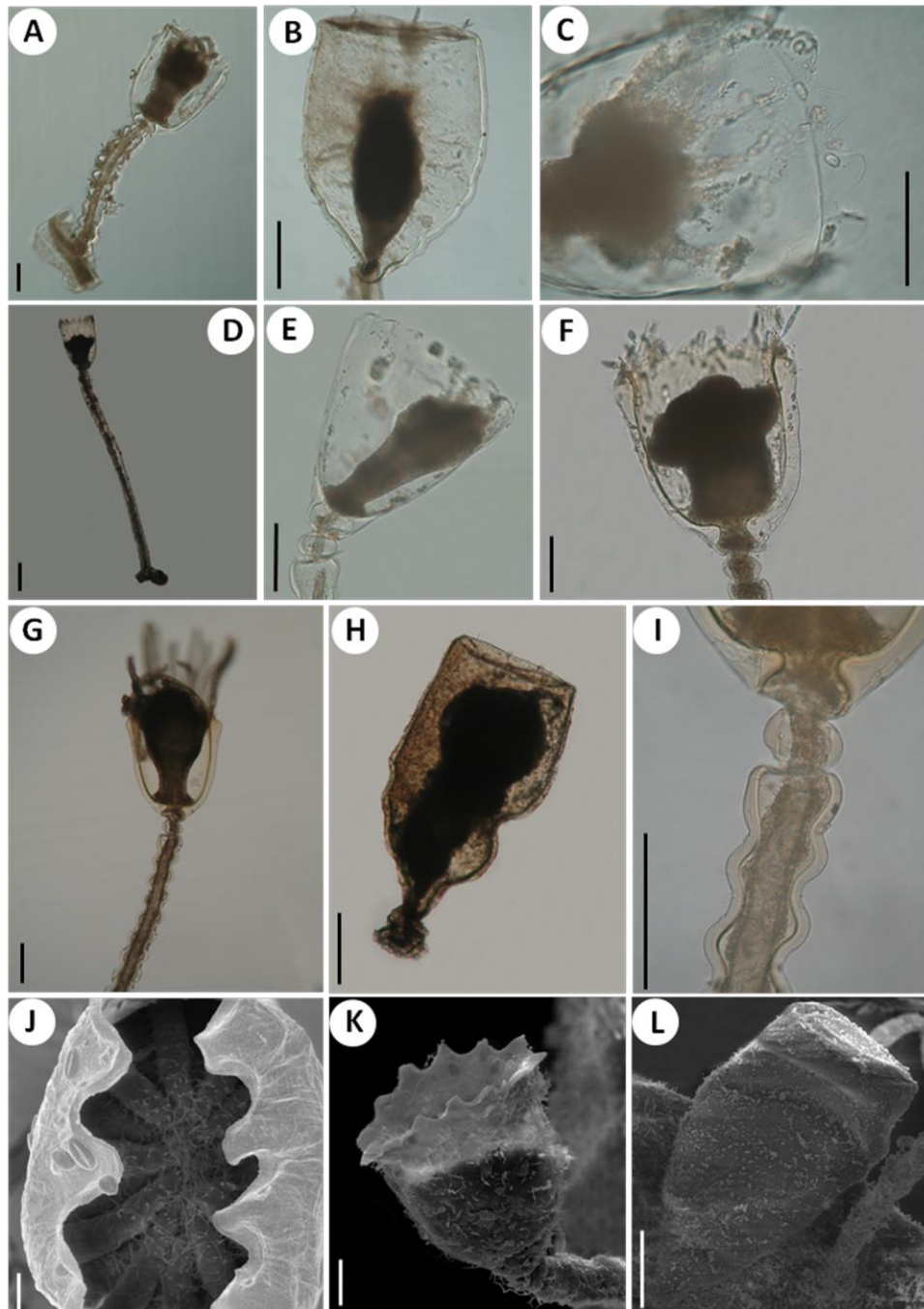


Figura 7. *Orthopyxis crenata*. A: Espécime de Santa Catarina (Penha), mostrando o pequeno comprimento do pólip; B: Gonoteca de espécimes de Santa Catarina; C: Detalhe das cúspides da hidroteca de um espécime de Santa Catarina; D: Espécime do Ceará, mostrando o maior comprimento do pólip; E: Hidroteca de um espécime de Santa Catarina na posição de mínimo espessamento do perissarco; F: Hidroteca de um espécime de São Paulo (Ubatuba); G: Espécime de São Paulo; H: Gonoteca de um espécime de São Paulo; I: Detalhe da base da hidroteca, esférula subhidrotecal e sinuosidades do pedículo; J: Microscopia Eletrônica de Varredura com detalhe das cúspides da hidroteca; K: MEV, com detalhe da hidroteca (note a pouca variabilidade no seu comprimento) e das cúspides; L: MEV da gonoteca, note a ausência de anelações, o que diferencia essa espécie de *O. sargassicola*.

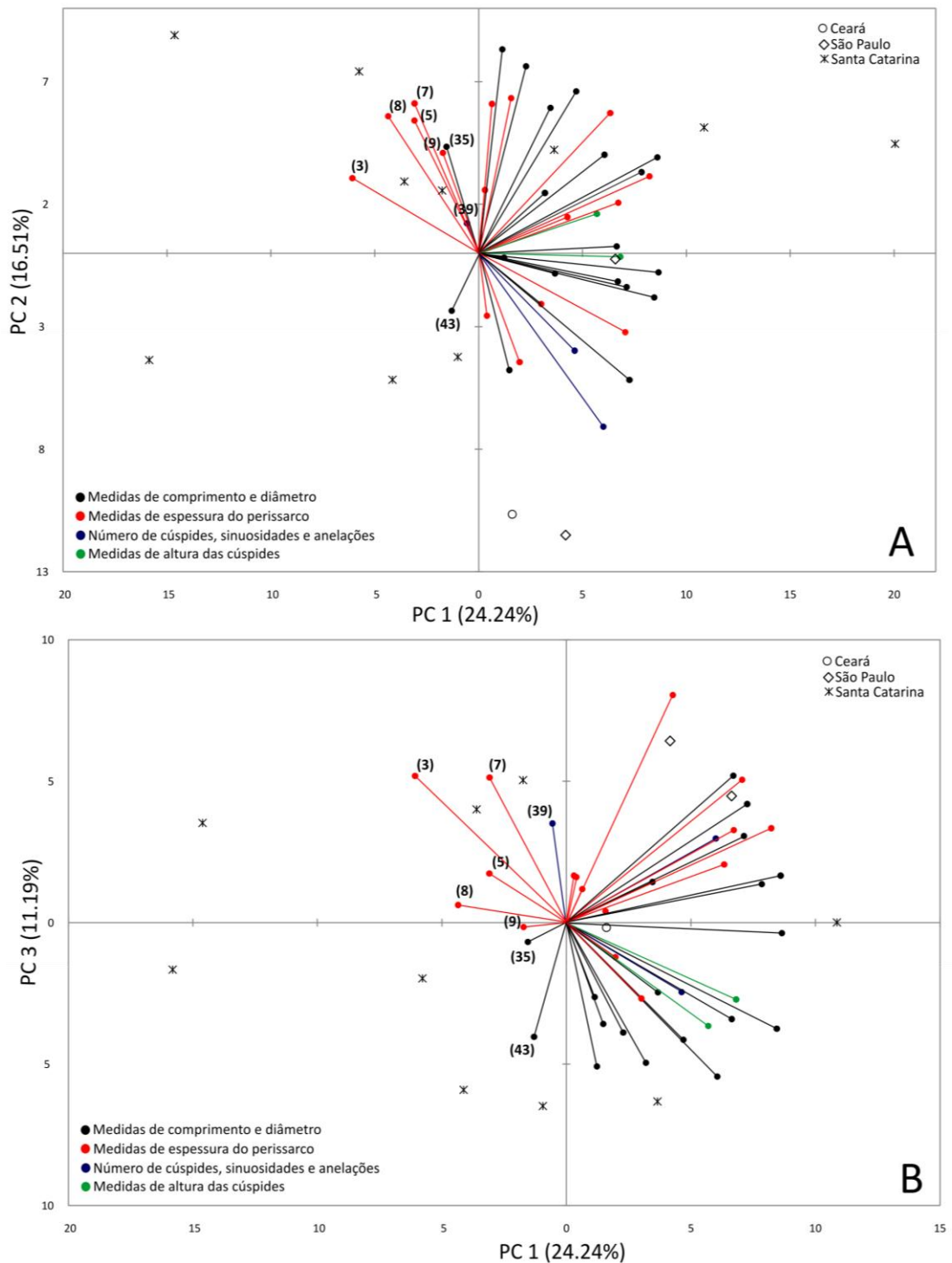


Figura 8. *Biplot* de correlação do primeiro e segundo componentes principais (A) e primeiro e terceiro componentes principais (B) da PCA com as variáveis morfométricas das populações de *Orthopyxis crenata* (somente medidas do pólipó). Entre parênteses: porcentagem da variação explicada de cada componente. Os números das variáveis são os apresentados na Tabela 2.

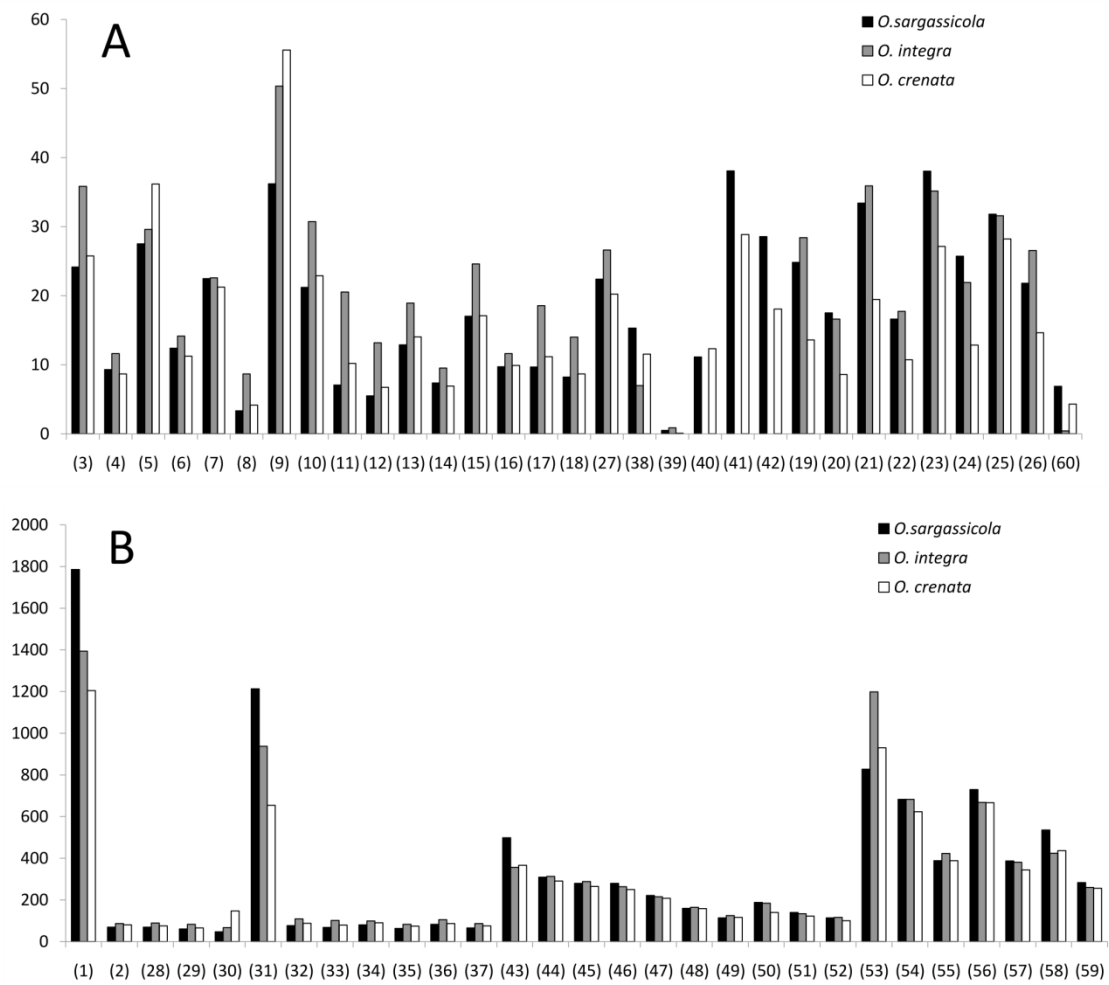


Figura 9. Médias dos parâmetros morfométricos das espécies *Orthopyxis sargassicola*, *O. integra* e *O. crenata*. A: Medidas de comprimento e diâmetro; B: Medidas de espessura do perissarco e outros parâmetros morfométricos discretos (número de cúspides, número de sinuosidades do perissarco, etc.). Os números dos parâmetros morfométricos são os apresentados na Tabela 2.



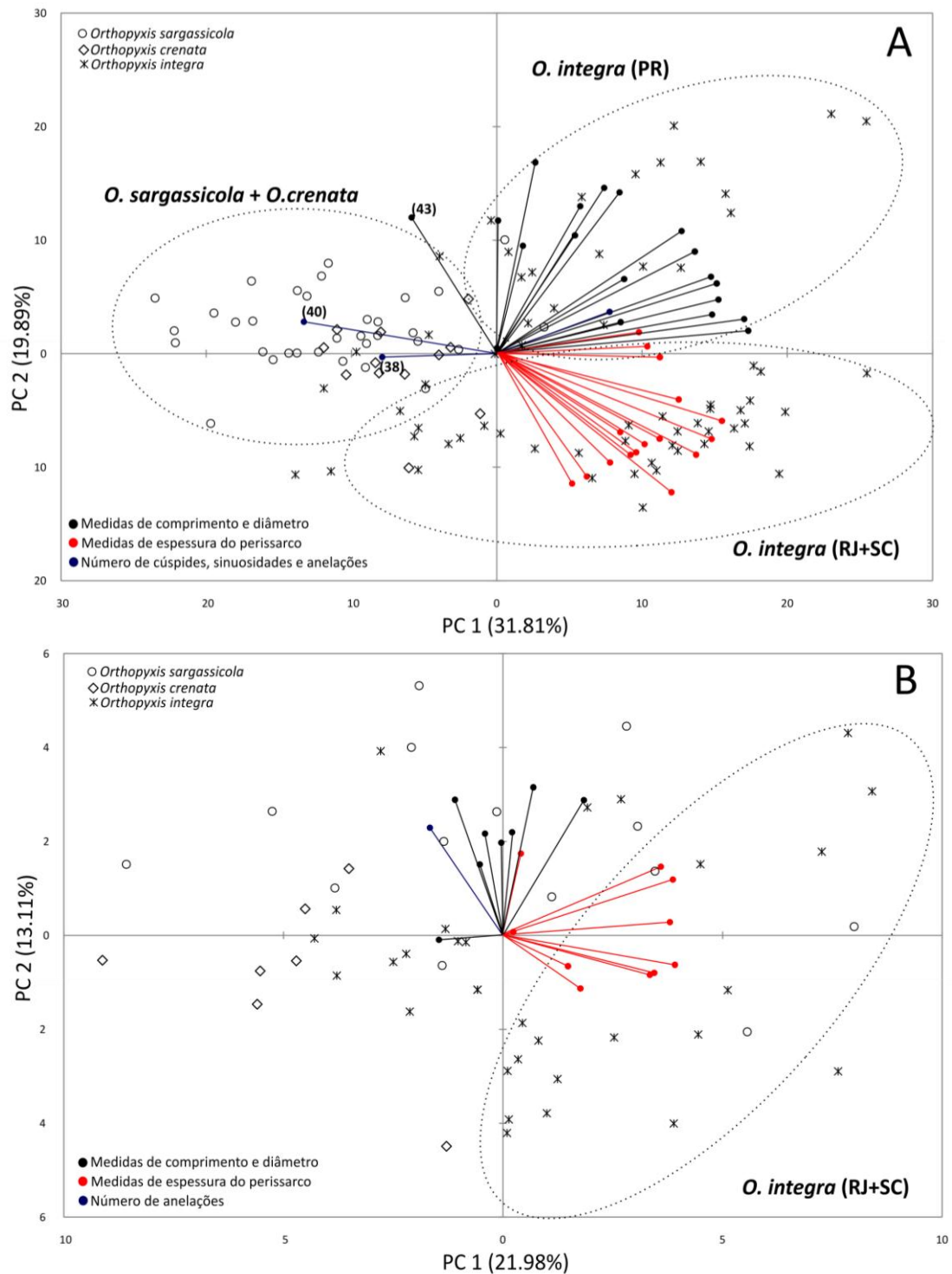


Figura 10. *Biplots* de correlação do primeiro e segundo componentes principais das PCAs com as variáveis morfométricas das espécies *Orthopyxis sargassicola*, *O. integra* e *O. crenata*. A: variáveis morfométricas do pólip; B: variáveis morfométricas da gonoteca. Entre parênteses: porcentagem da variação explicada de cada componente. Os números das variáveis são os apresentados na Tabela 2.

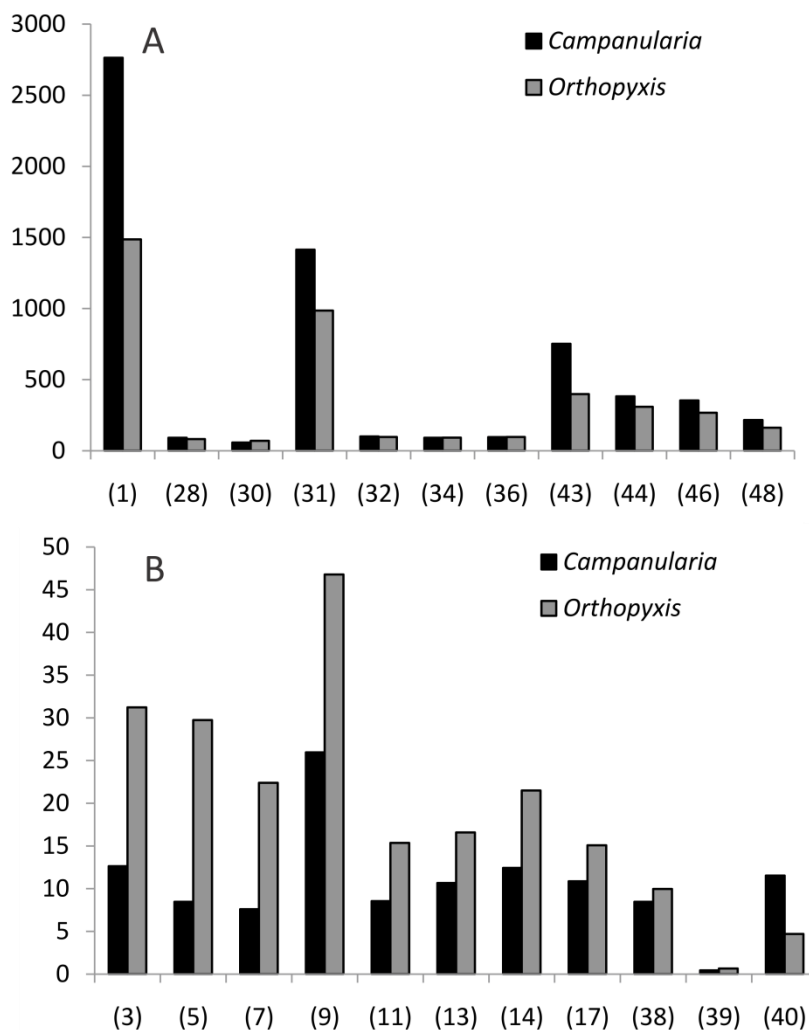


Figura 11. Média dos parâmetros morfométricos das espécies de *Campanularia* e *Orthopyxis*. A: Medidas de comprimento e diâmetro; B: Medidas de espessura do perissarco e outros parâmetros morfométricos discretos (número de cúspides, número de sinuosidades do perissarco, etc.). Os números dos parâmetros morfométricos são os apresentados na Tabela 2.

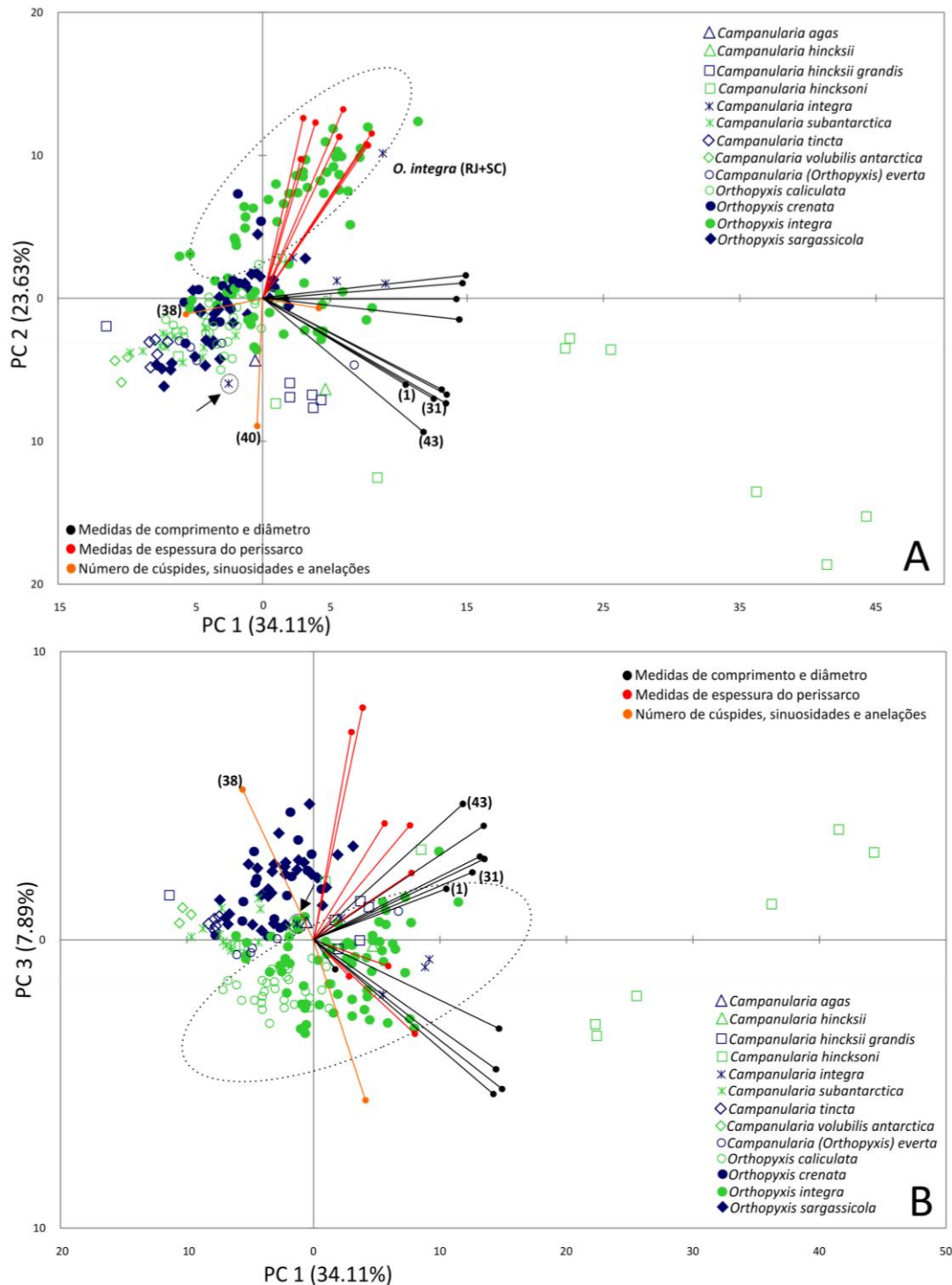


Figura 12. *Biplot* de correlação do primeiro e segundo componentes principais (A) e primeiro e terceiro componentes principais (B) da PCA com as variáveis morfométricas das espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia* (somente medidas do pólipos). Entre parênteses: porcentagem da variação explicada de cada componente. Seta: indica a espécie *C. integra* (MLP 41) identificada por Blanco (1964). Os números das variáveis são os apresentados na Tabela 2.

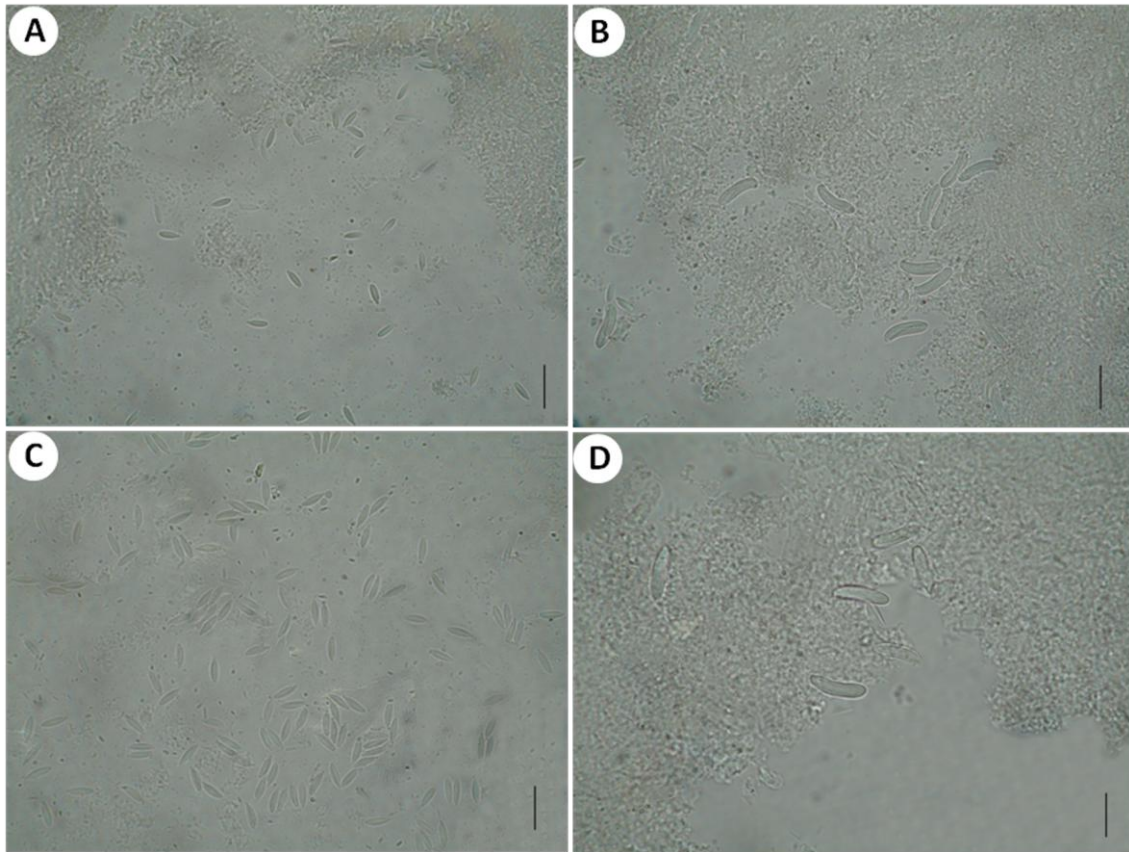


Figura 13. Nematocistos do tipo microbásico mastigóforo A e B das espécies de *Orthopyxis* e *Campanularia*. A, B: microbásico mastigóforo tipo A (A) e tipo B (B) de *O. integra*; C, D: microbásico mastigóforo tipo A (C) de *C. agas* e tipo B (D) de *C. subantarctica*. Escalas: 10µm.

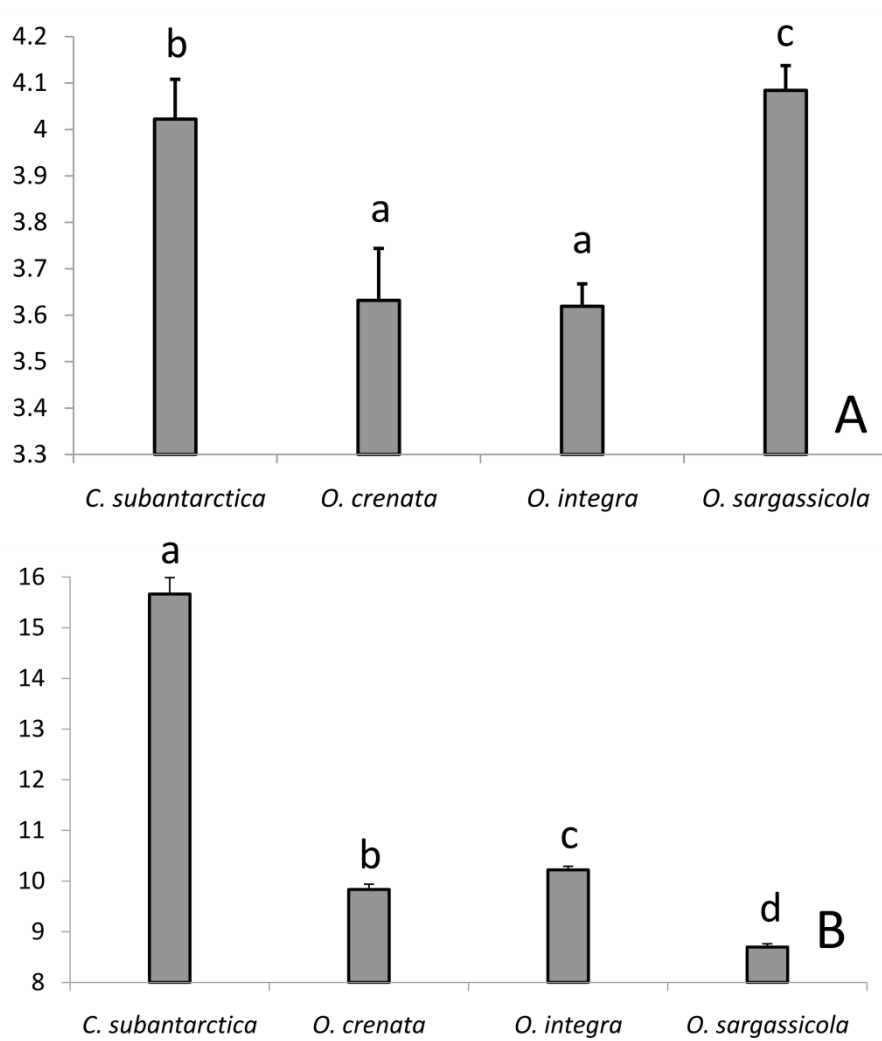


Figura 14. Média±erro padrão da razão comprimento/diâmetro (A) e do comprimento (B) dos nematocistos do tipo microbásico mastigóforo B. Medidas estão em micrômetros. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo demonstrou que as dificuldades taxonômicas na identificação das espécies de *Orthopyxis* ocorrem também para o Atlântico sul-ocidental, ocasionando muitos registros de espécies nominais e confusões taxonômicas com o gênero *Campanularia* (Vannucci-Mendes, 1946, Vannucci, 1949, 1951, 1954; Blanco, 1964, 1967, 1976, 1994; Genzano & Zamponi, 1997). Isso justifica dúvidas expressas na reidentificação desses registros (Migotto, 1996; Migotto *et al.* 2002; Genzano *et al.*, 2009; Galea *et al.*, 2009; Miranda *et al.* 2011).

Demonstramos a importância de uma abordagem integrada entre morfologia e moléculas para a delimitação das espécies de *Orthopyxis*. Os caracteres morfológicos utilizados para a diagnose das espécies não eram bem delimitados, especialmente em vista da variabilidade morfológica de suas linhagens. Desta forma, informações providas pelas sequências de DNA mostraram-se importantes para a taxonomia do grupo. A partir das linhagens delimitadas molecularmente, avaliamos a amplitude de variação dos caracteres morfológicos das espécies, determinando aqueles relevantes em suas diagnoses, em um processo análogo ao de taxonomia reversa (e.g., Markmann & Tautz, 2005). De fato, abordagens conjuntas entre morfologia e molecular, como uma forma de “taxonomia integrativa” (Will *et al.*, 2005; Meier, 2008) são úteis na delimitação interespecífica de vários grupos com morfologia variável (e.g., Stefani *et al.*, 2008a, 2008b; Benzoni *et al.*, 2010; Budd *et al.*, 2010; Hou & Li, 2010).

As análises moleculares definiram linhagens referentes às espécies *Orthopyxis integra*, *Orthopyxis sargassicola*, *Campanularia subantarctica*, além de um novo registro para a região, *Orthopyxis crenata*. Com o estudo morfológico das espécies de *Orthopyxis* e comparações com *Campanularia*, as seguintes evidências morfológicas foram encontradas para corroborar essas linhagens: 1. *Orthopyxis integra*: ausência de cúspides na hidroteca e morfologia geral das gonotecas; 2. *Orthopyxis sargassicola*: presença de anelações na gonoteca e formato da hidroteca (pode ser tubular em alguns casos); 3. *Orthopyxis crenata*: ausência de anelações na gonoteca e formato da hidroteca em campânula (mas com altura das cúspides variável); 4. *Campanularia subantarctica*: comprimento dos nematocistos microbásicos mastigóforos tipo B. Outras características como espessura do perissarco e comprimento e diâmetro de várias partes do pólipó

parecem ser importantes para diferenciar os gêneros, mas um maior número de espécies de *Campanularia* deve ser estudado para testar essas hipóteses.

Em termos de história natural, *O. integra* resultou em duas linhagens relativamente distantes que ocorreram, independentemente, sobre algas e sobre calcários (conchas de mexilhões e cracas). As análises morfométricas corroboraram diferenças entre estas populações que ocorreram em cada grupo de substratos, sendo as populações epifíticas caracterizadas por pólipos menores, perissarco mais espesso e maior número de sinuosidades no pedículo em relação às populações epizoicas. A diferenciação genética e morfológica de populações de *O. integra* que ocorreram em substratos diferentes chama a atenção para a importância desse fator na distribuição e ocorrência de hidroides bentônicos (cf., Calder, 1991; Genzano & Rodríguez, 1998), particularmente para espécies de *Orthopyxis*.

A diferenciação genética e morfológica das duas linhagens de *O. integra* também sugere a possibilidade de se tratar de espécies crípticas, como já foi sugerido para espécimes de *O. integra* de outras localidades (Govindarajan *et al.*, 2006). Apesar disso, as características morfológicas que diferenciam as duas linhagens (espessura do perissarco, tamanho do pólipo e número de sinuosidades no pedículo) se mostraram muito variáveis, inclusive entre pólipos de uma mesma colônia. Essas características, portanto, parecem não ser adequadas para a delimitação de duas linhagens distintas. Além disso, as duas linhagens apresentaram os caracteres definidos neste estudo como diagnósticos de *O. integra*, a borda da hidoteca lisa e gonoteca típica da espécie. Mais estudos com essa espécie, que envolvam comparações com materiais de outras localidades, poderão ajudar a esclarecer os limites entre suas linhagens.

Este estudo também evidencia a importância de se investigar a morfologia das espécies por meio da morfometria, não somente comparando-se espécies diferentes, mas populações de uma mesma espécie e, no caso de organismos coloniais, os pólipos (ou módulos) de uma mesma colônia. Essa abordagem permitiu a determinação da amplitude de variação dos caracteres morfológicos em *Orthopyxis* e a definição daqueles que são informativos para a delimitação das espécies. Além disso, a importância do estudo do cnidoma na taxonomia de Campanulariidae foi reiterada, como já demonstrado para outros gêneros (e.g., Östman, 1982; Lindner & Migotto, 2002). Apresentamos esta abordagem como um modelo para o delineamento de espécies em outros estudos com a família Campanulariidae. Paralelamente, há potencial para se

investigar uma biodiversidade ainda oculta de espécies crípticas, melhorando nossa capacidade de compreender a diversificação no grupo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benzoni, F.; F. Stefani; M. Pichon & P. Galli. 2010. The name game: morpho-molecular species boundaries in the genus *Psammocora* (Cnidaria, Scleractinia). *Zoological Journal of the Linnean Society* 160: 421-456.
- Blanco, O.M. 1964. Algunos Campanularidos argentinos. *Revista del Museo de La Plata* 7: 149-171.
- Blanco, O.M. 1967. Contribución al conocimiento de los hidrozorios argentinos. *Revista del Museo de La Plata* 9: 243-297.
- Blanco, O.M. 1976. Hidrozoos de la expedición "Walther Herwig". *Revista del Museo de La Plata* 12: 27-74.
- Blanco, O.M. 1994. Enumeración sistemática y distribución geográfica preliminar de los hidroides de la República Argentina, Suborden Athecata (Gymnoblastera, Anthomedusae), Thecata (Calyptoblastera, Leptomedusae) y Limnomedusae. *Revista del Museo de La Plata* 14: 181-216.
- Budd, A.F.; S.L. Romano; N.D. Smith & M.S. Barbeitos. 2010. Rethinking the phylogeny of scleractinian corals: a review of morphological and molecular data. *Integrative and Comparative Biology*, 50(3): 411-427.
- Calder, D.R. 1991. Associations between hydroid species assemblages and substrates types in the mangal at Twin Cays, Belize. *Canadian Journal of Zoology* 69: 2067-2074.
- Galea, H.R.; V. Häussermann & G. Försterra. 2009. New additions to the hydroids (Cnidaria: Hydrozoa) from the fjords region of southern Chile. *Zootaxa* 2019: 1-28.
- Genzano, G.N. & M.O. Zamponi. 1997. Frecuencia de estudio y diversidad de los hidrozorios bentónicos de la plataforma continental argentina. *Ciencias Marinas* 23(3): 285-302.
- Genzano, G.N. & G.M. Rodriguez. 1998. Association between hydroid species and their substrates from the intertidal zone of Mar del Plata (Argentina). *Miscelània Zoològica* 21(1): 21-29.



- Cunha, A.F. 2011. O gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental. CONSID. FINAIS
- Genzano, G.N.; D. Giberto; L. Schejter; C. Bremec & P. Meretta. 2009. Hydroid assemblages from the Southwestern Atlantic Ocean (34-42°S). *Marine Ecology* 30: 33-46.
- Govindarajan, A.F.; F. Boero & K.M. Halanych. 2006. Phylogenetic analysis with multiple markers indicates repeated loss of the adult medusa stage in Campanulariidae (Hydrozoa, Cnidaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 820-834.
- Hou, Z. & S. Li. 2010. Intraspecific or interspecific variation: delimitation of species boundaries within the genus *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda, Gammaridae), with description of four new species. *Zoological Journal of the Linnean Society* 160: 215-253.
- Lindner, A. & A.E. Migotto. 2002. The life cycle of *Clytia linearis* and *Clytia noliformis*: metagenic campanulariids (Cnidaria: Hydrozoa) with contrasting polyp and medusa stages. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82: 541-553.
- Markamann, M. & D. Tautz. 2005. Reverse taxonomy: an approach towards determining the diversity of meiobenthic organisms based on ribosomal RNA signature sequences. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 360(1462): 1917-1924.
- Meier, R. 2008. DNA sequences in taxonomy: opportunities and challenges, pp. 95-127. In: Q. D. Wheeler. (Ed). *The New Taxonomy*. The Systematics Association Special Volume, Series 76, Arizona State University, Tempe, CRC Press, USA.
- Migotto, A.E. 1996. Benthic shallow-water hydroids (Cnidaria, hydrozoa) of the coast of São Sebastião, Brazil, including a checklist of Brazilian hydroids. *Zoologische Verhandelingen* 306: 1-125.
- Migotto, A.E.; A. C. Marques; A.C. Morandini & F. L. Silveira. 2002. Checklist of the Cnidaria Medusozoa of Brazil. *Biota Neotropica* 2(1):1-31.
- Miranda, T.P.; M.A. Haddad; V. Shimabukuro; J. Dubiaski-Silva & A.C. Marques. 2011. Fauna de hidroides (Cnidaria, Hydrozoa) da região de Bombinhas, Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica*, no prelo.
- Östman, C. 1982. Nematocysts and taxonomy in *Laomedea*, *Gonothyrea* and *Obelia* (Hydrozoa, Campanulariidae). *Zoologica Scripta* 11(4): 227-241.

- Cunha, A.F. 2011. O gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental. CONSID. FINAIS
- Stefani, F.; F. Benzoni; M. Pichon; C. Cancelliere & P. Galli. 2008a. A multidisciplinary approach to the definition of species boundaries in branching species of the coral genus *Psammocora* (Cnidaria, Scleractinia). *Zoologica Scripta* 37: 71-91.
- Stefani, F.; F. Benzoni; M. Pichon; G. Mitta & P. Galli. 2008b. Genetic and morphometric evidence for unresolved species boundaries in the coral genus *Psammocora* (Cnidaria; Scleractinia). *Hydrobiologia* 596: 153-172.
- Vannucci, M. 1949. Hydrozoa do Brasil. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 99(14): 219-266.
- Vannucci, M. 1951. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Paulista de Oceanografia. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 2: 69-99.
- Vannucci, M. 1954. Hydrozoa e Scyphozoa existentes no Instituto Oceanográfico. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 5: 95-149.
- Vannucci-Mendes, M. 1946. Hydroida Thecophora do Brasil. *Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo* 4(14): 535-598.
- Will, K.W.; B.D. Mishler & Q.D. Wheeler. 2005. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Systematic Biology* 54: 844-851.

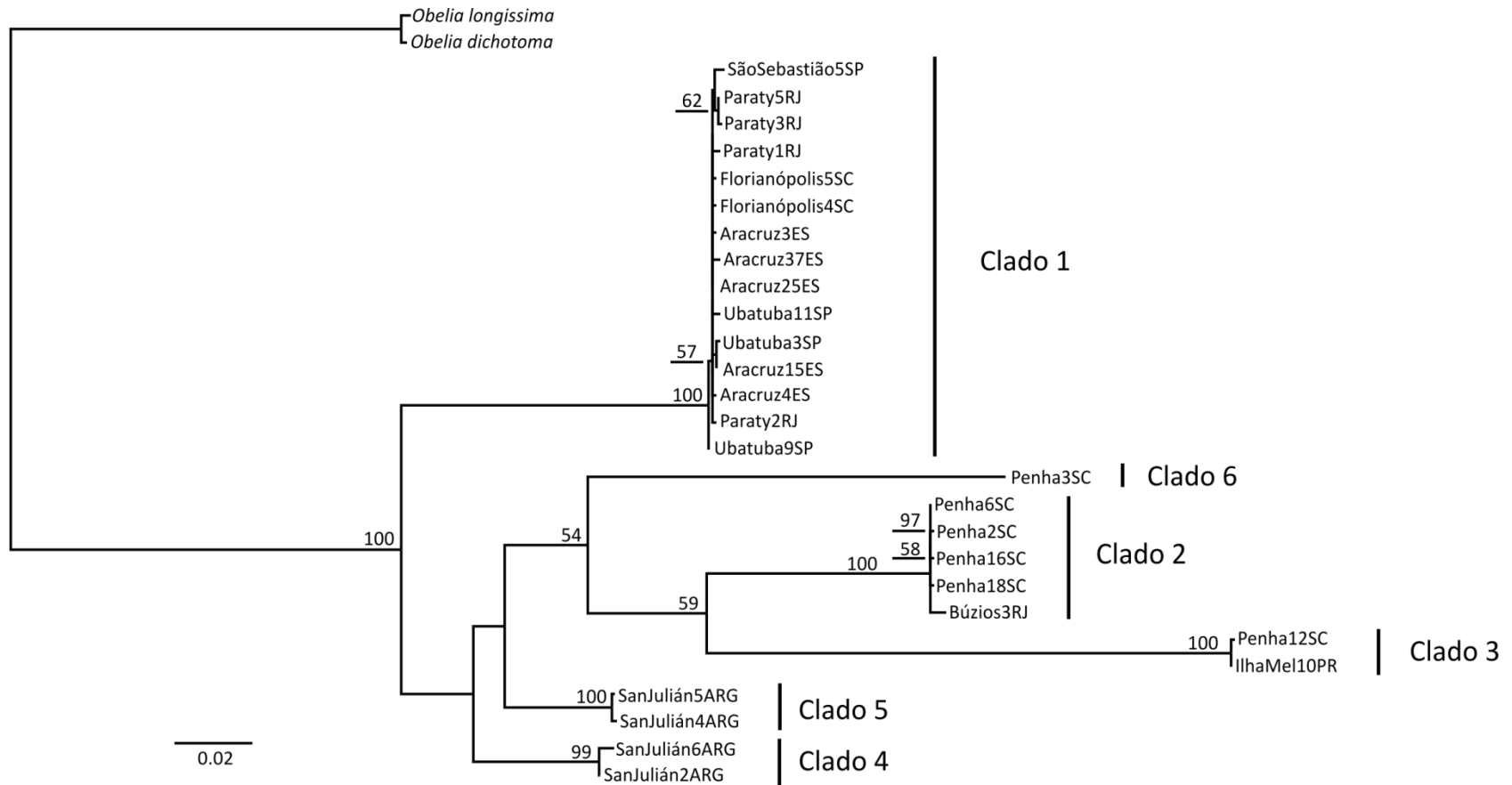
## RESUMO

Dentre os representantes de Campanulariidae, o gênero *Orthopyxis* é conhecido pela ampla plasticidade morfológica de suas espécies, bem como pela semelhança com o gênero *Campanularia*. Essas características levaram à descrição de muitas espécies nominais no Atlântico sul-ocidental e confusões com o gênero *Campanularia*, dificultando a identificação das espécies. Nesse contexto, este estudo teve os objetivos de (1) rever as ocorrências de *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental, (2) compreender a variação morfológica intra-específica de *Orthopyxis* e delimitar suas espécies por meio de estudo morfométrico e molecular, e (3) compreender as relações entre os gêneros *Orthopyxis* e *Campanularia* no Atlântico sul-ocidental, levantando evidências morfológicas e moleculares que pudessem delimitá-los. A análise das sequências de DNA resultou no monofiletismo do gênero *Orthopyxis* e na delimitação das espécies *O. sargassicola*, *O. integra* e *O. crenata*, esta última um novo registro para o Atlântico sul-ocidental. As análises morfológicas permitiram identificar os caracteres informativos para a delimitação dessas linhagens, bem como a amplitude de variação dos caracteres morfológicos frequentemente utilizados para diagnose das espécies de *Orthopyxis*. Esse estudo aponta evidências morfológicas informativas para a delimitação dos gêneros, principalmente em relação ao cnidoma. O presente estudo do gênero *Orthopyxis* no Atlântico sul-ocidental poderá servir como modelo para o delineamento de outras pesquisas envolvendo a família Campanulariidae, ao mostrar que as espécies podem ser corretamente delimitadas a partir de análises morfológicas e moleculares.

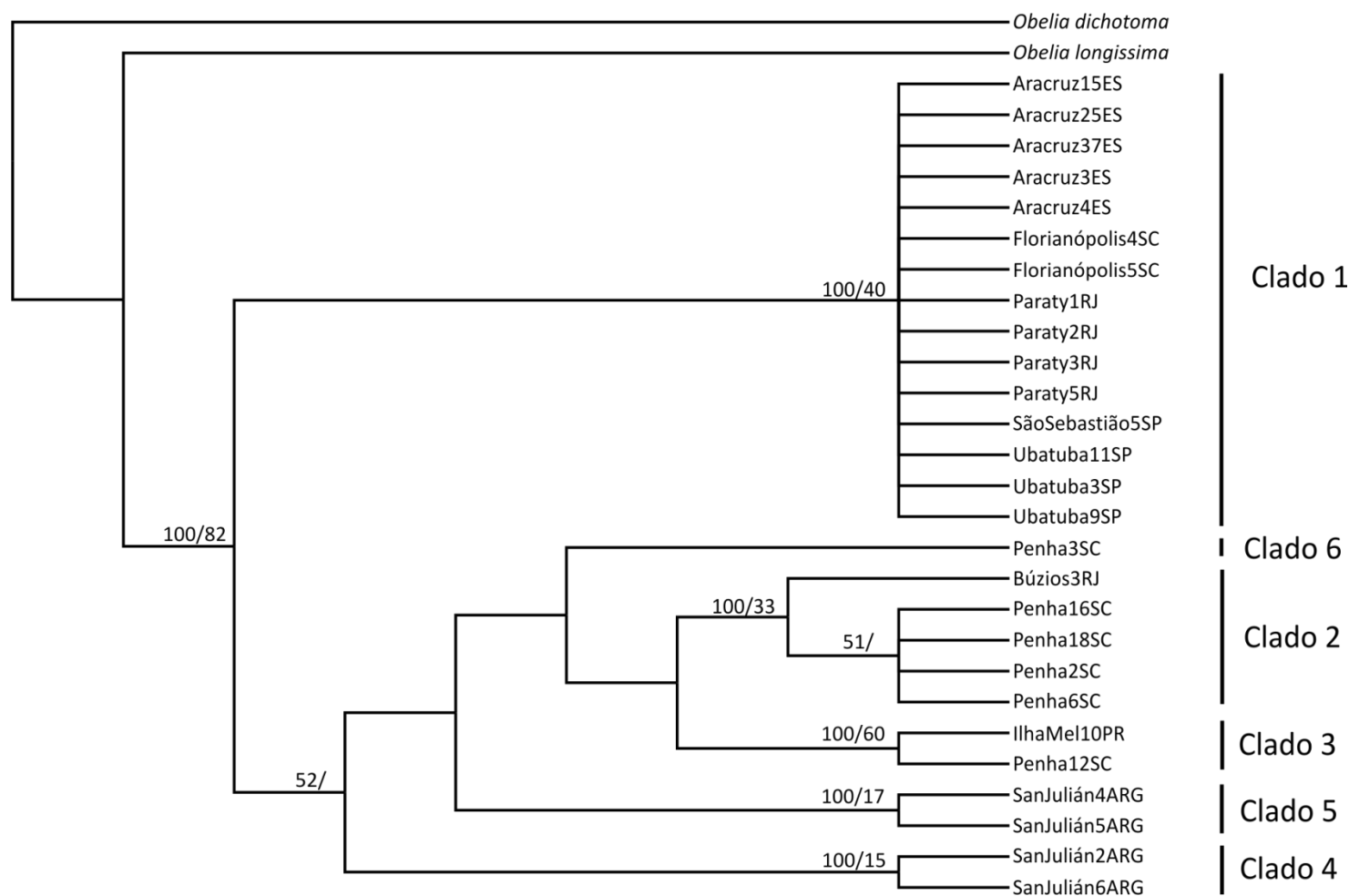
## ABSTRACT

Within the Campanulariidae, the genus *Orthopyxis* is known for its morphological plasticity and resemblance with the genus *Campanularia*. These characteristics have led to the description of numerous nominal species in the southwestern Atlantic, and also to considerable confusion with the genus *Campanularia*, making taxonomic identification very difficult. In this context, the goal of this study was to (1) review the occurrences of *Orthopyxis* in the southwestern Atlantic, (2) understand its intraspecific morphological variation and delimit species using morphological and molecular data, and (3) investigate the relationships between *Orthopyxis* and *Campanularia* to find morphological and molecular evidence for their delimitation. The molecular analyses resulted in a monophyletic *Orthopyxis*, and in the delimitation of *O. sargassicola*, *O. integra*, and *O. crenata*, the latter a new record for the southwestern Atlantic. The morphological analyses identified the characters that are most informative for the delimitation of these lineages, as well as the amplitude of morphological variation within the characters frequently used in the taxonomy of *Orthopyxis*. This study identified some morphological evidence for the delimitation of both genera, especially in relation to the cnidae. The present study of the genus *Orthopyxis* in the southwestern Atlantic can be used as a model for the delineation of future investigations of the family Campanulariidae, in the sense that species may be successfully delimited with an integrated morphological and molecular approach.

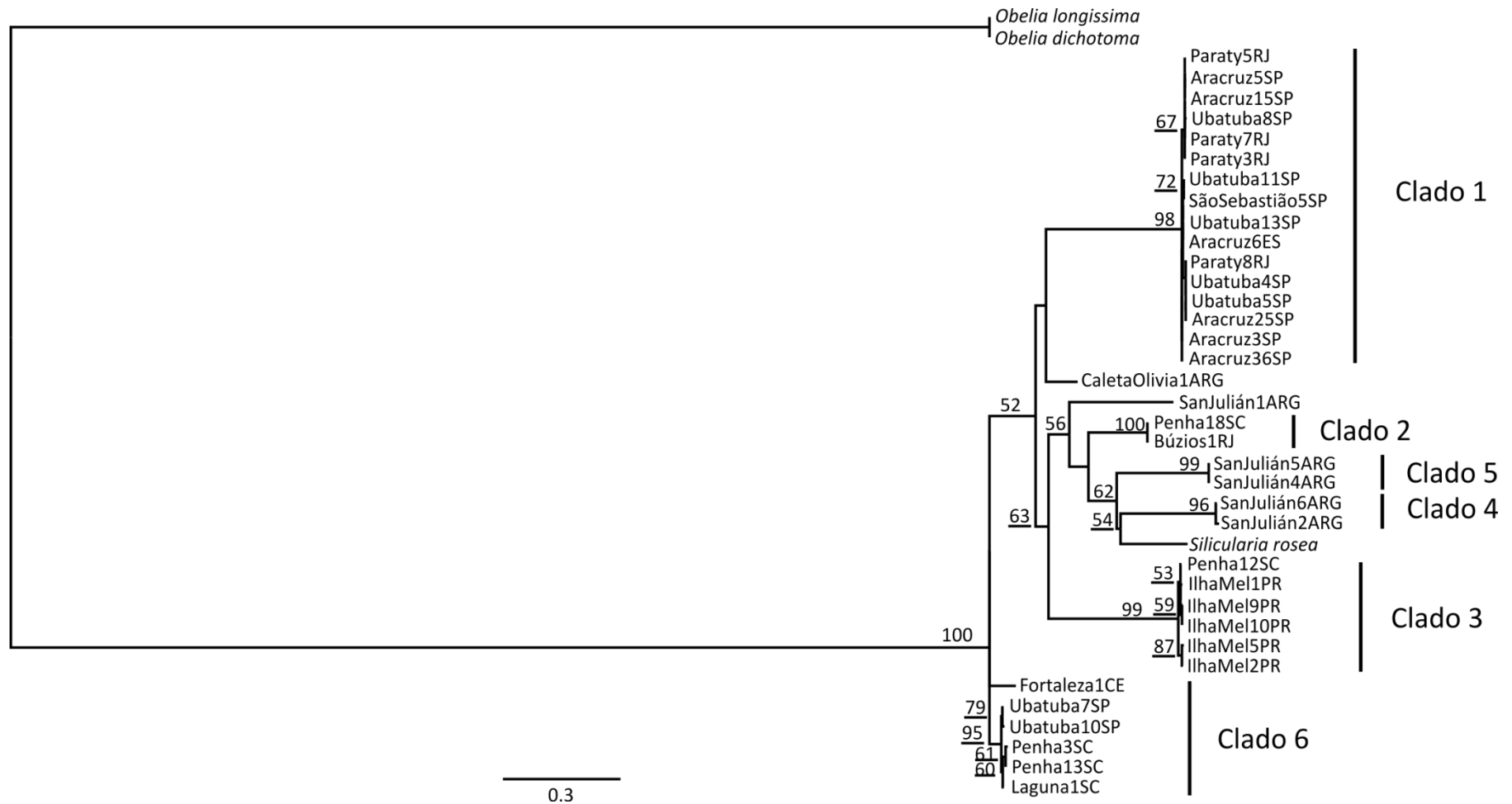
## ANEXOS



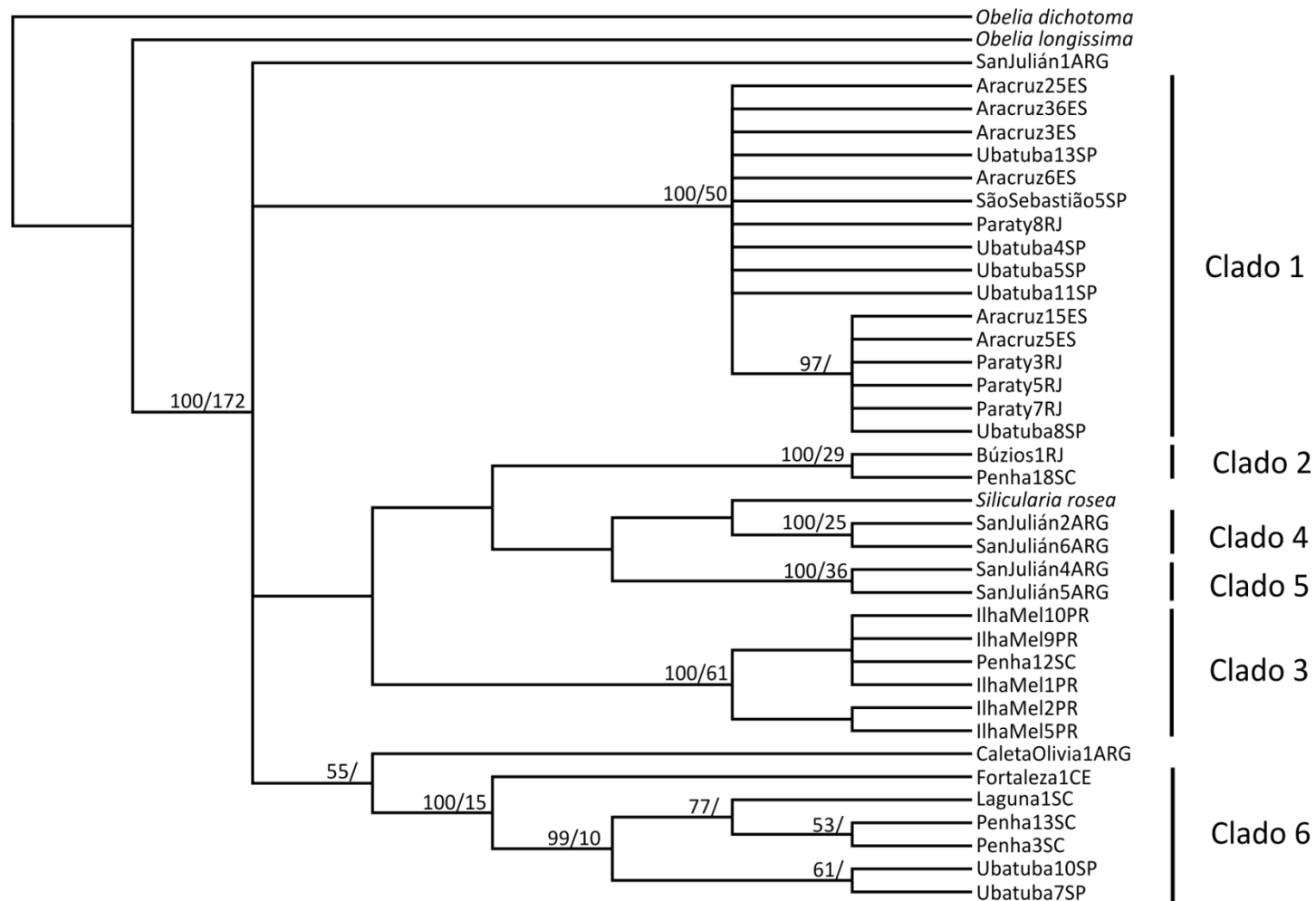
Anexo I. Hipótese resultante de análise de Máxima Verossimilhança a partir da matriz de dados mitocondriais (16S+COI). Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



Anexo II. Hipótese de consenso estrito obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de dados mitocondriais (16S+COI). Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.

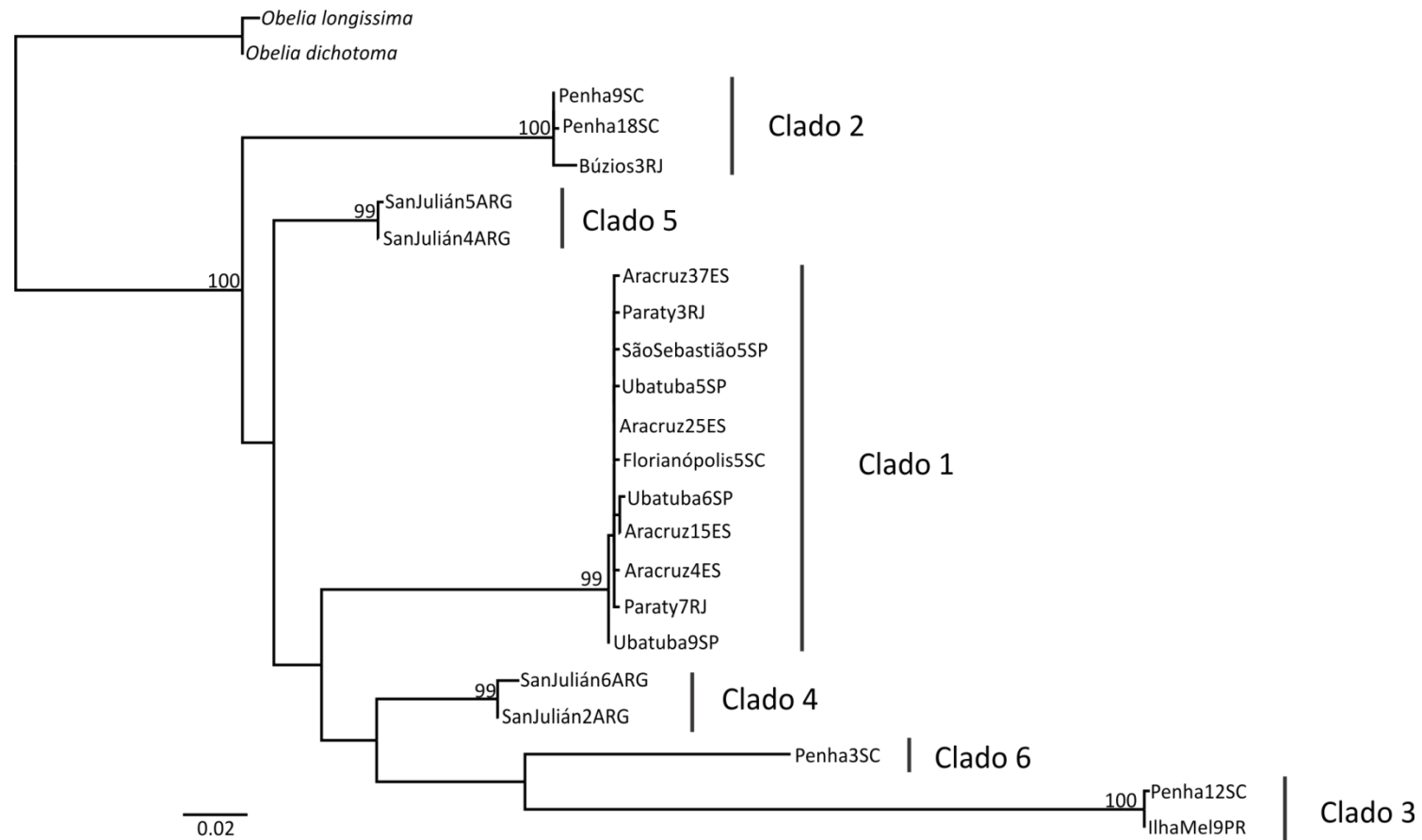


Anexo III. Hipótese de análise de Máxima Verossimilhança a partir da matriz de dados nucleares (ITS1+ITS2). Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.

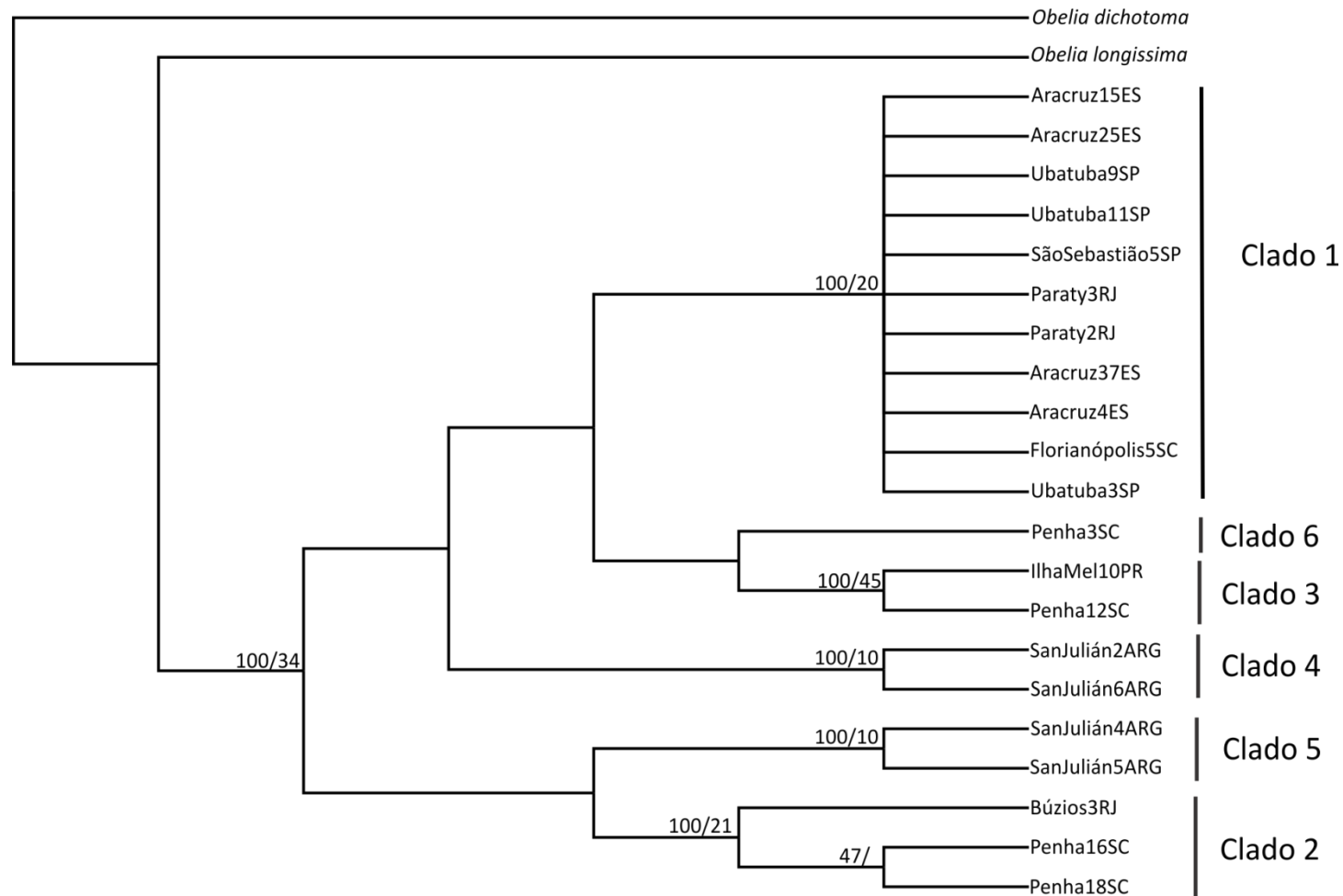


Anexo IV. Hipótese de consenso estrito obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de dados nucleares (ITS1+ITS2). Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.

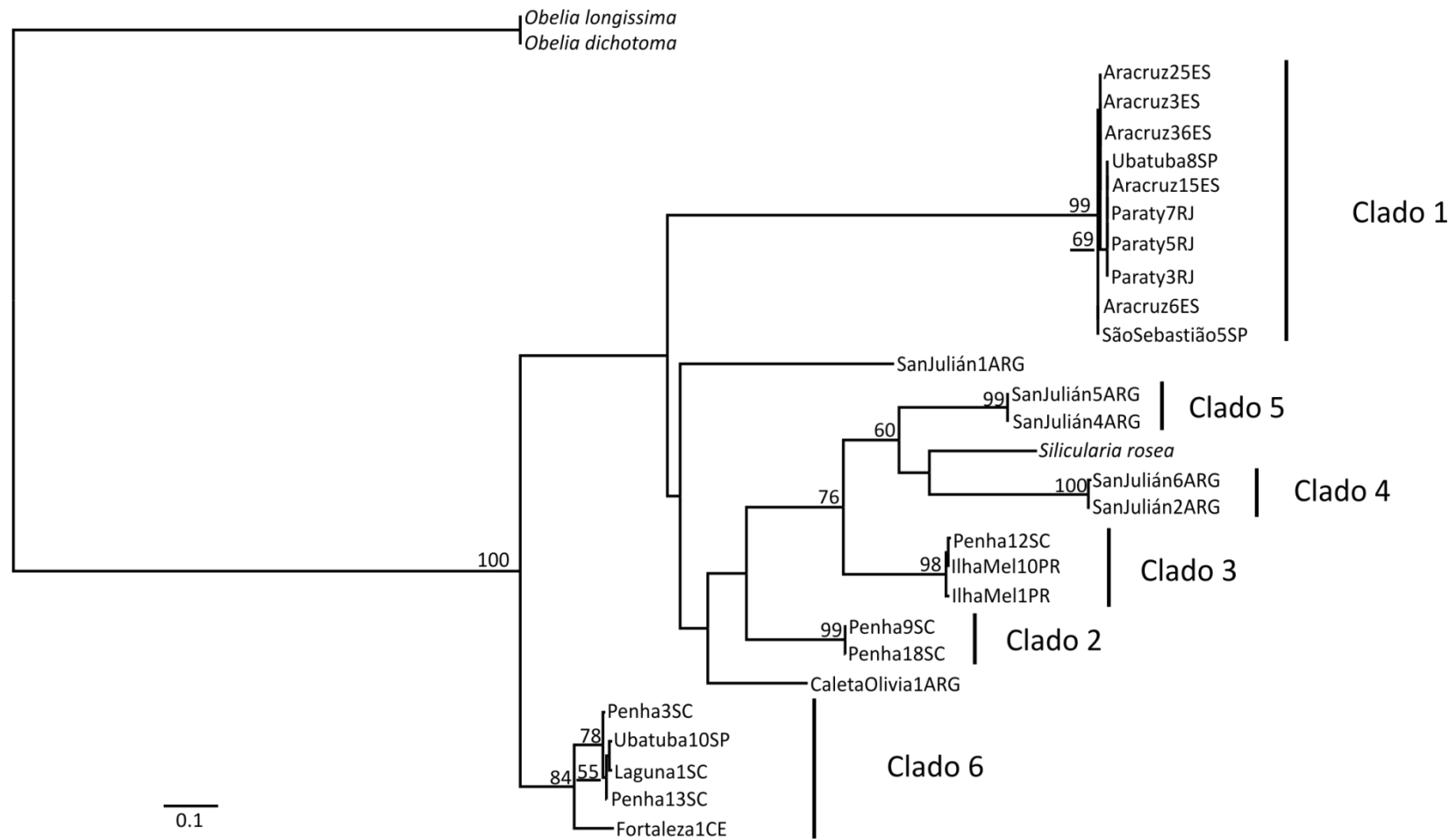




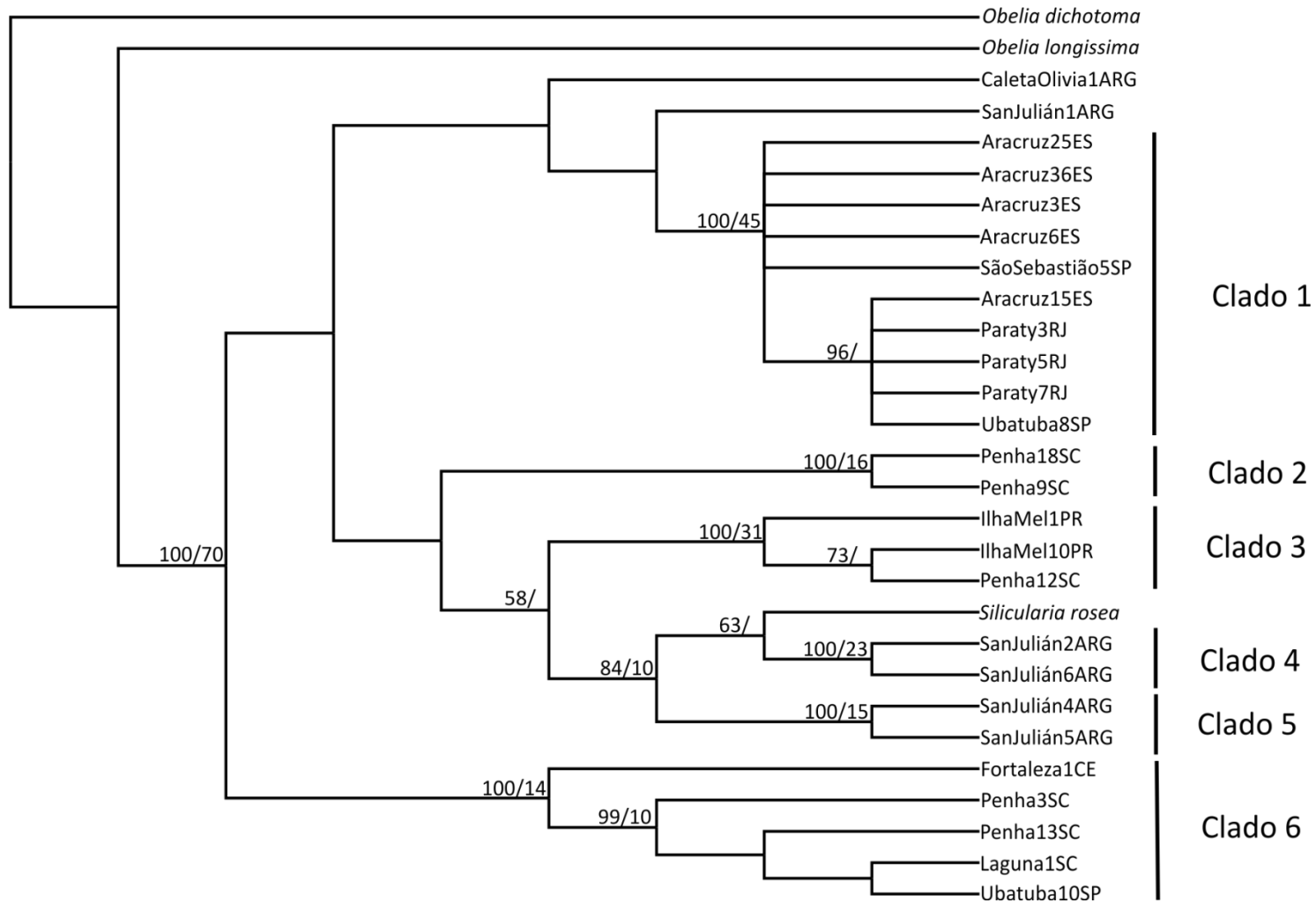
Anexo V. Hipótese de análise de Máxima Verossimilhança a partir da matriz de COI. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



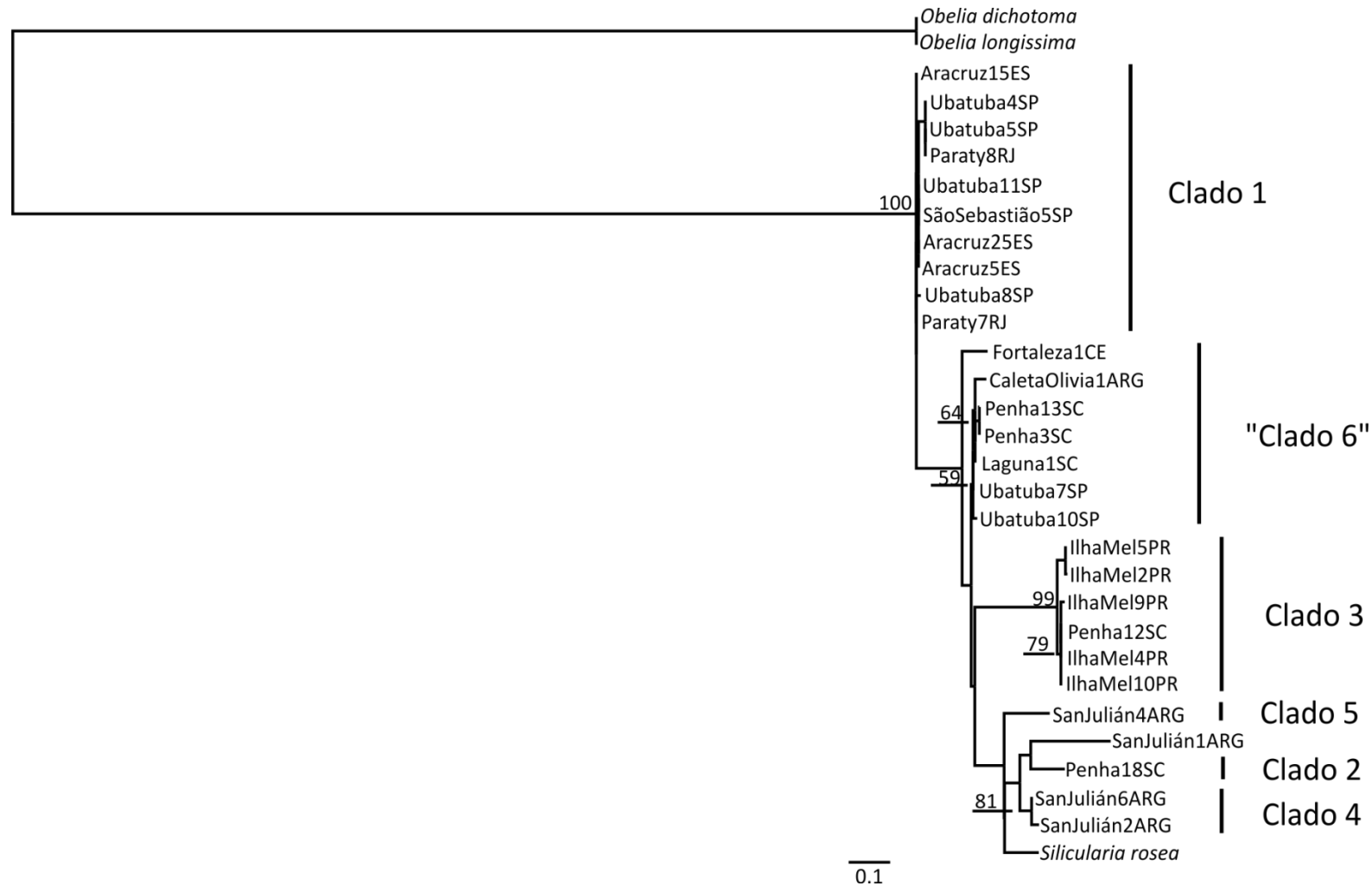
Anexo VI. Hipótese de consenso estrito obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de COI. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



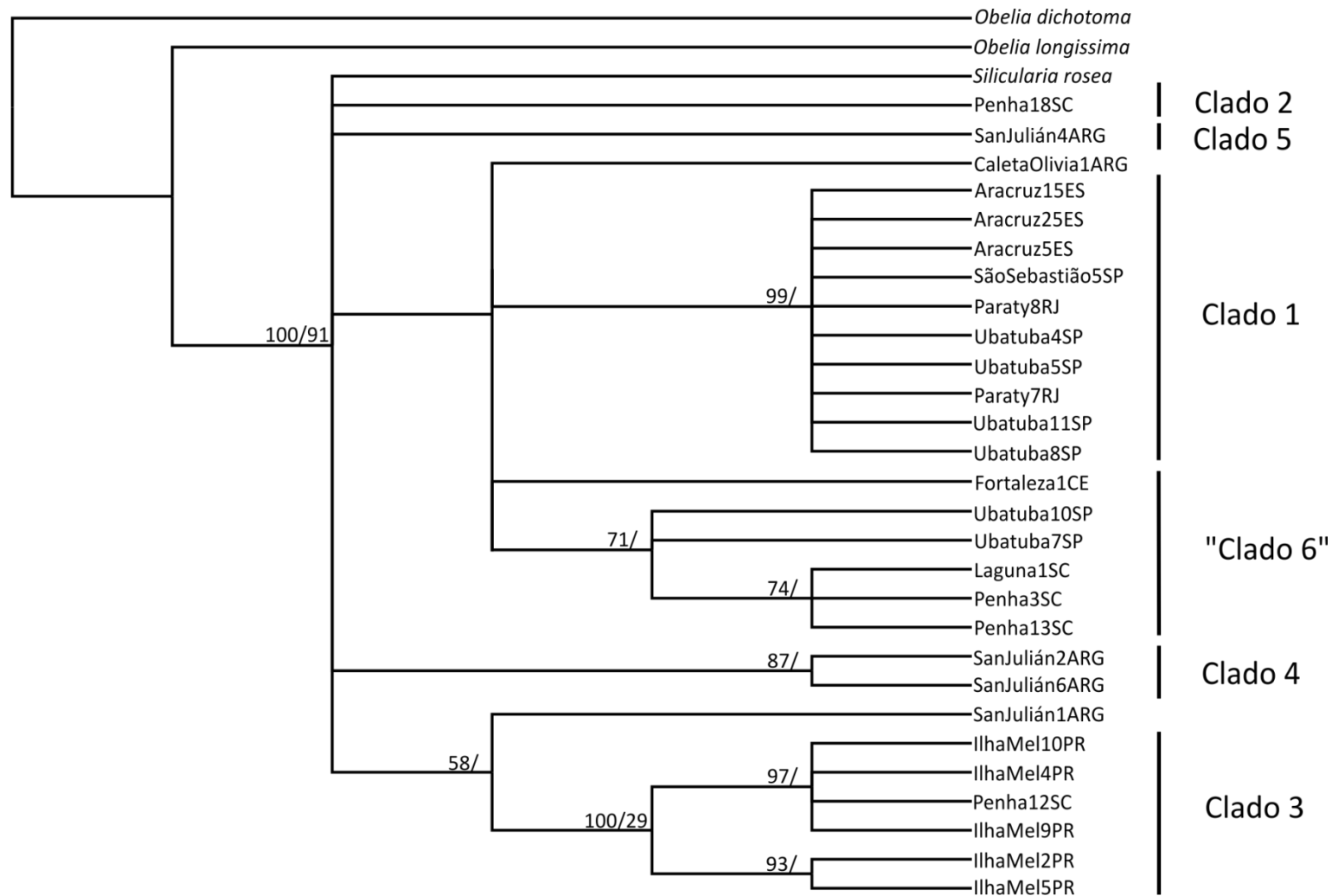
Anexo VII. Hipótese de análise de Máxima Verossimilhança a partir da matriz de ITS1. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



Anexo VIII. Hipótese de consenso estrito obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de ITS1. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



Anexo IX. Hipótese de análise de Máxima Verossimilhança a partir da matriz de ITS2. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.



Anexo X. Hipótese de consenso estrito obtida sob o critério de Parcimônia a partir da matriz de ITS2. Números acima dos ramos indicam os valores de *bootstrap*/suporte de Bremer. Ramos sem números indicam suporte inferior a 50.