Ana Laura Almeida dos Santos

REVISÃO TAXONÔMICA DAS PLANÁRIAS TERRESTRES DE
GEOPLANA (PLATYHELMINTHES, TRICLADIDA)

TAXONOMIC REVISION OF THE LAND PLANARIANS OF THE
GENUS *GEOPLANA* (PLATYHELMINTHES, TRICLADIDA)

São Paulo, 2016

Ana Laura Almeida dos Santos

REVISÃO TAXONÔMICA DAS PLANÁRIAS TERRESTRES DE
GEOPLANA (PLATYHELMINTHES, TRICLADIDA)

TAXONOMIC REVISION OF THE LAND PLANARIANS OF THE
GENUS *GEOPLANA* (PLATYHELMINTHES, TRICLADIDA)

Dissertação (Mestrado) apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Sistemática,
Taxonomia Animal e Biodiversidade, Museu de
Zoologia da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Jesús Carbayo
Baz.

São Paulo, 2016

Catálogo na Fonte: Gládis Maria Schmidt CRB8/7371

S237r Santos, Ana Laura Almeida dos
Revisão taxonômica das planárias terrestres de Geoplana
(Platyhelminthes, Tricladida / Ana Laura Almeida dos
Santos ; orientador Fernando Jesús Carbayo Baz.--
São Paulo : USP, 2016.
104 p.: il.

1. Tricladida. 2. Taxonomia. 3. Filogenia. I. Carbayo
Baz, Fernando Jesús. II. Museu de Zoologia (São Paulo,
SP). III. Título.

CDD: Ed. 22 -- 592.4

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a)

Prof(a). Dr(a)

Prof. Dr. Fernando Jesús Carbayo Baz
Orientador

Dedico esta dissertação à memória da Profa. Eudoxia Maria Froehlich, que tanto contribuiu com o estudo das planárias terrestres neotropicais;

Ao pedaço independente de mim, meu filho Ri, e aos meus pais, a quem tanto amo!

Aos amigos Marcos Santos Silva, Ana Paula Goulart Araújo, Amanda Cseh e Ana Cristina Machado Vasconcelos, pessoas maravilhosas as quais tenho a honra de conhecer.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Ivanilde Batista Almeida Froes e Arnaldo Francisco dos Santos, pelo amor de vida inteira e por me obrigarem a ser mais forte. Agradeço ao meu filho Richard Almeida dos Santos Simioni por existir em minha vida e me completar. Garotão, você é o amor da minha vida!

Aos meus professores de ensino básico, Vera Lúcia Tenório Montês, Sérgio dos Santos Ferreira, Danielle de Oliveira Nonato, Jovenil Ferreira de Souza, João Paulo Gonzaga de Paula, Rosimeire Maria da Silva, Gilson dos Santos, Arminda Maria Carreiro, Wilson Roberto Cattozatto, Edilsa Maria dos Santos, Antônio Mendes, -e muitos outros não citados aqui, e que nem por isso são menos importantes- por me ensinarem, me incentivarem, me apoiarem, me valorizarem, por se dedicarem a criar perspectivas de um futuro melhor à muitos jovens e por resistirem às dificuldades em lecionar no ensino público de nível básico em nosso país. Mudaram minha vida e eu os amo muito por isso!

Aos amigos Gislaine Banchetti Cordeiro, Viviane de Cássia Capetine, Andréia Santana de Lira, Daiana Damasceno Costa, Suelaine Lourenço, Raquel Gualda Kishimoto, Kauany Macedo, Ana Claudia Elias, e todos os meus amigos, por me fornecerem muitos momentos felizes durante as dificuldades encontradas. À Michael Jhonata de Lima por me auxiliar com língua estrangeira e por me incentivar sempre.

Agradeço muito ao meu orientador, Fernando Carbayo, pela oportunidade que me foi concedida de conhecer o fascinante mundo das planárias terrestres, por me ensinar muitas coisas sobre esses vermes chatos, por sua paciência comigo e por sua intensiva dedicação e comprometimento com este projeto de mestrado. Ao Prof. Dr. Fernando Portella de Luna Marques, pela colaboração com a obtenção de dados moleculares e análises filogenéticas. Ao Prof. Dr. Marcos Ryotaro Hara por diversas dicas e elucidações sobre conceitos de sistemática filogenética. Também ao Prof. Dr. Pedro Dias por se dispor a me auxiliar em análises e por me dar acesso ao supercomputador. À Marta Riutort (Universitat Barcelona, Espanha) pelas dicas com programas de análise filogenética e elucidações conceituais. À Gládis Maria Schmidt, esposa do Prof. Carbayo, pela ficha catalográfica.

Ao COTEC do Instituto Florestal do Estado de São Paulo (autorizações 42.520/2007; 011.726/2014; 95/2015 D203/2014 BA), ao SisBio (autorizações e licença permanente 11748-3, 11473-1); ao INEA, Rio de Janeiro (autorização 060/2014), ao MZUSP (EBBAut.007/2008), ao Prof. Luiz Menna-Barreto; Companhia Hemmer Indústria e Comércio; à prefeitura de Santo André, pelas facilidades para executar os trabalhos de campo, a Irimar José da Silva e Marléti Huntemann da Silva, por autorizarem coleta na RPPN Vale das Pedras, e nos receberem com muito carinho e gentileza e, agradecemos também a Ketlen e seus pais por nos indicarem o local de ocorrência da espécie rara que procurávamos, *Geoplana pulchella*. Agradeço também ao Júnior por fazer diversas coletas esporádicas comigo.

Aos colegas coletores, Maytê Suguimoto, Thaís de Oliveira dos Santos, Júlio Francisco Hisada Pedroni, Isadora Mendes, Amanda Cseh, e especialmente a Ana Cristina Machado por ajudas preciosas que transcenderam o espaço acadêmico. Um agradecimento mais do que especial aos meus grandes amigos Ana Paula Goulart Araújo e Marcos Santos Silva por realizarem esforços maiores nas atividades de coleta e em

todas as outras relacionadas a esse trabalho. Agradeço enormemente também ao meu grande amigo, Junior, por estar sempre à disposição para a realização de coletas esporádicas e quaisquer outras necessidades.

Agradeço aos colegas Ana Cristina Machado Vasconcelos, Vinícius Gasparino Vasconcelos, Karine Gobetti de Oliveira, Katharine Camelo Campos, Amanda Cseh e Geison Castro da Silveira, pela preparação histológica de quase todo o material biológico, o qual tenho estudado aqui.

Agradeço às pessoas do laboratório de biologia molecular do Instituto de Biociências da USP e, principalmente a Beatriz Vieira Freire, técnica deste laboratório, por me auxiliar em todas as etapas do trabalho de bancada para extração de DNA e pelo auxílio nas primeiras inspeções das sequências nucleotídicas. Bia, muito obrigada mesmo! Agradeço também a Maria Carolina Tiburcio Dias Belotti, pela ajuda no início dessas atividades de extração e por me ajudar em algumas das minhas muitas dificuldades com a bioinformática.

Ao LNNano - Laboratório Nacional de Nanotecnologia, CNPEM/MCTI (Campinas), pelas facilidades para usar o microtomógrafo. A Leigh Winsor (James Cook University, Austrália), pela sua opinião sobre a interpretação de algumas estruturas histológicas. Ao Dieter Fiege (Senckenberg Natural History Museum), pelo recebimento e facilidades para o estudo dos espécimes de *G. cf. vaginuloides* estudados por Riester.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de mestrado (Proc. 2014/16585-0) . O projeto foi financiado com recursos da FAPESP (Proc. 2014/13661-8) concedidos ao orientador.

RESUMO

As planárias terrestres (Platyhelminthes, Geoplanidae) são vermes de vida livre, hermafroditas e predadores que habitam principalmente florestas úmidas. A subfamília Geoplaninae, restrita à região neotropical, compreende cerca de 270 espécies. *Geoplana* Stimpson, 1857, seu gênero-tipo, é atualmente composto por três espécies (*Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844), *Geoplana chita* Froehlich, 1956 e *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857), todas da mata Atlântica brasileira. A espécie-tipo do gênero, *G. vaginuloides*, foi descrita por Darwin a partir de um único espécime que coletou no Rio de Janeiro (RJ) em 1832. Darwin baseou-se apenas em caracteres de morfologia externa e o paradeiro do material tipo é desconhecido. Posteriormente, outros autores estudaram a espécie e atribuíram-na sete padrões de coloração dorsal, mas um estudo filogenético recente com dois indivíduos de coloridos dorsais distintos indicou que a espécie é polifilética, justificando a necessidade de sua circunscrição para estabilizar a taxonomia da subfamília. Este trabalho tem por objetivo fazer uma revisão taxonômica do gênero utilizando dados fenotípicos e genotípicos. Todo o material disponível das espécies de *Geoplana* citado na literatura foi analisado, além de outros espécimes disponíveis em coleção ou coletados para este propósito. As principais características morfológicas que permitiram distinguir as espécies são: cor do dorso, forma e desenvolvimento do bulbo peniano, região de encontro dos ductos eferentes, região do átrio masculino em que se assenta a papila peniana, comprimento relativo da papila peniana e distribuição das secreções associadas, espessura da musculatura do ducto ejaculatório, e tipo de epitélio de revestimento do átrio feminino. As análises filogenéticas moleculares foram realizadas a partir de sequências do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) e do gene nuclear Fator de Elongação 1-alfa (EF-1- α), isolados e concatenados, usando parcimônia e máxima verossimilhança como critérios de optimalidade. Os resultados moleculares e morfológicos são congruentes e revelaram que *G. pulchella* é monofilética, mas *G. chita* e *G. vaginuloides* são polifiléticas. As relações entre as espécies variam em função do gene e do critério de optimalidade utilizados. 13 clados são constantes, cada um composto por indivíduos homogêneos morfológicamente. Esta congruência permite reconhecer 13 espécies, dez delas com aspecto compatível com *G. vaginuloides*, incluindo membros propostos por outros autores como coespecíficos: *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844), *G. apua* Almeida & Carbayo, nom. nov., *G. mogi* Almeida & Carbayo, nom. nov., *G. piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov., *G. paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n., *G. caraguatatuba* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. ibiuna* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n., *G. cambara* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. iporanga* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. pulchella* Schultze & Müller, 1857, *G. chita* Froehlich, 1956, e *G. boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov. Estas espécies apresentam musculatura parenquimática longitudinal, característica incomum em Geoplaninae (conhecida apenas em *Imbira*) e ausente por definição em Geoplaninae. Propomos, então, emenda a diagnose de *Geoplana* e da subfamília.

Palavras- chave: Geoplaninae, Sistemática, Filogenia molecular, Histologia, Morfologia.

ABSTRACT

Land planarians (Platyhelminthes, Geoplanidae) are hermaphroditic, free-living and predatory organisms, that inhabit humid forests. The subfamily Geoplaninae is restricted to the Neotropical region, and includes ca. 270 species. Currently, *Geoplana* Stimpson, 1857, the type-genus of the subfamily, comprises three species, *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844), *Geoplana chita* Froehlich, 1956 e *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857, all of them found in the Brazilian Atlantic forest. The original description of the type-species of the genus, *G. vaginuloides*, was described from a single individual collected by Darwin in Rio de Janeiro (Brazil) in 1832. He described only the external aspect of the specimen and its location remains unknown. Subsequently, other authors studied this species and provided up to seven chromatic patterns of the dorsum, but in a recent paper, a polyphyletic condition of the species was demonstrated by means of molecular data. This situation entails the need to circumscribe the species in order to stabilize the taxonomy of the subfamily. This work aims at achieving a taxonomic revision of the genus by using phenotypic and molecular data. All available material of *Geoplana* mentioned in literature was studied, besides additional specimens from other collections or here collected for this purpose. Phenotypic examination enabled us to recognize up to 13 morphospecies, which differ each other mainly by means of these features: color of the dorsum, shape and relative development of the penis bulb; position of the junction of the sperm ducts with each other; region of the male atrium from which the penis papilla projects; relative length of the penis papilla; distribution of the secretions within the papilla; relative thickness of the musculature wrapping the ejaculatory duct; and type of epithelium lining the female atrium. Molecular phylogenetic analyses were performed with sequences of the mitochondrial region of the cytochrome oxidase I gene and the nuclear region of the elongation factor 1- α , both separately and concatenated. Parsimony and maximum likelihood were used as optimality criteria. Morphological and molecular data are congruent with each other and revealed a monophyletic condition of *G. pulchella*, but a polyphyletic condition of *G. chita* and *G. vaginuloides*. Interrelationships among internal branches varied depending on the gene and the optimality criterion and have relatively low support. However, the external branches are constituted by morphologically homogeneous individuals. This congruence enabled us to recognize 13 species; the external aspect of ten species compares well with *G. vaginuloides*, including members considered conspecific in the literature. These results lead us to recognize the following taxonomic entities: *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844), *G. apua* Almeida & Carbayo, nom. nov., *G. mogi* Almeida & Carbayo, nom. nov., *G. piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov., *G. paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n., *G. caraguatatuba* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. ibiuna* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n., *G. cambara* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. iporanga* Almeida & Carbayo sp. nov., *G. pulchella* Schultze & Müller, 1857, *G. chita* Froehlich, 1956, and *G. boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov. All these species possess longitudinal parenchymatic musculature, an uncommon characteristic in Geoplaninae (only unknown from *Imbira*), which is, by definition, absent in the subfamily. Accordingly, we suggest to emend the diagnoses of the *Geoplana* and Geoplaninae.

Keys words: Geoplaninae, Systematics, Molecular phylogeny, Histology, Morphology

Lista de figuras

Fig. 1. <i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	20
Fig. 2. <i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	21
Fig. 3. <i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	22
Fig. 4. <i>Geoplana apua</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	26
Fig. 5. <i>Geoplana apua</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	27
Fig. 6. <i>Geoplana apua</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	28
Fig. 7. <i>Geoplana mogi</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	32
Fig. 8. <i>Geoplana mogi</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	33
Fig. 9. <i>Geoplana mogi</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	34
Fig. 10. <i>Geoplana piratininga</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	38
Fig. 11. <i>Geoplana piratininga</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	39
Fig. 12. <i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	43
Fig. 13. <i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	44
Fig. 14. <i>Geoplana caraguatatuba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	48
Fig. 15. <i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	49
Fig. 16. <i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	50
Fig. 17. <i>Geoplana ibiuna</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	54
Fig. 18. <i>Geoplana ibiuna</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	55
Fig. 19. <i>Geoplana cananeia</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	59
Fig. 20. <i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	60
Fig. 21. Desenho de dois espécimes da Ilha do Cardoso	61
Fig. 22. <i>Geoplana cambara</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	65
Fig. 23. <i>Geoplana cambara</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	66
Fig. 24. <i>Geoplana iporanga</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	70
Fig. 25. <i>Geoplana iporanga</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	71
Fig. 26. <i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857	75
Fig. 27. <i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857	76
Fig. 28. Desenho esquemático de um indivíduo imaturo	77
Fig. 29. <i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956	81
Fig. 30. <i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956	82
Fig. 31. <i>Geoplana boraceia</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	86
Fig. 32. <i>Geoplana boraceia</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	87
Fig. 33. Árvore filogenética de <i>Geoplana</i> gerada pelo critério de parcimônia a partir de sequências moleculares de COI	89
Fig. 35. Árvore filogenética de <i>Geoplana</i> gerada pelo critério de parcimônia a partir de dados moleculares dos genes COI e EF-1- α concatenados	90

Lista de tabelas

Tab. 1. Representatividade das espécies de <i>Geoplana</i> tratadas neste trabalho	6
Tab. 2. Espécimes em lâminas histológicas cuja identidade não pode ser confirmada	8
Tab. 3. <i>Primers</i> utilizados para a amplificação e sequenciamento de fragmentos nucleotídicos	12
Tab. 4. Representatividade das espécies de <i>Geoplana</i> tratadas neste trabalho	91
Tab. 5. Comparação diagnóstica das espécies de <i>Geoplana</i>	96

SUMÁRIO

pág.

INTRODUÇÃO	1
Classificação das planárias terrestres e sua riqueza	1
Delimitação de espécies	1
Breve histórico do gênero <i>Geoplana</i> Stimpson, 1857 e de sua espécie tipo	2
Conhecimento morfológico das espécies de <i>Geoplana</i>	3
OBJETIVOS	5
MATERIAIS E MÉTODOS	5
Obtenção de material biológico	5
Fixação e conservação	8
Microtomografia computadorizada	8
Preparações histológicas	9
Análise da morfologia externa e interna	10
Obtenção de dados moleculares	11
Inferência filogenética	13
Considerações sobre conceito de espécie	14
Abreviações utilizadas nas figuras	15
RESULTADOS	16
SEÇÃO MORFOLÓGICA	16
<i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	16
<i>Geoplana apua</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	20
<i>Geoplana mogi</i> Almeida & Carbayo nom. nov.	26
<i>Geoplana piratininga</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	31
<i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	38
<i>Geoplana caraguatatuba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	43
<i>Geoplana ibiuna</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	48
<i>Geoplana cananeia</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	54
<i>Geoplana cambara</i> Almeida & Carbayo, sp. nov.	59
<i>Geoplana iporanga</i> Almeida & Carbayo, sp. n.	65
<i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857	70
<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956	74
<i>Geoplana boraceia</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	81
RESULTADOS. SEÇÃO MOLECULAR	88
Comportamento dos genes nas análises	88
DISCUSSÃO	91
Congruência dos dados morfológicos com os moleculares: complexos de espécies e novas espécies	91
Complexo de espécies de <i>Geoplana vaginuloides</i>	92
Identidade de <i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	93
Complexo de espécies de <i>Geoplana chita</i>	94
Distinção e identidade de <i>Geoplana pulchella</i>	94
Emenda da diagnose de <i>Geoplana</i>	95
Emenda da diagnose de Geoplaninae	95
Chave de identificação de <i>Geoplana</i>	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS	101
REFERÊNCIAS	102
APÊNDICES	

AVISO DA AUTORA

Todas as ações taxonômicas neste estudo são renunciadas para fins de nomenclatura, como recomendado no Artigo 8 do Código Zoológico Internacional de Nomenclatura (CINZ, 1999)

AUTHOR'S DISCLAIMER

All taxonomic actions in this work are hereby disclaimed for nomenclatural purposes, as recommended in Article 8 of the International Code of Zoological Nomenclature (CINZ, 1999).

INTRODUÇÃO

Classificação das planárias terrestres e sua riqueza

As planárias terrestres são vermes denominados tricládidos por possuírem três ramos intestinais principais. Possuem corpo achatado dorso-ventralmente; variam de tamanho, podendo alcançar, muito excepcionalmente, até cerca de um metro de comprimento. São muito diversos no padrão de coloração dorsal, inclusive dentro da própria espécie (Carbayo, 2005).

Existem cerca de 800 espécies distribuídas em quatro subfamílias: Bipaliinae, Microplaninae, Rhynchodeminae e Geoplaninae, sendo esta última, a mais numerosa (Carbayo, 2005). A subfamília Geoplaninae tem 23 gêneros; é a de maior riqueza em toda a região Neotropical (Seitenfus & Leal-Zanchet, 2004; Grau *et al.*, 2012; Carbayo *et al.*, 2013). Geoplaninae foi proposta por Ogren & Kawakatsu (1990) como:

Broad ciliated creeping sole covering most of ventral surface (or sparse body cilia as in the genus *Geobia*); mouth just behind midbody (since in *Polycladus* mouth is in posterior fourth); dorsal testes; subepithelial or cutaneous longitudinal musculature, well developed, arranged in bundles; longitudinal parenchymal muscle absent, or not well developed, not forming a ring zone.

Ogren & Kawakatsu (1990, p. 82)

A subfamília Geoplaninae foi estudada principalmente por Schultze & Müller (1857), Beauchamp (1912, 1939), Schirch (1929), Riester (1938), Hyman (1938, 1939, 1941, 1955, 1962), Marcus (1951), Du Bois Reymond-Marcus (1951), Froehlich (1955a, b, 1956a, b, 1959, 1967), E. M. Froehlich (1955, 1978), E. M. Froehlich e Froehlich (1972), Carbayo e Leal-Zanchet (2003), Leal-Zanchet e Souza (2003), e outros (Seitenfus & Leal-Zanchet, 2004).

No continente americano, o Brasil é oriundo da maior parte dos trabalhos sobre taxonomia de planárias terrestres e um dos que mais se dedica a este assunto no mundo, no entanto, os estudos são, ainda, considerados relativamente baixos (Antunes, 2008), uma vez que as estimativas indicam que apenas 10% do número real da fauna de planárias é descrita e, portanto, conhecida pela Ciência (Carbayo *et al.*, 2009).

Delimitação de espécies

Os primeiros estudos de taxonomia de planárias terrestres brasileiras remontam ao século XIX, com trabalhos de famosos naturalistas, como Charles Darwin (1844), Fritz Müller (1857) e Libbie H. Hyman (1941). Neste período, as descrições destes organismos abordavam apenas caracteres de morfologia externa, tais como tamanho, forma do corpo, colorido dorsal e ventral, localização dos poros do corpo e distribuição dos olhos. Com o aperfeiçoamento do micrótomo e as técnicas de coloração, a anatomia e a histologia foram também incluídas, gradativamente, nas descrições. Ludwig von Graff foi primoroso neste tipo de descrições, que eram acompanhadas de ilustrações coloridas de excelente qualidade (1899). Graff foi o primeiro a considerar detalhes microanatômicos e histológicos dos sistemas musculares, da faringe e dos órgãos

reprodutivos. A análise de morfologia interna, principalmente do aparelho copulador, possui grande valor taxonômico, uma vez que a coloração dorsal pode variar com a ontogenia (p. e., *Geoplana burmeisteri* Schultze & Müller, 1857) ou os adultos podem ter padrões cromáticos diferentes em função de especificidades populacionais (p. e., *Cephaloflexa bergi* (Graff, 1899)). Ademais, em estudos sistemáticos e filogenéticos, os caracteres externos são insuficientes e pouco informativos.

Uma alternativa interessante às técnicas histológicas, por não ser destrutiva, é a microtomografia computadorizada. A aplicabilidade desta técnica em estudos taxonômicos foi recentemente testada com a descrição de uma nova espécie de planária terrestre de *Obama* Carbayo *et al.*, 2013 (Geoplaninae) (Carbayo *et al.*, 2016, Carbayo & Lenihan, 2016).

O estudo das relações filogenéticas com dados moleculares entre as grandes linhagens de Tricladida foi iniciado em fins dos anos 1990 (Carranza *et al.*, 1998a,b; Baguña *et al.*, 2001), mas a taxonomia integrativa, i.e., o uso combinado de dados morfológicos e moleculares (DNA) para delimitar e descrever espécies de planárias, é mais recente. Seguindo esta abordagem, Sluys *et al.*, (2013) descreveram novas espécies de planárias de água doce da família Dugesidae; Lemos *et al.*, (2014) propuseram novas espécies de *Choeradoplana* Graff, 1897 (Geoplaninae), e Rossi *et al.*, (2015) delimitaram novas espécies de *Geoplana* Stimpson, 1857 e de *Cratera* Carbayo *et al.*, 2013 (Geoplaninae). Álvarez-Presas *et al.*, (2015) e Carbayo *et al.*, (2016) também descreveram novas espécies de *Obama*; nestes últimos trabalhos, a contribuição da delimitação molecular das espécies foi fundamental para separar as espécies crípticas descritas.

Breve histórico do gênero *Geoplana* Stimpson, 1857 e de sua espécie tipo

A coleta e descrição de planárias terrestres tiveram origem com as explorações à natureza realizadas por famosos naturalistas durante o século XIX, em investigações por toda a América do Sul (Ogren & Kawakatsu, 1990). Darwin, em sua estadia no Rio de Janeiro, durante a famosa expedição a bordo do Beagle, no século XIX, coletou uma das primeiras espécies registradas para o Brasil: *Planaria vaginuloides* Darwin, 1844 (atualmente no gênero *Geoplana*). Esta espécie, juntamente com outras espécies também coletadas por este e por outros naturalistas, foi agrupada no gênero *Polycelis* Ehrenberg, 1831, que incluía também espécies de planárias de água doce. Stimpson (1857) propôs a família Geoplanidae e o gênero *Geoplana* Stimpson, 1857 para as espécies terrestres.

Von Graff (1899), baseado em morfologia externa, dividiu a família Geoplanidae em seis gêneros, mantendo *Geoplana*. Visto que ainda não havia sido designada a espécie tipo do gênero, E. M. Froehlich (1955a), propôs *Geoplana vaginuloides* levando em consideração que foi a primeira espécie coletada e descrita no Brasil.

A diagnose do gênero *Geoplana* foi emendada em várias ocasiões. Foi proposto inicialmente por Stimpson (1857) para o conjunto de planárias do mundo que habitavam o meio terrestre. Froehlich (1955a) restringiu a diagnose às espécies neotropicais com estas características: corpo alongado, sola rastejadora

ocupando a maior parte da superfície ventral, presença de forte musculatura longitudinal cutânea, musculatura parenquimática fraca ou inexistente, testículos dorsais, aparelho copulador sem adenodactilos e papilas sensoriais ausentes. Ogren & Kawakatsu (1990) propuseram uma nova emenda ao gênero: índice mc:h (espessura da musculatura cutânea em relação à altura do corpo) variando entre 4% e 18%, presença de papila peniana e ovovitelo ductos com saída dorsal do átrio feminino.

Este gênero era o mais rico em espécies de Geoplaninae até recentemente com cerca de 100 espécies entre as 170 ocorrentes na região (Froehlich, 1966; Carbayo & E.M. Froehlich, 2008). Num estudo filogenético recente (Carbayo *et al.*, 2013) emendaram novamente o gênero, cuja diagnose atual é:

Geoplaninae with medium-sized body, 30–100 mm in length; body slender, with nearly parallel margins; dorsum strongly convex; eyes monolobulated, cone shaped in the anterior region of the body; muscle tube around the intestine composed of parenchymatic longitudinal muscle fibres; pharynx cylindrical; prostatic vesicle intrabulbar, narrow; thick well-delimited male genital muscle coat and; penis papilla protrusible, cylindrical, very long, extending even along the entire female genital atrium; muscle fibres of penis papilla and ejaculatory duct densely packed in a thick layer; male atrium not folded; ascending portion of the ovovitelline ducts lateral to female atrium, joining each other above it; genital canal dorso-anteriorly flexed, arising from the posterior region of the female atrium; female atrium long, not folded.

Carbayo et al. (2013)

Os autores reportaram que a espécie tipo de *Geoplana* constituía sempre, juntamente com *Geoplana chita* E. M. Froehlich, 1956 e *Pseudogeoplana pulchella* (Schultze & Müller, 1857), um grupo monofilético. Esta última espécie, da que somente se conhece a morfologia externa, fora transferida a *Pseudogeoplana* Ogren & Kawakatsu, 1990, proposto para espécie de Geoplaninae cuja morfologia interna, especialmente a do aparelho copulador, é desconhecida.

Caracteristicamente, as três espécies possuem um sistema muscular parenquimático (=mesenquimático) de fibras longitudinais, característica muito rara em Geoplaninae (Leal-Zanchet & Carbayo, 2000). Assim, as outras espécies do gênero, aproximadamente 100, foram transferidas a outros gêneros. Restaram em *Geoplana*, portanto, apenas três espécies: *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844); *Geoplana chita* E. M. Froehlich, 1956 e *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857 (Carbayo *et al.*, 2013), esta última transferida novamente a *Geoplana*.

Conhecimento morfológico das espécies de *Geoplana*

As primeiras descrições de planárias terrestres, fundamentalmente as estudadas até início do século XIX, incluíam apenas características da morfologia externa. Com os avanços do conhecimento da riqueza de espécies e das técnicas histológicas, as estruturas internas passaram a ser estudadas. No entanto, muitas dessas primeiras espécies não foram redescritas, de maneira que o conhecimento morfológico e taxonômico disponível sobre elas é muito escasso ou incompleto. Para as três espécies de *Geoplana* este é, sinteticamente, o conhecimento disponível.

***Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844)**, coletada originalmente no Rio de Janeiro por Darwin, foi reestudada por Riestter (1938) e Froehlich (1956a) a partir de espécimes coletados em Teresópolis/ RJ; por Marcus em 1951 e 1952, com animais provenientes de Eldorado/SP e de São Paulo/SP, respectivamente; e por Froehlich em 1958 com exemplares de Itanhaém/SP. Dos exemplares de ambos os autores, foram observadas variações existentes quanto ao padrão de coloração das listras dorsais e largura do corpo, somando 7 tipos de colorações dorsais distintas. A morfologia interna foi analisada por Riestter (1938) e por Marcus (1951), que descrevem uma faringe cilíndrica, papila peniana cônica e invadindo em 2/3 e em 3/4 de seu comprimento o átrio feminino, para cada autor, respectivamente.

***Geoplana pulchella* (Schultze & Müller, 1857)** somente é conhecida de Blumenau/SC. Apresenta coloração vermelha sobreposta por manchas brancas na metade anterior dorsal; a metade posterior do corpo é de coloração láctea, com duas estrias escuras laterais. Não há descrições da morfologia interna.

***Geoplana chita* Froehlich, 1956**, com distribuição nos Estados do Paraná e São Paulo, possui tamanho que varia de 20-30 mm, faixa mediana dorsal amarela mostarda que se torna mais larga logo após a região cefálica; esta faixa amarela é margeada por largas faixas pretas; a região cefálica é margeada por faixas brancas, a partir de onde surgem, até o final do dorso, manchas circulares brancas distribuídas sobre as faixas. Os olhos são marginais e dorsais. A papila peniana é cônica, horizontal e alongada, invadindo o átrio feminino.

Recentemente realizou-se um estudo filogenético a partir de dados moleculares de diversos exemplares de espécies de Geoplaninae, entre as quais, dois espécimes de *G. vaginuloides*, identificados por MZUSP PL 1009 e MZUSP PL 666, respectivamente (Carbayo *et al.*, 2013). O exemplar MZUSP PL 1009 apresenta uma listra mediana de coloração ocre-alaranjada e faixas laterais com manchas claras, enquanto que o espécime MZUSP PL 666 apresenta uma faixa mediana avermelhada e ausência de manchas claras nas faixas laterais. Os estudos baseados em dados moleculares tiveram como resultado uma árvore filogenética em que os dois exemplares de *G. vaginuloides* foram alocados em linhagens diferentes em um clado compartilhado com exemplares de *G. chita* e *G. pulchella*. Estes resultados indicam, portanto, que os exemplares de *G. vaginuloides* pertencem a espécies distintas, sugerindo a necessidade de se revisar a taxonomia da espécie.

Por outro lado, na última década, Fernando Carbayo e colaboradores, que vêm coletando planárias terrestres nas mesmas áreas de ocorrência das espécies de *Geoplana*, têm encontrado espécimes com características compatíveis as espécies desse gênero. Também têm coletado outros animais cuja semelhança é menos aparente. Isto tem levantado questionamentos acerca da sua identidade e do valor do padrão cromático como critério diagnóstico.

OBJETIVOS

Do exposto acima, despontam três objetivos principais:

- elucidar a identidade e redescrever a espécie-tipo do gênero, *G. vaginuloides*;
- delimitar morfológica e molecularmente e descrever as três espécies nominais de *Geoplana*;
- descrever novos táxons com padrão cromático compatível com o da espécie-tipo e *G. chita*;
- revisar a diagnose do gênero e da subfamília.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de material biológico

Os espécimes foram obtidos diretamente em coletas, recebidos em doação ou mediante empréstimo de outras coleções (Tab. 1). Os espécimes que já estavam na coleção de F. Carbayo, na EACH, foram obtidos seguindo os procedimentos descritos a seguir. Para as coletas, foram feitas buscas visuais. As buscas se realizaram embaixo de pequenas rochas e de troncos e galhos caídos, durante o dia, e em trilhas e caminhos, durante a noite. As coletas ocorreram entre os anos de 2005-2016 em áreas dos estados brasileiros de Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Os espécimes foram fotografados e seu tamanho, forma e cor foram descritos sumariamente. Quando possível, a localização geográfica de cada espécime por nós coletado, foi registrada com o GPS Garmin Etrex 20 com uma exatidão de 3-50 m. Espécimes que foram processados histologicamente no laboratório para este trabalho receberam o número de tombo da coleção do Prof. Fernando Carbayo, mas quando depositado definitivamente em coleção científica, será acrescido o número de tombo dessa coleção.

Foram analisadas lâminas histológicas dos espécimes de *Geoplana* cf. *vaginuloides* estudados por Riester (1938), depositados no Senckenberg Natural History Museum, Frankfurt; *Geoplana* cf. *vaginuloides* estudado por Marcus (1951), de *Geoplana* cf. *chita* e de *Geoplana* cf. *vaginuloides* estudados por Froehlich (1956a) (Tab. 1). Também foram analisados espécimes em solução alcoólica da coleção da Profa. Eudóxia Maria Froehlich que estavam identificados como *Geoplana chita* e *G. vaginuloides*, respectivamente. Dado que esses espécimes da coleção da Professora não têm número de tombo, achamos distingui-los individualmente com um número de tombo da nossa coleção. Destes últimos também foram feitas preparações histológicas conforme descrito abaixo.

Os espécimes de coleções citados na literatura, mas que não puderam ser identificados estão arrolados na Tab. 2.

Tab. 1. Representatividade das espécies de *Geoplana* tradadas neste trabalho. (SMF): Senkenberg Museum Frankfurt; (EMF): coleção da Profa. E. M. Froehlich. (CCS): espécie candidata confirmada. (ED): espécie descrita ou redescrita. (FC): coleção de Fernando Carbayo. (im): imaturo.

Espécie nominal	Nome proposto	Categoria taxonômica	Depósito	Espécime	Aparelho copulador	COI	EF
<i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	<i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	ED	FC	F6387	sim	sim	sim
			SMF	N738	sim	não	não
			SMF	N574	sim	não	não
			SMF	N628	sim	não	não
<i>Geoplana vaginuloides</i> sensu Riestner (1938) (em parte)	<i>Geoplana apua</i> Almeida & Carbayo nom. nov.	ED	FC	F5236	sim	sim	não
			EMF	F7001	sim	não	não
			SMF	N460	sim	não	não
<i>Geoplana vaginuloides</i> sensu Marcus (1951)	<i>Geoplana mogi</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	ED	FC	F1022	não	não	sim
			EMF	F7000	sim	não	não
			EMF	Espécime de Marcus (1951)	sim	não	não
<i>Geoplana vaginuloides</i> sensu Marcus (1952)	<i>Geoplana piratininga</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	ED	FC	F5134	sim	não	não
			FC	F5135	não (im)	não	não
			FC	F0509	não (im)	sim	sim
			EMF	F6999	sim	não	não
			FC	F1163	não (im)	sim	sim
(E. M. Froehlich, não publicado)	<i>Geoplana paranapiacaba</i> sp. n.	ED	FC	F6660	sim	sim	sim
		ED	EMF	F6998	sim	não	não
-	<i>Geoplana caraguatatuba</i> sp. n.	ED	FC	F6727	sim	sim	não
			FC	F7004	não (im)	não	não
			FC	F6976	não (im)	sim	não
-	<i>Geoplana ibiuna</i> sp. n.	ED	FC	F3562	sim	sim	não
			FC	F6907	sim	sim	sim
			FC	F6908	sim	sim	sim
			FC	F6909	sim (im)	sim	não
(E. M. Froehlich, não publicado)	<i>Geoplana cananeia</i> sp. n.	ED	FC	F4096	sim	sim	sim
			FC	F4097	não (im)	sim	sim

Espécie nominal	Nome proposto	Categoria taxonômica	Depósito	Espécime	Aparelho copulador	COI	EF
			FC	F4098	sim	sim	sim
-	<i>Geoplana cambara</i> sp. n.	ED	FC	F1611	sim	sim	sim
			FC	F1635	não (im)	sim	sim
-	<i>Geoplana iporanga</i> sp. n.	ED	FC	F3132	não (im)	não	sim
			FC	F3166	sim	sim	não
<i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857	<i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857	ED	FC	F3249	sim	sim	sim
			FC	F6528	sim	sim	sim
			FC	F6544	sim	não	sim
<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956	<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956	ED	EMF	s/n	sim	não	não
			FC	F1710	não (im)	não	sim
			FC	F1730	sim	não	sim
			EMF	F6993	sim	não	não
			EMF	F6995	sim	não	não
<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956 (em parte)	<i>Geoplana boraceia</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.	ED	EMF	s/n	sim	não	não
			FC	F4112	sim	não	sim
			FC	F4358	não	não	não
			FC	F4389	sim	sim	não
			FC	F6026	não	sim	não
			FC	F6055	não	sim	sim
			FC	F6068	não	sim	não
			FC	F6357	sim	sim	sim
			FC	F6575	sim	sim	sim
			FC	F6578	sim	sim	sim
-	<i>Geoplana</i> sp. 1	CCS	FC	F2934	sim	sim	não
			FC	F2943	sim	sim	sim
			FC	F2944	sim	sim	sim
-	<i>Geoplana</i> sp. 2	CCS	FC	F5163	sim		
			FC	F5145	sim		
			FC	F5204	sim		
-	<i>Geoplana</i> sp. 3	UCS	FC	F2638	não		
-	<i>Geoplana</i> sp. 4	UCS	FC	F1707	não		

Tab. 2. Espécimes em lâminas histológicas cuja identidade não pode ser confirmada neste trabalho.

Espécime	Identificação / rotulagem nas etiquetas	Depósito
N223	<i>Geoplana vaginuloides</i> [in Riester, 1938]	SMF
3 lâminas com cortes transversais	G. vaginuloides Azan. 6M 23.3.1953 13 / G vaginuloides H.E. 6M 23.3.1953 14 / G vaginuloides H.E. 6M 23.3.1953 15	EMF
2 lâminas com cortes transversais pre-faríngeos	G vaginuloides transv. 6M Azan 5 out. 1953 1 lams. 1-4 entre 5 e 6,5mm da ponta anterior. Teresópolis / G vaginuloides transv 8µ H.E. 5 out. 1953 2	EMF
2 lâminas com cortes transversais pre-faríngeos	G vaginuloides transv. 6U Azan 5 out. 1953 5 24 lams. 5-9 trecho entre 14,5 e 16mm da ponta anterior (pré faringe) / G vaginuloides transv. 8U H.E. 5 OUT. 1953 6 25	EMF
1 lâmina com cortes transversais pre-faríngeos	vaginuloides	EMF
5 lâminas com cortes sagitais da faringe e aparelho copulador	vaginuloides 1 / vaginuloides 2 / vaginuloides 2 / vaginuloides 4 / vaginuloides 5	EMF
6 lâminas com cortes transversais da região anterior	G. vaginuloides extr. Ant. transv. Azan. 6U 1 23.3.1953 lams 1-15 veme do Jaraguá / G. vaginuloides extr. Ant. transv. Azan. 6U 2 23.3.1953 / G. vaginuloides extr. Ant. transv. 6U 3 23.3.1953 / G. vaginuloides 4 23.3.1953 / G. vaginuloides extr. Ant. transv. 6U H.E. 5 23.3.1953 / G. vaginuloides extr. Ant. transv. Azan. 6U 6 23.3.1953	EMF

Fixação e conservação

Os espécimes foram mortos com água fervente. De cada espécime, foi cortado um pedaço da cauda ou da região pré-faríngea. O pedaço foi fixado em etanol absoluto e mantido a -20°C para estudos moleculares. O resto do corpo foi fixado em formalina 10%, tamponada ou não, e em álcool 100%. Depois de 1-4 semanas, o corpo foi transferido e conservado em etanol 80% para estudos histológicos.

Microtomografia computadorizada

Dos espécimes F6026 (*Geoplana* sp. n.) e F6727 (*Geoplana caraguatatuba* sp. n.) foram obtidas imagens do aparelho copulador com auxílio da microtomografia computadorizada. Os espécimes foram banhados por 120 dias em uma solução alcoólica com iodo (I₂), depois foram lavados rapidamente em álcool etílico absoluto e transferidos separadamente a um tubo plástico, contendo etanol absoluto, para proceder ao escaneamento com o microtomógrafo (mCT) Skyscan 1173 (espécime F6026) ou Skyscan 1272 (espécime F6727) (Bruker, Kontich, Belgium), no Museum of Comparative Zoology, Harvard University (Massachusetts, EUA) e no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), em Campinas (SP), respectivamente. Os parâmetros básicos do mCT selecionados para a obtenção de imagens do espécime F6026 foram: voltagem: 73 KV; amperagem: 104 µA; tamanho do pixel das imagens: 5,69 µm; Filtro=No Filter; Profundidade (bits)=16; exposição (ms)= 1000; rotação (graus)=0,15; imagens por tomada=12. Foi obtido um total de 1600 imagens em formato TIFF. A reconstrução virtual do corpo em 2D foi feita em formato BMP com o software Nrecon Version 1.6.6.0 (Bruker MicroCT, Kontich, Belgium) com os

seguintes parâmetros: Smoothing=0; Ring Artifact Correction=1; Beam Hardening Correction=0%; HU Calibration=OFF.

Os parâmetros utilizados para o espécime F6727 foram: voltagem: 21 KV; amperagem: 175 μ A; tamanho do píxel das imagens: 3.249953 μ m; Filtro=No Filter; Profundidade (bits)=16; exposição (ms)=1458; rotação (graus)=0,080; imagens por tomada=2. Foi obtido um total de 2400 imagens em formato TIFF. A reconstrução virtual do corpo em 2D foi feita em formato BMP com o software Nrecon Version 1.6.6.0 (Bruker MicroCT, Kontich, Belgium) com os seguintes parâmetros: Smoothing=0; Ring Artifact Correction=1; Beam Hardening Correction=0%; HU Calibration=OFF.

Cortes virtuais dos espécimes foram obtidos com o software ©Data viewer (<http://www.skyscan.be/products/downloads.htm>) e exportados em formato BMP. Detalhes sobre a aquisição e reconstrução das imagens podem ser consultados no Apêndice 1.

Preparações histológicas

Os animais foram desidratados em uma sequência de soluções com concentrações aquosas crescentes de álcool etílico 80-90-95-100% e álcool isopropílico, com permanência de 60 minutos em cada fluido. Depois foram imersos em óleo de cravo ou eugenol por aproximadamente 1-60 dias. A distribuição dos olhos foi analisada com o auxílio de uma lupa estereoscópica e foram tiradas fotografias para registrar essa distribuição. Os espécimes foram cortados com um bisturi em peças menores. Estas peças correspondem, da ponta anterior para a cauda, à região anterior do corpo, região dos ovários, região pré-faríngea, faringe, aparelho copulador, cauda. De animais grandes, a parte do corpo anterior a da pré-faringe, foi cortada em uma peça adicional, chamada parte anterior 2 (ou 3).

Cada uma destas peças foi transferida do óleo de cravo ou eugenol para etanol isopropílico, onde permaneceu por 60 minutos. Depois as peças receberam os seguintes banhos, com 60 minutos de duração cada, a 62° C: etanol isopropílico, mistura 1 : 1 de isopropílico e parafina (Histosec Merck) e três banhos parafina pura, o último para formar o bloco de parafina sólida com a peça no seu interior.

Cortes seriados foram realizados com o auxílio do micrótomo Micron HM315R. Geralmente, a espessura de corte foi 7 μ m, mas alguns cortes foram realizados a 5, 3 e 1 μ m de espessura. Nestes casos, isto é indicado na seção de material estudado de cada espécie. Foram adotados três planos de corte, dependendo das estruturas a serem analisadas. Geralmente, os cortes da parte anterior e da pré-faringe foram transversais; cortes da região dos ovários foram horizontais; cortes da região faríngea e do aparelho copulador, sagitais. A organização das fibras musculares parenquimáticas foi principalmente analisada em cortes da região anterior e dos ovários.

Os cortes seriados foram estendidos sobre lâminas histológicas untadas com uma mistura de glicerol e albumina de clara de ovo na proporção de 1 : 1. Algumas gotas de água foram depositadas sobre os cortes nas lâminas; estas foram levadas a uma chapa aquecida a ~40°C para facilitar o esticamento dos cortes e deixou-se secar a temperatura ambiente. A seguir, foram submetidas a dois banhos de xilol por 60 minutos e

hidratadas em uma série de concentração descendente de álcool etílico 100-95-80-70%, por três minutos em cada banho e mergulhadas em água destilada por cinco minutos. A seguir os cortes foram corados como se descreve a seguir. A coloração utilizada foi a tricrômica de Mallory-Heidenhain adaptada por Cason (1950). Esta consiste em um banho único de 5-7 minutos (mais tempo para cortes mais finos) em uma solução aquosa de ácido fosfotúngstico, Orange G, Anilina azul e Fucsina ácida (1, 2, 1 e 3 g, respectivamente em 200 ml de água destilada). As lâminas com os tecidos corados foram desidratadas em uma série de álcool etílico em concentração ascendente de 70-80-90-100-100%, por um segundo em cada um dos cinco banhos, e logo depois 10 minutos em xilol com 3-6 gotas de fenol diluído em álcool isopropílico, para retirar resíduos de água. Um segundo banho em xilol de, no mínimo, 10 minutos, antecedeu a colocação de lamínula com balsamo sintético do Canadá (Entellan ou Synth).

Preparações da coleção de F. Carbayo mais antigas foram coradas seguindo aproximadamente o mesmo protocolo. Algumas estavam fracamente coradas ou pouco diferenciadas e foram recoloridas seguindo este procedimento: banho em xilol por 1-10 dias para remoção da lamínula, hidratação em série descendente de álcool etílico e banho em água destilada. A recoloração seguiu o procedimento acima descrito para a coloração de Mallory-Heidenhain modificada por Cason (1950).

Análise da morfologia externa e interna

A morfologia externa dos animais vivos foi examinada a olho nu ou com lupa de mão, e em fotografias obtidas com a câmera fotográfica digital Canon t5i e o flash Canon MT-24EX Macro Twin Lite. Também foram obtidas fotografias dos animais fixados com a câmera Sony DSC-W125 ou com a câmara digital embutida do telefone celular Motorola G e E, ambos colocados sobre a ocular da lupa estereoscópica Olympus SZ61.

A análise histológica foi feita com auxílio do microscópio óptico Olympus BX-51. Fotografias digitais dos cortes foram tiradas com a câmera fotográfica digital Olympus DP-72, acoplada ao microscópio. A região pré-faríngea, e faringe e o aparelho copulador foram desenhados à mão com auxílio de câmara clara, também acoplada a microscópio. Os espécimes encontram-se depositados na coleção de F. Carbayo, no Laboratório de Ecologia e Evolução (EACH – USP) e serão depositados definitivamente no Museu de Zoologia da USP.

O material estudado por Riester foi estudado no próprio local de depósito, SMF. As lâminas histológicas foram analisadas com o auxílio dos microscópios ópticos Laborlux S e Diaplan (Leitz Wetzlar). Imagens em JPG foram feitas das regiões cefálica, pré-faringe, faringe e aparelho copulador com o auxílio de uma câmera fotográfica digital Canon EOS 5D Mark II, acoplada a estes microscópios. O aparelho copulador foi reconstruído com o auxílio de uma câmara clara acoplada ao microscópio óptico do modelo Laborlux S. Outras fotos, também em JPG, foram com a câmera fotográfica embutida no aparelho celular Motola E, diretamente sobre a ocular.

Obtenção de dados moleculares

A extração de DNA de todos os tecidos foi feita pelo método do acetato de amônia, excetuando o tecido de três indivíduos, F1022, F6068, F6528, dos que se extraiu com DNAzol Direct® (Molecular Research Center, Inc.); de um segundo pedaço de tecido do espécime F6026, o DNA foi extraído com fenol/clorofórmio. A extração de material genético com o protocolo a base de acetato de amônia obedeceu as seguintes etapas de execução: (1) secagem do tecido em bomba de vácuo por 5 minutos; (2) adição 30 µL de solução de lise e 5 µL de Proteinase K; (3) incubação em estufa a 55°C *over night*; (4) resfriamento das amostras a temperatura ambiente e adição de 300 µL de acetato de amônia; (4) incubação em gelo por 30 minutos; (5) centrifugação das amostras por 10 minutos a 13000 rpm a 4°C; (6) transferência do sobrenadante para tubos novos e a estes adição de 600 µL de isopropanol absoluto gelado; (7) inversão cuidadosa da posição dos tubos e incubação a -20°C por 1 hora; (8) centrifugação das amostras por 10 minutos a 13000 a 4°C e descarte do sobrenadante; (9) adição a cada amostra 600 µL de etanol 70% gelado e centrifugação como descrito acima, seguido do descarte do sobrenadante; (10) secagem de cada *pellet* em bomba de vácuo por 30 minutos e ressuspensão do DNA em 30-50 µL de solução de TE (Tris base, EDTA e H₂O miliQ) *over night* a temperatura ambiente e (11) estocagem das amostras na geladeira. Para alguns tecidos a extração foi feita com o kit DNAzol Direct®, como sugere o fabricante. A extração de tecido com o protocolo de fenol/clorofórmio foi realizada de acordo com os seguintes passos: (1) secagem dos tecidos em bomba de vácuo por 5 minutos; (2) adição de uma solução contendo 5 µL de Tris-HCl IM pH 8.0, 100 µL de EDTA 0.5M pH 8.0, 25 µL de SDS 10% e 500 µL de H₂O miliQ; (3) adição de 6 µL de Proteinase K, e incubação a 37°C *over night*; (4) adição de 500 µL de fenol tamponado, agitando-se a mistura por 10 minutos; (5) centrifugação das amostras por 10 minutos a 10000 rpm com a transferência do sobrenadante para outro tubo, no qual se acrescentaram 500 µL de fenol tamponado, agitando por 5 minutos e centrifugando por mais 5 minutos a 10000 rpm; (6) transferência do sobrenadante a outro tubo, no qual foram adicionados 500 µL de clorofórmio:álcool isoamílico, na proporção 24:1, agitando por 10 minutos e centrifugando em seguida a 10000 rpm por 10 minutos; (7) transferência do sobrenadante para outro tubo, adição de 20 µL de NaCl 6M, 500 µL de etanol absoluto gelado e agitação cuidadosa, seguida de centrifugação a 13000 rpm por 10 minutos a 4°C; (8) descarte do sobrenadante e adição, ao *pellet*, de 200 µL de etanol 70%; (9) centrifugação a 13000 rpm por 5 minutos a 4°C, descartando-se posteriormente o sobrenadante; (10) o DNA precipitado secou a temperatura ambiente; e (11) diluição do DNA em 100 µL de TE (Tris-HCl 10 mM pH 8.0, EDTA 1mM pH 8.0). A qualificação e quantificação da concentração de DNA foram realizadas através do espectrômetro Thermo Scientific NanoDrop 2000.

Após a extração, os fragmentos de DNA correspondendo ao gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI), com ~1000 pares de base, e ao gene nuclear Fator de Elongação-1- α (EF-1- α), com 600 pares de bases, foram amplificados pela *Polimerase Chain Reaction* (PCR) em um termociclador Touchgene Gradient (Techne, Inc). Os iniciadores (*i.e.*, *primers*) utilizados na obtenção das sequências nucleotídicas destas regiões então detalhados na Tabela 3.

Os ciclos no termociclador para ambos os *primers* iniciaram-se com a denaturação a 98°C por 3

minutos, seguida por 35 ciclos de 10s a 98°C, 30s a 45°C, 1 minuto por 72°C e extensão final de 5 minutos a 72°C. O volume final de cada PCR foi de 20 µL, contendo 10,55 µL de H₂O miliQ, 4 µL Phusion CG Buffer, 1 µL de dNTP, 1 µL para ambos os iniciadores, 1,25 µL de sulfóxido de dimetilo (DMSO), 0,2 µL de Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase e 1 µL de DNA.

Os produtos obtidos da amplificação foram purificados com AMPURE® (AGENCOURT® Inc.), como sugerido pelo fabricante. Após a purificação, foram feitas qualificação e quantificação desses processos, *i.e.* medições das concentrações de DNA através do espectrômetro Thermo Scientific NanoDrop 2000. Aos fragmentos dos genes já purificados foi aplicado o protocolo de Big Dye® Terminator Cycle Sequencing Kit v.3.1 (Applied Biosystems®). As amostras foram entregues, parte ao Serviço de Sequenciamento do Departamento de Bioquímica da USP (IQ-USP), onde foram sequenciadas no sequenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems®), parte ao Departamento de Botânica (IB-USP).

Tabela 3. *Primers* utilizados para a amplificação e sequenciamento de fragmentos nucleotídicos.

Região genômica	Primer	Sequência primer (5' – 3')	Referência
COI	COIR	CCWGTYARMCCCHCCWAYAGTAAA	Lázaro <i>et al.</i> (2009)
COI	COIR	GAGCAACAACATAATAAGTATCATG	Sunnucks <i>et al.</i> (2006)
COI	BarS	GTTATGCCTGTAATGATTG	Álvarez-Presas <i>et al.</i> (2011)
COI	BarT	ATGACDGCSCATGGTTTAATAATGAT	Álvarez-Presas <i>et al.</i> (2011)
FF-1-α	EFplatF	GATTGCYCCWGGYCATCG	Carbayo <i>et al.</i> (2013)
FF-1-α	EFplatR	GCRATWGAYTCGTGRTGC	Carbayo <i>et al.</i> (2013)

Inferência filogenética

A inspeção dos cromatogramas e a correção de ambiguidades resultantes do sequenciamento foram realizadas com o auxílio do pacote de programas PhredPhrap e Consed (Ewing & Green 1998; Ewing *et al.*, 2008; Gordon *et al.*, 1998, 2001). Cada sequência foi submetida a busca de sequências similares com a ferramenta *Blast Glocal*, disponibilizada pelo GenBank. Os *contigs* obtidos foram incorporados a uma matriz e alinhados com MAFFT (Kato, *et al.*, 2004). Regiões de stop códon nas sequências de COI foram averiguadas usando a ferramenta online *DNA-to-protein-translation* (Bikandi *et al.*, 2004). O programa BioEdit (Hall, 1999) foi utilizado para visualização e edição das sequências.

As sequências moleculares obtidas foram analisadas conjuntamente com outras sequências de Geoplaninae disponíveis no *GenBank*, incluindo membros de *Geoplana*, de *Obama* e de *Cratera*, estes dois últimos utilizados como grupo externo para enraizamento das topologias (Farris, 1982; Nixon & Carpenter, 1993). As espécies que compõem o grupo externo são: *Cratera pseudovaginuloides* (Riester, 1938), *Cratera tamoia* (Froehlich, 1955), *Obama burmeisteri* (Schultze & Müller, 1857) e *Obama josefi* (Carbayo & Leal-Zanchet, 2001), seguindo Carbayo *et al.*, (2013).

As análises filogenéticas foram realizadas sob dois critérios de optimalidade, parcimônia e verossimilhança. Sob o critério de parcimônia, foram realizadas 3 análises distintas, sendo uma a partir de uma matriz com sequências de fragmentos do gene EF-1- α , outra com sequências do gene COI e outra para sequências dos dois genes concatenados.

As análises de parcimônia foram feitas com o programa TNT (versão 1.1, Goloboff, *et al.*, 2008) utilizando buscas heurísticas com algoritmos de buscas setoriais, ratchet e fuse (*sectorial search*, sendo Goloboff, 1999), com os seguintes parâmetros de busca: *xmu: rep 1000 ratchet 10 fuse 10 hold 10*. O suporte dos ramos foi estimado pelo índice de Goodman-Bremer (Goodman *et al.*, 1982; Bremer, 1994; Grant & Kluge, 2008) utilizando o macro BREMER.RUN distribuído com o TNT. Os comprimentos dos ramos foram obtidos com o programa PAUP (versão 4a147; Swofford, 2003).

As análises de verossimilhança foram feitas com o programa Garli (versão 2.0.1019; Zwickl, 2006). No total, foram realizadas 3 análises (uma para cada gene e outra com os fragmentos concatenados) e o melhor modelo para cada uma delas foi obtido com o auxílio do programa JmodelTest (versão 2.1.7; Posada, 2008). O suporte dos ramos implementado foi estimado, em Garli, pela Verossimilhança diferencial (Meireles *et al.*, 1999).

Considerações sobre conceito de espécie

Entendemos aqui espécie como uma linhagem de indivíduos que evolui independentemente (Cracraft, 1983). Uma linhagem pode ser reconhecida por características compartilhadas por seus membros (*i. e.*, indivíduos) quanto a haplótipos, morfologia, comportamento e ecologia (de Queiroz, 2007). Neste trabalho, as topologias inferidas de dados moleculares fornecem clados em múltiplos níveis hierárquicos e a determinação do que entendemos por linhagem independente é dada pela congruência de dados moleculares e morfológicos (observáveis em animais inteiros, em preparações histológicas ou em cortes virtuais de microtomografia computadorizada).

Para a maior parte dos indivíduos aqui estudados, dispomos de dados morfológicos e moleculares, mas também incluímos indivíduos para os quais se conhecem apenas caracteres morfológicos de importância taxonômica (especialmente os do aparelho copulador) ou sequências de DNA (Tab. 1). Para tratar esta diversidade de graus de conhecimento das linhagens, achamos conveniente adotar a nomenclatura proposta por Vieites *et al.* (2009) para anuros e também seguida por Sluys *et al.* (2013) em um estudo morfológico-molecular de planárias de água doce de Dugesidae. Vieites *et al.* (2009) consideram três categorias: (1) espécie candidata confirmada (CCS), para táxons bem delimitados através de dados moleculares e por outro tipo de dado, como morfológico, mas que não estão formalmente descritas; (2) espécie candidata não confirmada (UCS), para espécies que podem ser delimitadas apenas por dados moleculares, mas por nenhum outro tipo de dado. Os autores ainda consideram uma terceira categoria, que não se aplica às espécies deste trabalho, que é uma (3) linhagem coespecífica profunda (DCL), para espécies molecularmente distintas, mas morfológicamente idênticas ou muito similares. Além destas categorias, incluímos a de espécies aqui descrita

ou redescritas (ED).

Neste trabalho, CCS estão representadas por populações ou indivíduos dos que são conhecidas sequências de DNA e aparelho copulador distintos. UCS são representadas por indivíduos dos que se têm sequências de DNA distintas, mas são imaturos. Dado que as duas espécies categorizadas como CCS (*Geoplana* sp. 1, *Geoplana* sp. 2) não guardam semelhança, no padrão cromático, com nenhuma das espécies conhecidas do gênero, não serão aqui descritas. As outras espécies categorizadas como UCS (i. e., *Geoplana* sp. 3 e *Geoplana* sp. 4), não sendo maduras, não é possível fazer uma descrição com critérios atuais.

Abreviações utilizadas nas figuras

- (cg) cyanophilic gland cells – células glandulares cianófilas
- (co) common glandular ovovitelline duct - ducto ovovitellino comum
- (e) eye - olho
- (ej) ejaculatory duct – duto ejaculatório
- (fa) female atrium - átrio feminino
- (fd) female genital duct – ducto genital feminino
- (g) gonopore - gonóporo
- (i) intestine - intestino
- (lc) longitudinal cutaneous muscles - musculatura longitudinal cutânea ou subepidérmica
- (lp) longitudinal parenchymatic muscles - musculatura longitudinal parenquimática
- (m) muscles – fibras muscular
- (ma) male genital atrium – átrio genital masculino
- (mo) mouth - boca
- (o) ovary -ovário
- (ov) ovovitelline duct – ducto ovovitellino
- (ph) pharyngeal pouch – bolsa faríngea
- (pp) penis papilla – papila peniana
- (px) pharynx - faringe
- (sb) subintestinal transverse muscles - musculatura subintestinal transversal
- (sd) sperm duct – duto eferente
- (sg) shell glands – glândulas da casca
- (sp) suprainestinal transverse muscles - musculatura suprainestinal transversal
- (t) testis - testículo
- (vi) vitellaria - vitelários
- (vn) ventral nerve plate – placa nervosa ventral

RESULTADOS. SEÇÃO MORFOLÓGICA

Geoplana vaginuloides (Darwin, 1844)

Sinonímia

Planaria vaginuloides Darwin, 1844, p. 244. Localidade tipo: Rio de Janeiro, Brasil.

Geoplana vaginuloides Riester, 1938, p. 72-75 (em parte); *Geoplana vaginuloides* Froehlich (1956a) p. 314-315 (em parte).

Material estudado. Espécime F6387: Parque Estadual da Pedra Branca, Rio de Janeiro/RJ, Brasil (-22.93707, -43.46098). F. Carbayo *et al.* col., 13/12/2014. Região cefálica: cortes horizontais em 2 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 8 lâminas; região posterior à dos ovários: cortes horizontais em 10 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 10 lâminas; faringe: cortes sagitais em 5 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 10 lâminas. **Espécime N574** (Senckenberg Natural History Museum, Frankfurt): Barreira, Teresópolis, Rio de Janeiro/RJ, Brasil. E. Bresslau leg. 1914. Região cefálica conservada em bálsamo sobre uma lâmina; região pré-faríngea: cortes transversais em 1 lâmina; faringe: cortes sagitais em 2 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 3 lâminas; cauda conservada em bálsamo sobre uma lâmina. **Espécime N628** (Senckenberg Natural History Museum, Frankfurt): Barreira, Teresópolis, Rio de Janeiro/RJ, Brasil. E. Bresslau, leg. 1914. Região cefálica e cauda conservadas em bálsamo sobre uma lâmina; região pré-faríngea: cortes transversais em 1 lâmina; faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 3 lâminas. **Espécime N738** (Senckenberg Natural History Museum, Frankfurt): Barreira, Teresópolis, Rio de Janeiro/RJ, Brasil. E. Bresslau, 1914. Região cefálica: conservada em bálsamo sobre uma lâmina; região pré-faríngea: cortes transversais em 1 lâmina; faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 3 lâminas.

Ocorrência. Barreira, Teresópolis/RJ; Rio de Janeiro/RJ, Brasil.

Diagnose. Espécie de *Geoplana* com 60 mm de comprimento. Faixa mediana dorsal preta, contornada de listras brancas amareladas; fina linha preta externa às brancas; bordos alaranjados. Ventre alaranjado. Boca no meio da bolsa faríngea. Musculatura interna da faringe composta por fibras musculares subepiteliais circulares seguida de fibras longitudinais. Bulbo peniano mais desenvolvido ventralmente. Papila peniana 15 vezes mais longa que seu próprio diâmetro, projetada da região ântero-ventral do átrio masculino.

Descrição

Morfologia externa. Animais com cerca de 60 mm de comprimento e 4 mm de largura. O corpo é alongado, com bordos aproximadamente paralelos, extremidade anterior arredondada e posterior obtusa. No dorso corre uma faixa mediana preta com 2/7 da largura do corpo, que se inicia um pouco atrás da ponta anterior. Na sua extremidade anterior e nas margens, a faixa é contornada por um par de listras branco-amareladas que se estendem até praticamente a ponta posterior. Estas listras são contornadas externamente por duas finas linhas pretas que, por sua vez, são margeadas por duas largas faixas marginais vermelho-ferrugíneas (Fig. 1A). Ventralmente, a região cefálica é esbranquiçada, com bordos pretos; o resto do ventre é alaranjado claro. Em volta dos poros, a cor é esbranquiçada (Fig. 1B).

Os olhos contornam a extremidade anterior do corpo; para trás, ganham progressivamente o dorso, ocupando uma faixa marginal com cerca de 1/3 de largura do corpo. Da região mediana até a cauda ocupam espaçadamente todo o dorso. Os olhos mais anteriores têm forma de pão de açúcar; os posteriores, forma de cálice comum (Fig. 1C-D).

A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 50% e 64% do comprimento do corpo, respectivamente.

As fossetas sensoriais têm 200 µm de profundidade. Contornam a região anterior do corpo e ocorrem, ao menos no 1/4 anterior do corpo.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa cerca de 97% da superfície ventral. O epitélio dorsal é atravessado por abundantes células rabditógenas, especialmente nas margens. O epitélio dorsal e ventral são atravessados por escassas células secretoras de dois tipos, produtoras de grânulos eritrófilos e de cianófilos, respectivamente. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma fina camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada de fibras longitudinais composta por feixes com 16–35 fibras cada um. O índice mc:h é de aproximadamente 8%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, fraca, de fibras diagonais decussadas, uma camada supaintestinal e outra subintestinal, ambas fracas e constituídas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas (Fig. 1E).

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se no meio da bolsa faríngea; esta encosta no bulbo peniano. A faringe é cilíndrica. O epitélio externo da faringe, alto e ciliado, é atravessado por células secretoras de grânulos grossos de dois tipos, um xantófilo, abundante, e outro eritrófilo. Sob o epitélio externo da faringe há uma camada muscular (6 µm) de fibras longitudinais, seguida por outra camada (30 µm) de fibras circulares pouco aparente. O epitélio externo da faringe é atravessado por numerosas células secretoras de grânulos xantófilos e por outras, menos abundantes, de grânulos cianófilos. Sob o epitélio interno há uma camada muscular (40 µm) de fibras circulares, seguida de outra (10 µm) de fibras longitudinais (Fig. 1F-H).

Os testículos, dorsais, são abaloados. Os maiores medem cerca de 180 µm. As fileiras de testículos

começam muito próximas do ápice anterior do corpo, a uma distância equivalente a 7,5% do comprimento corporal. Os posteriores atingem as proximidades da faringe (41% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa rede de fibras musculares; sua parte mais volumosa é a ventro-anterior; para trás se estende até a região do gonóporo, envolvendo assim o átrio masculino (Figs. 1H, 2A-B, 2D). Por conta da qualidade das preparações histológicas, não podemos confirmar outro tipo de secreção, apenas acidófilo.

Os ductos eferentes situam-se em posição dorsolateral aos ovoviteloductos. Cada um penetra o bulbo peniano em sua região ântero-ventral, encurvam-se para a frente e unem-se no ducto ejaculatório, inicialmente externo a papila peniana, é uma cavidade ímpar em forma de C em vista lateral que se continua, dentro da papila peniana até seu ápice. Tanto os ductos eferentes, como as porções externa e interna do ducto ejaculatório, são revestidos por um epitélio cúbico ciliado envolvido por uma camada muscular de fibras circulares. Esta camada é fina no trecho até a altura do gonóporo (espessura de cerca de um terço do diâmetro do ducto, i.e., 5 μ m), e espessa a partir desta região. Não existe uma cavidade dilatada que se possa reconhecer como vesícula prostática (Fig. 2A-F).

O ducto ejaculatório atravessa a região central da papila peniana; o epitélio deste ducto também é atravessado por secreção rosada, cujo tipo não é possível de ser identificado (Fig. 2C). A papila peniana é delgada, muito longa, retilínea e horizontal; possui cerca de 15 vezes o seu próprio diâmetro; invade todo ou quase todo o espaço do átrio feminino; sua inserção dorsal é marcadamente deslocada para a frente e para o ventre, podendo estar inclusive à altura da inserção ventral (Figs. 1H, 2A-B, 2D); a musculatura subepitelial da papila está organizada em uma espessa e densa camada (42 μ m) de fibras circulares seguida por uma camada fina (5 μ m) de fibras longitudinais; o epitélio da papila peniana é atravessado por secreção rosada granular. O átrio masculino é longo, amplo e sem pregas. Detalhes sobre musculatura e presença de células secretoras não são visíveis por causa da má qualidade das preparações histológicas (Figs. 1H, 2A-B).

Os ovários, arredondados, têm cerca de 250 μ m; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 20,5% do comprimento do corporal. Não conseguimos identificar de onde emergem os ovoviteloductos. Os ovoviteloductos correm ventralmente, apostos à placa nervosa; atrás da região do gonóporo, ascendem obliquamente e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este longo ducto, com comprimento equivalente à metade deste átrio, comunica-se com o canal genital feminino, que é uma continuação funiliforme do átrio na parte posterior deste órgão feminino, dirigida para o dorso e para a frente, ou seja, a condição 'proflex' (Ogren & Sluys, 1998) (Figs. 1H, 2A-B, E, G).

O átrio feminino é uma cavidade muito longa e sem dobras, com 2-3 vezes o comprimento do átrio masculino. É revestido por um epitélio alto em quase toda sua extensão, com exceção da região posterior, onde é lacunar e tem aparência estratificada. O átrio recebe células secretoras cuja afinidade pelo corante é incerta. A musculatura que envolve o átrio feminino é formada por uma camada de fibras longitudinais, seguida por uma camada de fibras organizadas em retícula. A soma da espessura destas camadas musculares tem praticamente a mesma altura (25 μ m) em quase todo o átrio, exceto na porção posterior, de epitélio

lacunar, onde esta praticamente dobra de espessura (47 μm) (Figs. 1H, 2A-B, G, E).

Comentário sobre os espécimes de Riester

Da análise dos cortes histológicos dos espécimes de Riester, espessos e provavelmente corados com HE, não se pode concluir quais são os tipos das secreções uma vez que os tecidos se apresentam igualmente rosados.

Fig. 1. *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844). (A): vista dorsal do espécime F6387, fotografado com flash (e com luz natural, no requadro); região anterior à direita. (B): vista ventral do espécime F6387; região anterior à direita. (C): distribuição dos olhos na porção anterior do espécime N738, estudado por Riester (1938), em bálsamo do Canadá. (D): olhos com forma de pão-de-açúcar no ápice anterior do corpo do espécime N574, estudado por Riester (1938), em bálsamo do Canadá. (E): microfotografia da musculatura parenquimática longitudinal em um corte sagital da região da faringe do espécime N574; eixo ântero-posterior do corpo é horizontal. (F): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime N738. (G): microfotografia dos epitélios externo e interno da faringe do espécime F6387, em um corte sagital. (H): Reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F6387. A qualidade dos cortes não permitiu traçar a junção dos dutos eferentes com o ejaculatório. Figs. A-G sem escala.

Fig. 2. *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844). (A): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime N738, estudado por Riester (1938). (B): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime N738. (C): microfotografia de uma seção da papila peniana e do duto ejaculatório do espécime N574, estudado por Riester (1938) em um corte sagital. (D): microfotografia do bulbo peniano do espécime N738 em um corte sagital. (E): microfotografia da porção distal da papila peniana do espécime N738 em um corte sagital. (F): microfotografia da região central da papila peniana do espécime F6387 em um corte sagital. (G): microfotografia da porção posterior do átrio feminino do espécime F6387 em um corte sagital.

Fig. 3. *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844): Desenhos esquemáticos de um espécime imaturo desenhado por E. M. Froehlich.

***Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov.**

Sinonímia

Geoplana vaginuloides Riester, 1938, p. 72-75 (em parte); *Geoplana vaginuloides* Froehlich (1956a) p. 314-315 (em parte).

Material estudado

F5236: Nova Iguaçu / RJ, Brasil. Cristiano Sampaio *et al.*, col et leg. 4-6/iv/2012. Região cefálica: cortes horizontais em 8 lâminas; região dos ovários: cortes sagitais em 5 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 10 lâminas; faringe: cortes sagitais em 6 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 11 lâminas. **N460** (Senckenberg Natural History Museum, Frankfurt): Barreira, Teresópolis, Rio de Janeiro / RJ, Brasil. Bresslau leg. 1914. Região cefálica e cauda: conservadas em bálsamo sobre uma lâmina; região pré-faríngea: cortes transversais em 1 lâmina; região da faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 2 lâminas. **F7001:** Teresópolis, Rio de Janeiro / RJ, Brasil. E. M. Froehlich, 20/07/1952. Aparelho copulador: cortes sagitais em 18 lâminas.

Etimologia. O epíteto específico, *apua*, com significado de monte (Tibiriçá, 1984), é uma referência à orografia da região onde ocorre a espécie.

Ocorrência. Nova Iguaçu/RJ e Teresópolis / RJ, Brasil.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 40 mm de comprimento. Faixa dorsal mediana alaranjada margeada de preto. Faixas marginais e bordos pretos. Musculatura interna da faringe composta por fibras musculares subepiteliais circulares seguida de fibras longitudinais. Bulbo peniano mais desenvolvido dorsalmente. A musculatura do ducto ejaculatório com espessura equivalente a cerca de 2,5 vezes o diâmetro externo do ducto. Papila peniana 18 vezes mais longa que seu próprio diâmetro; projetada da região ântero-ventral do átrio masculino.

Morfologia externa. Em animais fixados, o corpo mede cerca de 40 mm de comprimento e 3 mm de largura. O corpo é alongado, os bordos são quase paralelos; a ponta anterior é arredondada; a posterior, obtusa. No dorso, uma faixa mediana laranja toma cerca de 3/5 de largura do corpo na região cefálica e cerca 1/3 da largura no restante do corpo (Figs. 4A, 6). A faixa começa um pouco atrás da ponta anterior, onde é contornada, e apenas nessa extremidade, por uma listra preta que continua para trás como uma faixa preta marginal de cada lado do corpo; entre estas, surge logo atrás da ponta anterior do corpo uma listra de cor preta, externamente margeada por uma listra de cor amarela esverdeada. As margens são amarelo esverdeadas até aproximadamente os primeiros 10 mm de comprimento do corpo e pretas no restante. O ventre é alaranjado, bem claro. Os olhos contornam a extremidade anterior do corpo, e, já no segundo

milímetro de comprimento, ganham as faixas pretas mais externas. Atrás dos 4 mm iniciais, os olhos atingem também as listras amarelas esverdeadas e assim se mantêm, cada vez mais espaçados entre si, até a cauda. Os olhos que contornam a extremidade anterior têm forma de pão de açúcar, os demais apresentam forma de cálice simples.

A boca e o gonóporo estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 55% e 67% do comprimento do corpo, respectivamente.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa cerca de 77% da região ventral /parece pouco/. O epitélio dorsal é atravessado por numerosas células rabditógenas e por células que produzem secreção granular cianófila. O epitélio ventral é atravessado por numerosas células produtoras de secreção cianófila granulosa. Não há bordo glandular. Nos bordos do corpo desembocam numerosos rabditos.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma fina camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida de uma espessa camada (15-20 μm) de fibras longitudinais reunidas em feixes com 11–30 fibras cada. O índice mc:h é 7%.

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa (Fig. 4C). A boca situa-se na metade posterior da bolsa faríngea. A faringe, cilíndrica (Fig. 4E), comunica-se com o intestino através de um curto esôfago. O epitélio distal da faringe, alto e ciliado, é atravessado por três tipos de células que produzem grânulos eritrófilos, xantófilos e cianófilos. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe é composta por uma fina camada (5 μm de espessura) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (30 μm) de fibras circulares, seguida, por sua vez, por outra camada de fibras longitudinais (5 μm). A musculatura subjacente ao epitélio interno da faringe é composta por uma camada de fibras longitudinais (25 μm), seguida por uma camada de fibras circulares (50 μm) e uma terceira de longitudinais (Fig. 4F).

Os testículos, dorsais, apresentam forma abaloada (Fig. 4E) e medem, os maiores, cerca de 225 μm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que começam a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 13% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (55% do comprimento do corpo).

O bulbo é formado por uma densa rede de fibras musculares que se estende até a região do gonóporo; é mais desenvolvido dorsalmente (Fig. 5A-D).

Os ductos eferentes correm apostos à placa nervosa; vindos dos lados, atravessam a região antero-ventral do bulbo peniano, encurvam-se para a frente e unem-se num ducto ímpar, em forma de C em vista lateral (Fig. 5A, C). Este ducto ímpar continua, dentro da papila peniana, como ducto ejaculatório, sem intermédio de uma cavidade dilatada como é típico de uma vesícula prostática. O epitélio, cúbico e ciliado, deste ducto ímpar que antecede o ducto ejaculatório é atravessado por numerosas células de secreção cianófila e por escassas células de secreção xantófila, ambas granulares. Uma camada de fibras circulares envolve este ducto e também o ducto ejaculatório. A espessura desta camada tem 10 μm de espessura, o equivale a 1/3 da largura dos ductos, até a região do gonóporo; para trás tem 47 μm de espessura, que equivale a 3 vezes seu diâmetro (Fig. 5E).

O ducto ejaculatório atravessa a região central da papila peniana; seu epitélio, cúbico e não ciliado, é atravessado por numerosas células de secreção eritrófila de grânulos grossos.

A papila peniana é horizontal, sinuosa, delgada, tão longa como 18 vezes o seu diâmetro; sua inserção dorsal é muito deslocada para a frente e para o ventre; dois terços de seu comprimento estão dentro do átrio feminino, que é praticamente tomado por ela (Fig. 5A-C). O epitélio da papila peniana é atravessado por numerosas células que produzem grânulos xantófilos e eritófilos; sob este epitélio há uma camada (85 μm) de fibras circulares seguida por uma camada (5 μm) de fibras longitudinais (Fig. 5E).

Os ovários, com cerca de 300 μm de diâmetro, possuem forma circular alongada antero-posteriormente; os ovoviteloductos emergem de região dorso lateral dos ovários e correm ventralmente até logo atrás da região do gonópore; então, ascendem e se unem dorsalmente ao átrio feminino; continuam como ducto glandular comum, que possui comprimento equivalente a cerca de 40% do comprimento do átrio feminino (Fig. 5A, C). O ducto glandular comum comunica-se com o canal genital feminino, que é uma continuação funiliforme da parte posterior do átrio feminino, dirigida para o dorso a para a frente; esta direção é chamada 'proflex' (Fig. 5F).

O átrio feminino tem cerca de 3 vezes o comprimento do átrio masculino; através do seu epitélio, baixo, desembocam células secretoras de grânulos xantófilos; a musculatura que envolve este átrio é formada por uma fina camada (2,5 μm) de fibras diagonais que se entrecruzam, seguida por uma camada mais espessa (27,5 μm) de fibras longitudinais (Fig. 5F).

Fig. 4. *Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Riester, 1938 (em parte)). (A): vista dorsal do espécime fixado F5236; região anterior à esquerda. (B): vista dorsal do espécime F7001 sobre papel milimetrado, da coleção da Profa. E. M. Froehlich; região anterior à direita. (C): microfotografia das fibras musculares parenquimáticas suprainestinais, transversais e longitudinais do espécime F5236 em um corte horizontal; eixo ântero-posterior do corpo horizontal. (D): reconstrução de um corte transversal pré-faríngeo do espécime F5236. (E): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F5236. (F): microfotografia o epitélio externo dorsal e o interno da faringe do espécime F5236 em um corte sagital.

Fig. 5. *Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Riester, 1938 (em parte)). (A): reconstrução sagital do espécime F5236. (B): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F5236. (C): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime N460, estudado por Riester (1938). (D): microfotografia do bulbo peniano do espécime F5236 em um corte sagital. (E): microfotografia da papila peniana, atravessada pelo duto ejaculatório, do espécime F5236 em um corte sagital. (F): microfotografia da porção posterior do átrio feminino do espécime F5236 em um corte sagital.

Fig. 6. *Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Riester, 1938 (em parte)): desenhos esquemáticos realizados pela Profa. E. M. Froehlich de dois espécimes de Teresópolis. Um terceiro espécime, escuro, não é da espécie.

***Geoplana mogi* Almeida & Carbayo nom. nov.**

Sinonímia

Geoplana vaginuloides in Marcus, 1951.

Material estudado

Espécime de Marcus (1951): Atual bairro Eldorado, zona Oeste de São Paulo/SP, Brasil. E. Marcus et E. M. Froehlich, 01/11/1947. Aparelho copulador: cortes sagitais em 5 lâminas. **F7000.** Parque do Estado, São Paulo/SP, Brasil. E. Marcus col et leg., E. M. Froehlich, 29/05/1985. Região dos ovários: cortes horizontais em 12 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 35 lâminas. **F1022.** Mogi das Cruzes/SP, Brasil. Fernando Carbayo, et col., 27/05/2006. Região cefálica: cortes transversais em 13 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 7 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 5 lâminas; faringe: cortes sagitais em 8 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 5 lâminas, mais número indeterminado de lâminas perdidas.

Ocorrência: São Paulo/SP e Mogi das Cruzes/SP, Brasil.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome da localidade onde encontramos a espécie, Mogi das Cruzes; o nome é usado em aposição.

Diagnose. *Geoplana* com 50 mm de comprimento. Dorso com uma listra mediana ocre alaranjada externamente margeada de branco. As faixas marginais do corpo, cinzas, têm salpicos esbranquiçados. Os bordos são pretos. Os olhos atingem a faixa mediana. Sob epitélio faríngeo interno, três camadas musculares, a primeira longitudinal. O bulbo peniano é denso e bem desenvolvido dorsalmente. A musculatura que envolve o ducto ejaculatório, em espessura, é menor que seu diâmetro. A papila peniana mede 10 vezes o próprio diâmetro.

Descrição

Morfologia externa. Os adultos, fixados, medem cerca de 50 mm de comprimento e 4 mm de largura. O corpo é alongado, os bordos são quase paralelos, o dorso convexo, o ventre plano, a extremidade anterior arredondada e posterior obtusa. Na região cefálica, que equivale a 1/5 anterior do corpo, corre uma faixa dorsal mediana com 1/3 da largura do corpo, preta, que torna-se ocre-alaranjada a partir desta região e, na extremidade posterior, torna-se preta novamente. Esta faixa é contornada, desde o início, por uma listra branca leitosa, por sua vez margeada externamente por uma estria preta, externamente orlada por uma faixa de pigmentação cinza salpicada de branco. O ventre é branco leitoso (Figs. 7A, 9) e os bordos são pretos.

Os olhos, em forma de pão de açúcar, contornam unisserialmente a ponta anterior. Atrás do primeiro milímetro, olhos em forma de cálice comum se espalham progressivamente pelo dorso até atingirem, na altura da faringe, todo o dorso. Esta distribuição que é mantida até a cauda, mas de maneira muito esparsa.

As fossetas sensoriais medem cerca de 55 μm de profundidade; rodeiam a extremidade anterior do copo e correm até pelo menos 1/3 anterior do corpo. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 55% e 71% do comprimento do corpo, respectivamente.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa 78% de largura da superfície ventral. A epiderme dorsal e a das margens do corpo é atravessada por numerosos rabditos. Através do epitélio dorsal desembocam também numerosas células que produzem grânulos eritrófilos. Células produtoras de grânulos cianófilos abrem-se através do epitélio ventral. Não há bordo glandular (Fig. 2B).

A musculatura subepitelial está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, e uma camada longitudinal composta por feixes de 18-20 fibras cada. O mc:h é de 9,6%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, fraca, de fibras diagonais decussadas, uma camada suprainestinal e outra subintestinal, ambas fracas e constituídas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas.

O sistema nervoso é organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se no fim do primeiro terço da bolsa faríngea; esta encosta no bulbo peniano. Há um curto esôfago. A faringe é cilíndrica, com a inserção dorsal deslocada para trás (Fig. 7C); sua superfície distal é atravessada por células produtoras de grânulos de três tipos, a saber, cianófilos, eritrófilos e xantófilos, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe, baixo e ciliado, é composta por uma camada fina (5 μm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (70 μm) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. Imediatamente sob o epitélio interno da faringe existem algumas fibras musculares longitudinais, e sob elas uma camada (70 μm) de fibras circulares, seguida por uma outra camada (30 μm) de fibras longitudinais.

Os testículos, abaloados e dorsais ao intestino, têm cerca de 320 μm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que começam a uma distância equivalente a 22% da ponta anterior do corpo em relação ao comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (50% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa rede de fibras musculares em que se assenta a papila peniana e que se estende dorsalmente até a região do gonópore; ventralmente o bulbo atinge a metade desta distância. Os ductos eferentes correm em posição dorsal-lateral aos ovovitelo ductos; vindos dos lados, atravessam a região antero-ventral do bulbo peniano, encurvam-se para a frente e unem-se no ducto ejacatório, inicialmente externo a papila peniana, canalicular ímpar, pouco aparente, em forma de C em vista lateral. Este se continua dentro da papila peniana até o ápice deste órgão copulatório (Fig. 8A-B). O epitélio da porção inicial do ducto ejacatório, colunar e ciliado, é atravessado por células produtoras de grânulos palidamente eritrófilos; é envolvido por uma camada de fibras musculares circulares com 60 μm de espessura. Já dentro da papila peniana este epitélio, alto e ciliado, é atravessado por numerosas células produtoras de grânulos eritrófilos; é envolvido por uma camada (20 μm) de fibras musculares circulares. A musculatura desta porção do ducto ejacatório atinge até 1/4 do diâmetro deste ducto (Fig. 8C-D).

A papila peniana é alongada, horizontal, com a inserção dorsal levemente adiantada em relação a

ventral; seu comprimento equivale a cerca de 10 vezes o seu diâmetro. Ocupa todo o átrio masculino e grande parte do feminino (Figs. 7D, 8A-B). Seu epitélio de revestimento é cúbico, não ciliado, e atravessado por células produtoras de grânulos grossos eritrófilos. Além desta secreção, existe um chamativo acúmulo de finos grânulos cianófilos sob certas partes do epitélio de revestimento da papila; estes grânulos se acumulam numa faixa anelar que, no dorso ocupa aproximadamente na metade posterior da papila, e no ventre a metade dessa extensão. Os grânulos são produzidos por células cujos prolongamentos correm entre as fibras musculares subepiteliais da papila (Fig. 8D-E). Esta musculatura é formada por uma densa camada (80-90 μm) de fibras musculares circulares (decussadas na região apical), seguida por uma camada (10-20 μm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo. Um poucas células de secreção eritrófila amorfa atravessam o epitélio atrial. Sob este epitélio subjaz uma camada (7,5 μm) de fibras circulares.

Os ovários, alongados, têm cerca de 1100 μm de comprimento e 190 μm de largura; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 22% do comprimento corporal. Não foram avistadas as regiões dos ovários de onde têm saída os ovoviteloductos; os ovoviteloductos correm ventralmente, apostos à placa nervosa; lateralmente ao átrio feminino se encurvam para o dorso e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a cerca de 1/3 deste átrio, corre posteriormente e comunica-se com o canal genital feminino, que é uma projeção da parte posterior-dorsal deste átrio. A orientação destes ductos é chamada de 'proflex' (Fig. 8A-B).

O átrio feminino é longo e funiliforme (Reconstrução do AC); seu comprimento é de cerca de 1,5 vez o átrio masculino; está revestido por um epitélio não-ciliado, que passa progressivamente de cúbico, na região anterior, a alto e lacunar, com aparência estratificada, na porção posterior (Fig. 8A-B). Este epitélio é atravessado por células de secreção eritrófila amorfa e, muito escassamente por células produtoras de grânulos xantófilos. Esse átrio é envolvido por musculatura composta por uma camada (5-45 μm) de fibras circulares a decussadas entremeadas. Sob esta camada correm fibras longitudinais que se confundem com outras, também longitudinais, algo mais grossas, que aparentemente constituem um laxo envoltório muscular.

Fig. 7. *Geoplana mogi* Almeida & Carbayo, **nom. nov.** (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1951). (A): Fotografia do espécime F1022 rastejando para o lado direito da imagem. (B): microfotografia de um corte transversal da região pré-faríngea do espécime F7000, da coleção de E. M. Froehlich. (C): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime estudado por Marcus (1951). (D): Microtofografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F7000.

Fig. 8. *Geoplana mogi* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1951). (A): reconstrução do aparelho copulador do espécime estudado por Marcus (1951). (B): reconstrução do aparelho copulador do espécime F7000, da coleção de E. M. Froehlich. (C): microfotografia de um corte do canal ímpar dentro do bulbo peniano do espécime estudado por Marcus (1951). (D): microfotografia da papila peniana do espécime F7000 em um corte sagital. (E): Epitélio dorsal da papila peniana do espécime estudado por Marcus (1951) em corte sagital. A ponta da seta indica a acúmulo de secreção sob o epitélio da papila

Fig. 9. *Geoplana mogi* Almeida & Carbayo nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1951).
Desenhos esquemáticos, pela Profa. E. M. Froehlich, de um espécime da sua coleção.

***Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov.**

Sinonímia:

Geoplana vaginuloides sensu Marcus, 1952.

Material estudado

F5134. Parque Jardim Previdência, São Paulo/SP, Brasil (-23.580200, -46.727588). F. Carbayo *et al.* col., 5/2/2006. Região cefálica: cortes horizontais em 4 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 2 lâminas; região posterior à dos ovários: cortes horizontais em 10 lâminas; faringe: cortes sagitais em 6 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 8 lâminas. **F0509:** Parque Ecológico do Tietê, São Paulo / SP, Brasil (-23.490848, -46.517113). F. Carbayo, col. 27/5/2005. Faringe e região posterior a da faringe: cortes sagitais em 6 lâminas; faringe e região posterior a da faringe: cortes sagitais em 5 lâminas (incompletamente maduro). **F1163:** Parque Jardim Previdência, São Paulo/SP, Brasil. Odair Matarensi Junior, col. 17/06/2007. Faringe: cortes sagitais em 13 lâminas; região posterior a da faringe: cortes sagitais em 7 lâminas.

Ocorrência: São Paulo/SP; Mongaguá/SP.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome do planalto em que se assentou o povoado de São Paulo de Piratininga, hoje São Paulo, onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. Comprimento de cerca de 25 mm de comprimento. Dorso com uma listra mediana ocre alaranjada; as faixas marginais são pretas com os bordos brancos. O bulbo peniano é denso, e bem desenvolvido, pelo menos ventralmente. A musculatura que envolve o ducto ejaculatório possui espessura menor que seu diâmetro. O comprimento da papila peniana é de cerca de 5 vezes o próprio diâmetro. Na musculatura dorsal da papila peniana acumula-se densa secreção cianófila. O átrio feminino tem o dobro do comprimento do átrio masculino.

Morfologia externa

Em vida, o corpo atinge até 25 mm de comprimento e 4 mm de largura. Os bordos são quase paralelos; o corpo é semicilíndrico, com o dorso convexo e o ventre plano. A ponta anterior é arredondada, a posterior é obtusa. No dorso corre uma faixa mediana, inicialmente preta que, a 4 mm da ponta, se abre em duas listras separadas por uma faixa mediana vermelha ferrugínea. Estas listras pretas são orladas por listras esbranquiçadas, por sua vez, externamente margeadas por faixas pretas; os bordos e o ventre são esbranquiçados (Fig. 10A-E).

Os olhos, sem halos, medem até 80 µm; contornam a ponta anterior e margeiam todo o corpo.

Ocorrem olhos dorsais, restritos às faixas pretas externas. Os olhos que margeiam a extremidade anterior têm forma de pão de açúcar, os demais possuem forma de cálice comum. A boca e o gonóporo estão a uma distância da extremidade anterior equivalente a 54% e 71% do comprimento do corpo, respectivamente. As fossetas sensoriais têm 25 µm de profundidade. Contornam a região anterior e ocorrem, ao menos até 1/5 anterior do corpo.

Morfologia interna

A sola rastejadora ocupa cerca de a maior parte da superfície ventral. O epitélio dorsal é atravessado por numerosos rabditos, além de numerosas células produtoras de grânulos xantófilos e por poucas células produtoras de grânulos eritrófilos; o epitélio ventral é atravessado por escassas células produtoras de secreção xantófila e de secreção eritrófila, ambas amorfas, respectivamente. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma camada composta por fibras circulares, seguida por uma camada de fibras diagonais dupla, e uma camada longitudinal composta por feixes. O mch é de 5%.

A musculatura parenquimática é composta por uma frouxa camada dorsal de fibras diagonais decussadas, uma camada frouxa supra-intestinal e outra subintestinal também frouxa, ambas camadas compostas de fibras transversais e longitudinais entrecruzadas (Fig. 10F).

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. Há um curto esôfago. A boca situa-se no meio da bolsa faríngea; esta encosta no bulbo peniano. A faringe é cilíndrica; é atravessada por células de três tipos, produtoras de grânulos cianófilos, eritrófilos e xantófilos, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe, baixo e ciliado, é composta por uma camada fina (5 µm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (45 µm) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. A musculatura subjacente ao epitélio interno da faringe é composta por uma camada simples de fibras longitudinais, seguida por uma camada (40 µm) de fibras circulares, e esta seguida por uma outra camada (10 µm) de fibras longitudinais (Fig. 10G-H).

Os testículos, abaloados e dispostos dorsalmente ao intestino, têm cerca de 180 µm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que começam a uma distância da ponta do corpo equivalente a 24% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (47% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana e que se estende pelo menos ventralmente, até a região do gonóporo. Os ductos eferentes correm dorsalmente aos ovoviteloductos; cada ducto penetra o bulbo peniano na região ântero-ventral deste, encurvam-se para a frente e abrem-se na vesícula prostática, ímpar. Esta, ainda externa a papila peniana, é levemente sinuosa; se continua da papila peniana (Fig. 11A-C). A porção inicial do ducto ejacatório é revestido por um epitélio alto, ciliado, aparentemente atravessado por numerosas glândulas produtoras de grânulos muito fracamente corados. Uma camada (35 µm) muscular de fibras circulares envolve a esta porção. Já dentro da papila, o epitélio do ducto ejacatório é atravessado por numerosas células produtoras de grânulos eritrófilos; este epitélio é envolvido por uma camada (10 µm) muscular de fibras circulares, que equivale a cerca de 1/3-1/4 de seu diâmetro (Fig. 11C).

A papila peniana, horizontal, simétrica e alongada, ocupa todo o átrio masculino e quase todo o feminino; tem um comprimento equivalente a cerca de 5 vezes o seu diâmetro; sua inserção dorsal é levemente anterior à ventral. O epitélio da papila peniana, cúbico, não ciliado, é atravessado por células produtoras de grânulos eritrófilos grossos. Além destas, dorsalmente, sob o epitélio de revestimento do segundo terço dorsal da papila acumula-se uma massa de secreção granular cianófila procedentes de prolongamentos celulares que atravessam as camadas musculares subepiteliais. A camada muscular subepitelial é espessa (90 μm de espessura) e densa, formada por feixes de fibras circulares; sob ela há uma fina camada (25 μm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, atravessado por células de secreção eritrófila amorfa; ao seu epitélio subjaz uma camada (15 μm) de fibras circulares, seguida de uma camada muito fina de fibras longitudinais (Fig. 11A-D).

Os ovoviteloductos correm ventralmente, apostos à placa nervosa; atrás da região do gonóporo, ascendem obliquamente e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a 35% do comprimento deste átrio, comunica-se com o canal genital feminino, que é uma continuação funiliforme na parte posterior deste órgão feminino, dirigida para o dorso, ou seja, a condição 'proflex'. O átrio feminino é funiliforme e alongado, com cerca de 1,5 vez o comprimento do átrio masculino (Fig. 11A); o epitélio deste átrio, alto, não ciliado e de aparência estratificada em sua porção distal (Fig. 11E); é atravessado por numerosas células de secreção cianófila e xantófila, ambas de grânulos finos. Sob o epitélio atrial existem uma camada (5-40 μm) de fibras circulares decussadas seguida por uma camada (25 μm) de fibras longitudinais. Ainda, envolvendo estas camadas, existem abundantes fibras musculares longitudinais grossas (4 μm) que têm aspecto de um laxo envoltório muscular.

Fig. 10. *Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo, **nom. nov.** (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1952). (A-B): espécime F509 em vida; região anterior para a esquerda. (C): porção do dorso do espécime F0509 em óleo de cravo. (D): espécime F5135 fixado; região anterior para a esquerda. (E): espécime F5134 fixado, sobre papel milimetrado; região anterior para a esquerda. (F): microtofografia de fibras musculares parenquimáticas longitudinais e transversais subintestinais do espécime F5134 em um corte horizontal; eixo ântero-posterior é horizontal. (G): microfotografia de corte sagital da faringe do espécime F5134. (H) microfotografia do lúmen da faringe e seu epitélio interno em corte sagital; espécime F5134; somente as fibras longitudinais imediatamente subepiteliais (m) estão indicadas.

Fig. 11. *Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1952). Espécime F5134. (A): reconstrução sagital do aparelho copulador. (B): microfotografia de corte sagital do aparelho copulador. (C): microfotografia de um corte sagital da papila peniana. (D): microfotografia de um detalhe do epitélio dorsal da papila peniana, em corte sagital, secreção sob ele (ponta da seta). (E): microfotografia de um corte sagital do átrio feminino.

***Geoplana paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n.**

Material tipo. Holótipo 6660: Cidade Turística de Paranapiacaba, Santo André/SP, Brasil. F. Carbayo *et al.* col., 05/06/2015. Região cefálica: cortes horizontais em 4 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 9 lâminas; região posterior a dos ovários: cortes horizontais em 14 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 16 lâminas; faringe: cortes sagitais em 17 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 20 lâminas. **Parátipo F6998:** Cidade Turística de Paranapiacaba, Santo André/SP, Brasil. E. M. Froehlich *et al.* col., 13/05/1990. Aparelho copulador: cortes sagitais em 39 lâminas.

Ocorrência: Paranapiacaba, Santo André/SP, Brasil.

Etimologia. O epíteto específico refere-se ao nome da localidade onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. Espécie de *Geoplana* com cerca de 50 mm de comprimento. No dorso corre uma faixa mediana ocre alaranjada, margeadas de preto. As faixas marginais são acinzentadas, sobre as quais distribuem-se manchas brancas que não são halos. Os bordos são pretos. O bulbo peniano é anteriormente volumoso, e envolve todo átrio masculino. O ducto ejacatório é envolvido por musculatura com espessura menor que seu diâmetro externo. A papila peniana é cerca de 10,5 vezes o seu diâmetro.

Morfologia externa. Fixados, o espécime têm cerca de 50 mm de comprimento e 4 mm de largura; os bordos são quase paralelos. A extremidade anterior é arredondada e a posterior é obtusa. O dorso é fortemente convexo; fixado esta informação tem menos interesse pois o animal perde a forte convexidade natural. O dorso possui uma faixa mediana, preta na região cefálica, que se abre em duas linhas pretas separadas por uma faixa de ocre alaranjada com cerca de 1/5 da largura do corpo; na extremidade posterior do corpo as linhas pretas voltam a se unir. Estas linhas pretas são margeadas por duas listras brancas - com manchas esfumaçadas pretas na região cefálica -, que são margeadas por uma linha preta, orlada externamente por uma faixa acinzentada, sobre a qual ocorrem diminutas áreas circulares brancas que não são halos. O ventre é branco lácteo com as margens pretas (Fig. 12A-C).

Os olhos medem até 85 μ m; contornam unisserialmente a ponta anterior, mas logo tomam o dorso ocupando as listras brancas. Para trás, mantêm esta distribuição mas são progressivamente mais esparsos. Os olhos mais anteriores têm forma de pão de açúcar; os posteriores, forma de cálice comum. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 61% e 74% do comprimento do corpo, respectivamente. As fossetas sensoriais, ventromarginais, possuem cerca de 40 μ m de profundidade e distribuem-se em uma fileira pelo menos os 1/5 iniciais do comprimento do corpo.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa cerca de 78% da superfície ventral. O epitélio, tanto dorsal quanto ventral, é atravessado por células rabditógenas, especialmente nas margens, e por células de secreção de grânulos xantófilos, que são mais abundantes no dorso que no ventre. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma fina camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, e uma terceira com 35-50 μm de espessura, de fibras longitudinais composta por feixes com 17–31 fibras cada um. O índice mc:h é de aproximadamente 8%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal de fibras diagonais decussadas reunidas em discretos feixes, uma camada frouxa supra-intestinal e outra subintestinal, também frouxa, ambas de fibras transversais e longitudinais entrecruzadas (Fig. 12E).

O sistema nervoso está organizado em forma de uma placa nervosa. A boca situa-se na segunda metade da bolsa faríngea. A faringe é cilíndrica (Fig. 12D); seu epitélio distal é atravessado por dois tipos de células produtoras de grânulos xantófilos e eritrófilos, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe é composta por uma camada fina (5 μm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (70 μm) de fibras circulares e longitudinais entremeadas. A musculatura subjacente ao epitélio interno da faringe é composta por uma camada simples de fibras longitudinais seguida de uma camada (90 μm) de fibras circulares, seguida por uma camada (15 μm) de fibras longitudinais.

Os testículos, abaloados e dispostos dorsalmente ao intestino, têm cerca de 300 μm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que começam a uma distância da ponta do corpo equivalente a 22% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (46% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares, menos densa perto da base da papila peniana, que se estende dorsal e ventralmente até a região do gonóporo. Os ductos eferentes correm dorsalmente aos ovovitelo ductos; cada um penetra a região ântero-ventral do bulbo peniano, encurvam-se para a frente e unem-se no ducto ejaculatório, inicialmente externo a papila peniana, que é uma cavidade alongada e canicular, em forma de C; este ducto continua dentro da papila peniana, até desembocar no ápice desta (Figs. 12F, 13A-B). Através do epitélio dos dutos eferentes e da porção do ducto ejaculatório externa à papila peniana são avistadas células de secreção granular cianófila; o epitélio de toda a porção de ducto ejaculatório interna a faringe recebe numerosas células de secreção eritrófila e xantófila, ambas de grânulos grossos; o epitélio do ducto ejaculatório, em toda sua extensão, está envolvido por uma camada muscular de fibras circulares mais espessa na porção inicial (50 μm), que na interna à papila (25 μm); a espessura da musculatura do ducto ejaculatório dentro da papila peniana representa 1/4 do diâmetro deste ducto.

A papila peniana é horizontal e alongada, com um comprimento equivalente a cerca de 10,5 vezes o seu diâmetro. Sua inserção dorsal é levemente anterior à ventral. Esta papila ocupa todo o átrio masculino e mais da metade do átrio feminino (Fig. 13A-B); é revestida por um epitélio cúbico atravessado, especialmente no seu ápice, por numerosas células de secreção granular eritrófila (Fig. 13C-D). Sob este epitélio há uma espessa camada (25-105 μm) de fibras musculares circulares, seguida por uma fina camada (12,5 μm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo,

atravessado por numerosas células produtoras de secreção eritrófila amorfa; ao seu epitélio subjaz uma camada (15 μm) de fibras circulares, seguida por uma camada simples de fibras longitudinais.

Os ovários, alongados, têm cerca de 550 μm comprimento e 250 μm de largura; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 16% do comprimento corporal. Da sua região dorso-lateral emergem os ovoviteloductos; estes correm ventralmente, apostos à placa nervosa; lateralmente ao átrio feminino se curvam para o dorso e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este longo ducto, com comprimento equivalente à metade deste átrio, comunica-se com o canal genital feminino, que é uma curta (40 μm) projeção da parte dorso-posterior deste átrio. Considerando o conjunto ducto genital e ducto glandular comum, poderia se considerar esta orientação como condição 'proflex'.

O átrio feminino é longo e sem dobras, com comprimento um pouco maior que o do átrio masculino. É revestido por um epitélio alto (70 μm) em quase toda sua extensão, com exceção de sua região posterior, onde é lacunar e têm aparência estratificada. O átrio recebe dois tipos de células secretoras de grânulos, cianófilos e eritrófilos, respectivamente. A musculatura que envolve este átrio é composta por um conjunto de camadas sem distinção clara -epiteliais ou parte do envoltório muscular comum- uma camada muito fina (5 μm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (70 μm) de fibras circulares, e esta seguida por outra camada (115 μm) de fibras organizadas em uma densa retícula (Fig. 13E-F) que provavelmente constitua o envoltório muscular comum.

Fig. 12. *Geoplana paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): espécime F6660 logo após morto com água fervente. Requadro: fotografia do ventre do espécime F6660 vivo; região anterior para a esquerda. (B): vista dorsal do espécime F6998, fixado, registrado na coleção da Profa. E. M. Froehlich como *G. vaginuloides*. (C): vista ventral do espécime F6998, junto com a etiqueta original de identificação. (D): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F6660; o eixo ântero-posterior está horizontal. (E): microfotografia de um corte horizontal mostrando as fibras musculares parenquimáticas subintestinais, longitudinais e transversais, do espécime F6660. (F): microfotografia do bulbo peniano do espécime F6660 em um corte sagital.

Fig. 13. *Geoplana paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n. Espécime F6660. (A): reconstrução do aparelho copulador em vista lateral. (B): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador. (C): microfotografia da porção distal da papila peniana em um corte sagital. (D): microfotografia do epitélio dorsal da papila peniana e células contendo grânulos eritrófilos (ponta das setas) em um corte sagital. (E): microfotografia do átrio feminino em um corte sagital. (F): microfotografia do epitélio ventral do átrio feminino e a musculatura subjacente em um corte sagital.

***Geoplana caraguatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n.**

Material tipo. Holótipo F7004: Parque Estadual Serra do Mar, Caraguatatuba/SP, Brasil (-23594012, -45,429672). F. Carbayo *et al.* col., 14/05/2016. **Parátipo F6727:** Parque Estadual Serra do Mar, Caraguatatuba/SP, Brasil (-23594012, -45,429672). F. Carbayo *et al.* col., 02/07/2015. Região dos ovários: cortes horizontais em 8 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 9 lâminas; aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 8 lâminas. Aparelho copulador estudado em cortes virtuais ortogonais de imagens obtidas por microtomografia computadorizada.

Ocorrência: Caraguatatuba/SP, Brasil.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome da localidade onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. Espécie de *Geoplana* com cerca de 45 mm de comprimento. No dorso corre uma faixa mediana cor ocre alaranjada; as faixas marginais são pretas na metade interna e cinzas na metade externa, esta faixa inteira com salpicos esbranquiçados. O bulbo peniano é dorsalmente volumoso. O ducto ejaculatório é envolvido por musculatura com 1/4 de seu diâmetro externo. A papila peniana tem comprimento de cerca de 6 vezes o próprio diâmetro. O átrio feminino possui 1,5 vez o comprimento do átrio masculino.

Morfologia externa. Os adultos medem até 60 mm de comprimento e 4 mm de largura. Os bordos são quase paralelos. A extremidade anterior é arredondada e a posterior obtusa. O dorso é convexo e o ventre plano. O dorso possui uma faixa mediana, preta na região cefálica, que para trás se abre em duas linhas pretas separadas por uma faixa mediana ocre alaranjada com cerca de 1/3 da largura do corpo. Na extremidade posterior do corpo, as linhas pretas voltam a se unir. Estas linhas pretas são margeadas externamente por duas listras brancas, estas, por sua vez, margeadas por uma faixa cuja metade interna é preta e a externa, cinza escuro. Esta faixa cinza tem diminutas áreas circulares brancas que não são halos. O ventre é esbranquiçado, com as margens pretas (Fig. 14A-C).

Os olhos contornam unisserialmente a ponta anterior, mas logo tomam o dorso ocupando as listras brancas. Para trás, atingem também as linhas pretas paramedianas. Os olhos mantêm esta distribuição até a cauda, mas são progressivamente mais esparsos. Os olhos são mais numerosos sobre as áreas pretas do que nas brancas. Os olhos da região cefálica têm forma de pão-de-açúcar; os demais têm forma de cálice. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 55% e 69% do comprimento do corpo, respectivamente. As fossetas sensoriais rodeia a extremidade anterior do copo e correm até o 1/3 anterior do corpo.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa cerca de 80% da superfície ventral. Numerosos rabinhos atravessam o epitélio dorsal e os bordos. O epitélio dorsal é atravessado também por numerosas células produtoras de grânulos xantófilos e escassas células produtoras de grânulos eritrófilos. O epitélio ventral é atravessado por células produtoras de grânulos cianófilos e outras, escassas, de grânulos eritrófilos. Não há bordo glandular (Fig. 14D).

A musculatura subepidérmica está organizada em uma fina camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, e outra, mais profunda de fibras longitudinais composta por feixes com 20–31 fibras cada um. O índice mc:h é de aproximadamente 6%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, fraca, de fibras diagonais decussadas, uma camada supaintestinal e outra subintestinal, ambas fracas e constituídas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas.

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se no fim do primeiro terço da bolsa faríngea; esta encosta no bulbo peniano. Há um curto esôfago. A faringe é cilíndrica (Fig. 14F), com a inserção dorsal deslocada para trás; sua superfície distal é atravessada por células produtoras de grânulos de dois tipos, a saber, cianófilos e eritrófilos, respectivamente; um terceiro tipo, com grânulos marrons, atravessa todo o epitélio externo. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe, baixo e ciliado, é composta por uma camada fina (5 μ m) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (55 μ m) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. Imediatamente sob o epitélio interno da faringe existem algumas fibras musculares longitudinais, e sob elas uma camada (35 μ m) de fibras circulares, seguida por uma outra camada (10 μ m) de fibras longitudinais (Fig. 15A).

Os testículos, em sua maioria abaloados, estão dispostos dorsalmente ao intestino; têm cerca de 180 μ m de diâmetro; há um par de testículos de forma alongada medindo cerca de 500 μ m de comprimento e 130 μ m de largura. Estão organizados em duas fileiras, que começam a uma distância da ponta do corpo equivalente a 25% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (48% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana; sua porção anterior à papila tem forma semi-esférica; a posterior envolve todo o átrio masculino. Os ductos eferentes, dorso-laterais aos ovoviteloconductos, penetram ventro-lateralmente o bulbo peniano, então encurvam-se para a frente e unem-se em uma cavidade ímpar, com forma de C, vista de lado (Figs. 14E, 15C-E, 16B).

Os ductos eferentes são revestidos por epitélio cúbico, contendo espermatozoides na porção extrabulbar; estes ductos estão envolvidos por musculatura composta de uma camada (5-25 μ m) de fibras circulares. Se continuam com o ducto ejaculatório, inicialmente externo a papila peniana e em forma da C; é revestido nessa porção por um epitélio alto e ciliado, envolto por uma camada muscular de fibras circulares, que aparentemente não recebe células secretoras. Esta cavidade, dentro da papila peniana, permanece com as mesmas características histológicas até 1/3 do comprimento da papila peniana. No trecho seguinte, o ducto ejaculatório é revestido por epitélio alto e ciliado, atravessado por numerosas células produtoras de grânulos eritrófilos; é envolvido por uma camada (25 μ m) muscular de fibras circulares, que equivale a 1/4 do diâmetro

externo deste ducto.

A papila peniana é horizontal e alongada, com um comprimento equivalente a cerca de 7 vezes o seu diâmetro; suas inserções estão praticamente à mesma altura; esta papila ocupa todo o átrio masculino e grande parte do feminino (Figs. 15C-E, 16B). A papila peniana é revestida por epitélio cúbico, não ciliado, atravessado por numerosas células produtoras de finos grânulos eritrófilos; além desta, existe um conspícuo acúmulo de secreção cianófila subepitelial, de localização concreta, i.e., no segundo terço dorsal medial (Fig. 15D, 16A, C, E). A musculatura subepitelial da papila é formada por uma densa camada de fibras musculares circulares, mais espessa no dorso (130 μm) que no ventre (60 μm), seguida por uma camada (20 μm) de fibras longitudinais. Na porção da secreção cianófila subepitelial, os feixes musculares se afinam próximo ao epitélio e ficam mais separados entre si. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, atravessado por células cianófilas; ao seu epitélio subjaz uma camada (8 μm) de fibras circulares, seguida de outra longitudinal igualmente desenvolvida. Curiosamente, existe uma espécie de alça muscular de fibras que contornam a região distal do átrio masculino e se ancoram na lâmina basal da epiderme ventral, já posteriormente ao gonópore (Figs. 15B).

Os ovários, ovóides, têm cerca de 450 μm comprimento e 250 μm de largura; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 26% do comprimento corporal. Os ovoviteloductos saem da região dorso-lateral dos ovários; correm ventralmente, apostos à placa nervosa; lateralmente ao átrio feminino se encurvam para o dorso e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente à região posterior do átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a 1/7 do comprimento deste átrio, corre posteriormente e comunica-se com o canal genital feminino, que é uma projeção da sua parte posterior-dorsal. A orientação deste ducto é chamada de 'proflex'. O átrio feminino, longo, é cilíndrico, tem sua porção posterior afinada inicialmente e arredondada na porção mais posterior (Reconstrução do AC). Seu comprimento equivale a 1,5 vez o do átrio masculino. O epitélio do átrio feminino, não ciliado, passa progressivamente de cúbico, na região anterior, a alto (20-25 μm), com aparência estratificada na porção posterior; atravessam esse epitélio células secretoras de dois tipos, eritrófilo e xantófilo, ambos amorfos; a porção arredonda do átrio não recebe estas secreções. Esse átrio é envolvido por musculatura composta por uma camada (10-35 μm) de fibras circulares entremeadas por fibras oblíquas. Sob esta musculatura correm fibras longitudinais que formam uma camada com 10-65 μm de espessura (Fig. 16D-E).

Fig. 14. *Geoplana caragatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): vista dorsal do espécime F7004 (requadro: vista ventral). (B): vista dorsal do espécime F6976, imaturo. (C): vista dorsal do espécime F6727. (D): microfotografia de um corte transversal da região pré-faríngea do espécime F6727. (E): Corte transversal virtual do espécime F6727, derivado de mCT, no nível de entrada dos dutos eferentes no bulbo peniano. (F): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F6727.

Fig. 15. *Geoplana caragatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n. Espécime F6727. **(A):** microfotografia do epitélio interno da faringe e sua musculatura subjacente em um corte sagital. **(B):** microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador em um plano tangencial, mostrando uma alça muscular formada por fibras ancoradas no epitélio epidérmico ventral. **(C):** reconstrução do aparelho copulador. **(D):** microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador **(E):** corte virtual sagital, derivado de mCT, do aparelho copulador.

Fig. 16. *Geoplana caragatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n. Espécime F6727. **(A):** corte virtual transversal, derivado de mCT, na região do gonóporo, indicando acúmulo de secreção sob o epitélio dorsal da papila peniana (ponta de seta). **(B):** corte virtual horizontal, derivado de mCT, do aparelho copulador. **(C):** microfotografia de um corte sagital da região dorsal da papila peniana; ponta da seta: secreção acumulada sob o epitélio. **(D):** microfotografia de um corte sagital do átrio feminino. **(E):** microfotografia de um corte sagital do átrio masculino e feminino.

***Geoplana ibiuna* Almeida & Carbayo, sp. n.**

Material tipo. Holótipo: F3562: Parque Estadual do Jurupará, Ibiúna/SP, Brasil. F. Carbayo, leg., 02/2009. Região cefálica: cortes horizontais em 14 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 12 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 10 lâminas; faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 33 lâminas. Parátipos: **Parátipo F6907:** Santana de Parnaíba/SP, Brasil (-23.449229, -47.012175). F. Carbayo *col.*, 12/12/2015. Extremidade anterior: cortes horizontais em 12 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 6 lâminas; região posterior a dos ovários: cortes horizontais em 6 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 19 lâminas; aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 21 lâminas. **Parátipo F6908:** Santana de Parnaíba/SP, Brasil (-23.449229, -47.012175). F. Carbayo *col.*, 12/12/2015. Aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 11 lâminas. **Parátipo F6909:** Santana de Parnaíba/SP, Brasil (-23.449229, -47.012175). F. Carbayo *col.*, 12/12/2015. Faringe e região posterior a da faringe: cortes sagitais em 17 lâminas. **Parátipo F6999:** Pico do Jaraguá, São Paulo/SP, Brasil (-23.457976, -46.763849). E. M. Froehlich. 15/08/1951. Região dos ovários: cortes horizontais em 18 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 12 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 43 lâminas.

Ocorrência: Jaraguá/SP, Santana de Parnaíba/SP e Parque Estadual do Jurupará, Ibiúna/SP, Brasil.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome da localidade onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 40-50 mm de comprimento. Dorso com uma listra mediana ocre alaranjada; as faixas marginais são pretas; bordos brancos. A musculatura que envolve o ducto ejacatório, em espessura, equivale ao seu diâmetro. A inserção dorsal da papila peniana é adiantada e deslocada para o ventre. A papila peniana é 6-7 vezes mais longa que seu próprio diâmetro; projeta-se da região ântero-ventral do átrio masculino. O átrio feminino é revestido por epitélio pregueado.

Descrição.

Morfologia externa. Os adultos, vivos e fixados, medem, cerca de 40-50 mm de comprimento e 3 mm de largura, respectivamente. O corpo é alongado, os bordos quase paralelos, o dorso convexo, o ventre plano. A extremidade anterior é arredondada e a posterior obtusa. Na região cefálica, que equivale a 1/9 do comprimento do corpo, corre uma faixa dorsal mediana preta que, para trás, se divide em duas listras separadas por uma faixa ocre-alaranjada com 1/4-1/5 da largura do corpo. Desde o início, as listras pretas são margeadas, de cada lado, por uma listra branca leitosa, por sua vez margeada externamente por uma faixa preta. Os bordos são esbranquiçados (Fig. 17A-B). O ventre é branco leitoso.

Os olhos, em forma de pão de açúcar, medem cerca de 100 µm; contornam unisserialmente a região cefálica. Olhos caliciformes ocorrem no dorso desde a região cefálica até a cauda, atingindo altura máxima

nas listras brancas (Fig. 17C). As fossetas sensoriais, ventromarginais, rodeiam a extremidade anterior do copo e correm até o 1/4 anterior do corpo. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente a aproximadamente a 50-58% e 64-71% do comprimento do corpo, respectivamente.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa 82% de largura da superfície ventral. A epiderme dorsal e a das margens do corpo são atravessadas por numerosos rabditos. Através do epitélio dorsal e ventral desembocam dois tipos de células secretoras de grânulos xantófilos e eritrófilos, respectivamente. Não há bordo glandular (Fig. 17D).

A musculatura cutânea está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada longitudinal com feixes de 14-25 fibras cada. O músculo corresponde a 6-8%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal de fibras diagonais decussadas, uma camada supaintestinal e outra subintestinal, ambas fracas e de fibras transversais e longitudinais entrecruzadas.

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se próxima à metade da bolsa faríngea; esta é muito próxima ao bulbo peniano. A faringe é cilíndrica (Fig. 17E); seu epitélio distal é atravessado por três tipos de células produtoras de grânulos, xantófilos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe é composta por uma camada fina (8 µm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (85 µm) de fibras circulares e longitudinais entremeadas (Fig. 17F). A musculatura subjacente ao epitélio interno da faringe é composta por uma camada simples (5 µm) de fibras longitudinais seguida de uma camada (75 µm) de fibras circulares, seguida por outra camada (12 µm) de fibras longitudinais.

Os testículos, de forma abaloada, estão dispostos dorsalmente ao intestino; têm cerca de 160 µm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que começam a uma distância da ponta do corpo equivalente a 30% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (43% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana e que se estende dorsal e ventralmente envolvendo o átrio masculino. Os ductos eferentes correm dorsal e lateralmente aos ooviteloductos; vindos dos lados, atravessam a região ântero-ventral do bulbo peniano, encurvam-se para a frente e unem-se no ducto ejaculatório, em forma de C em vista lateral e ainda externo a papila peniana, que se continua dentro desta até seu ápice (Fig. 18A-E). O epitélio desse da porção inicial do ducto ejaculatório, cúbico e ciliado, é envolvido por uma camada (27 µm) de fibras musculares circulares; não foi possível confirmar células secretoras vertendo seu conteúdo à luz nessa região. O ducto ejaculatório, já dentro da papila, é envolvido por uma camada de fibras musculares circulares, cuja espessura, 45 µm, equivale ao seu diâmetro; sua luz recebe grânulos eritrófilos, aparentemente produzidos por células cujo corpo está entre as fibras musculares.

A papila peniana, horizontal e muito alongada, tem cerca de 6-7 vezes o seu diâmetro; sua inserção dorsal é deslocada para frente e para o ventre. A papila ocupa todo o átrio masculino e uma parte variável do feminino; esta variação pode ser um artefato da fixação (Fig. 18A-D). A papila é revestida por um epitélio

cúbico que é atravessado por células que secretam finos grânulos, cuja afinidade pelo corante oscila entre o eritrófilo e o cianófilo. Sob o epitélio da região central da papila, estes grânulos ficam acumulados preenchendo o espaço entre o epitélio e a musculatura subjacente. Esta musculatura é composta por uma espessa camada (45 μm de espessura) de fibras circulares, seguida por uma camada menos espessa (30 μm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo; ao seu epitélio subjaz uma camada (5 μm) de fibras circulares decussadas.

Os ovários, ovóides, têm cerca de 400 μm de comprimento e 170 μm de largura; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 21% do comprimento corporal. Os ovovitelo ductos saem da região dorso-lateral dos ovários; correm ventralmente, apostos à placa nervosa; atrás da região do gonópore, ascendem obliquamente e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente à parte posterior do átrio feminino. Este curto ducto, com comprimento equivalente a apenas 17% do comprimento deste átrio, comunica-se com o canal genital feminino. Este é uma continuação funiliforme da parte posterior do átrio feminino que se dirige para o dorso e para a frente, ou seja, a condição 'proflex'. O átrio feminino é uma cavidade longa e funiliforme, com o mesmo comprimento do átrio masculino (Fig. 18A-D). Suas paredes apresentam numerosas dobras que podem ocorrer em todo ou apenas na parte posterior (Fig. 18D, F). O átrio é revestido por um epitélio de baixo (12 μm) na metade anterior e, na posterior, alto (40 μm) de aparência estratificada (Fig. 18F-G). Células produtoras de dois tipos de secreção, grânulos cianófilos e amorfa eritrófila, respectivamente, atravessam o epitélio. Este átrio é envolvido por duas camadas musculares: uma camada muito fina (5 μm) de fibras longitudinais, que inexiste na porção posterior, seguida por uma camada (42,5 μm) de fibras diagonais entrecruzadas. Ainda, envolvendo estas camadas, existem fibras musculares longitudinais soltas muito grossas (10 μm) que aparentemente constituem um laxo envoltório muscular.

Fig. 17. *Geoplana ibiuna* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): vista dorsal do espécime F6907. (B): vista dorsal do espécime F3562 fixado. (C): vista dorsal da região anterior do espécime F6907 em óleo de cravo. (D): microfotografia de um corte transversal da região pré-faríngea do espécime F3562. (E): microfotografia de um corte aproximadamente sagital da faringe do espécime F3562. (F): microfotografia da porção ventral de um corte sagital da faringe.

Fig. 18. *Geoplana ibiuna* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): reconstrução sagital da faringe e aparelho copulador do espécime F6908. (B): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F6907. (C): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F3562. (D): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F3562. (E): microfotografia do bulbo peniano do aparelho copulador do espécime F3562 em um corte sagital. (F): microfotografia da região posterior do átrio feminino do espécime F3562 em um corte sagital. (G): microfotografia do canal genital feminino em um corte sagital.

***Geoplana cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n.**

Material tipo. Todos os espécimes foram coletados no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananeia/SP, Brasil (-25.091235, -47.928957). J. Pedroni col. et leg, 18/10/2009. **Holótipo F4096:** região cefálica: cortes horizontais em 5 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 12 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 12 lâminas; faringe: cortes sagitais em 17 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 45 lâminas; cauda: cortes horizontais em 6 lâminas. **Parátipo F4097 (jovem):** região pré-faríngea e faringe: cortes transversais em 6 lâminas; região posterior à faringe: cortes sagitais em 3 lâminas. **Parátipo F4098 (incompletamente maduro):** faringe: cortes sagitais em 8 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 13 lâminas.

Ocorrência: Ilha do Cardoso, Cananeia, SP.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome da localidade onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 60 mm de comprimento. Dorso com uma faixa mediana alaranjada, contornada por linhas pretas; faixas marginais pretas, com salpicos esbranquiçados. O bulbo peniano é denso, bem desenvolvido e localizado anteriormente. A musculatura que envolve o ducto ejaculatório possui espessura menor que seu diâmetro externo. O ápice da papila peniana é atravessado por secreção que forma 9-12 densos gomos. O ducto glandular comum é curto, com cerca de 7,5% do comprimento do átrio feminino.

Descrição

Morfologia externa. Os adultos medem cerca de 66 mm de comprimento e 5 mm de largura. O corpo é alongado, com os bordos quase paralelos. O dorso é convexo e o ventre é plano. A extremidade anterior é arredondada e a posterior obtusa. No dorso da região cefálica, que equivale a 1/13 anterior do corpo, corre uma faixa mediana preta que, no resto do corpo, se divide em duas listras separadas por uma faixa ocre-alaranjada com 1/4 da largura do corpo. As listras pretas, desde o início, são margeadas, de cada lado, por uma listra branca leitosa, por sua vez margeada externamente por uma faixa preta que atinge os bordos do corpo. Excetuando a região cefálica, as listras marginais estão povoadas irregularmente por pequenas zonas brancas arredondadas. O ventre é branco leitoso, com as margens pretas (Fig. 19A-D).

Olhos em forma de pão de açúcar, contornam uniserialmente a região cefálica. Olhos caliciformes ocorrem no dorso desde a região cefálica até a cauda, atingindo as faixas brancas. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 55% e 70% do comprimento do corpo, respectivamente. As fossetas sensoriais têm 75 µm de profundidade. Contornam a região anterior e

ocorrem, ao menos no 1/6 anterior do corpo.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa 84% de largura da superfície ventral. A epiderme dorsal é atravessada por numerosos rabditos. Através do epitélio ventral desembocam células de três tipos, e que produzem secreção xantófila amorfa, eritrófila amorfa e células cianófilas de grânulos grossos, respectivamente. Não há bordo glandular.

A musculatura cutânea está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada de feixes longitudinais com fibras 25-33 fibras. O mch corresponde a 5-6%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal de fibras diagonais decussadas reunidas em discretos feixes, uma camada fraca supra-intestinal e outra subintestinal também fraca de fibras transversais e longitudinais entrecruzadas (Fig. 19E-F).

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se no fim do primeiro quarto da bolsa faríngea. A faringe é cilíndrica (Fig. 20A); seu epitélio distal é atravessado por três tipos de células produtoras de grânulos xantófilos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe é composta por uma camada fina (5 μ m) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (50 μ m) de fibras circulares e longitudinais entremeadas. A musculatura subjacente ao epitélio interno da faringe é composta por algumas fibras longitudinais seguidas de uma camada (50 μ m) de fibras circulares, esta seguida por uma camada (15 μ m) de fibras longitudinais (Fig. 19G).

Os testículos, abaloados têm cerca de 230 μ m de diâmetro; estão organizados em duas fileiras dorsais ao intestino que começam logo atrás dos ovários, a uma distância da ponta do corpo equivalente a 20% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (47% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares, sobretudo na periferia; é anteriormente mais desenvolvido; dorsalmente, este bulbo se estende até a região do gonópore; ventralmente atinge a metade dessa distância (Fig. 20B, C, E). Os ductos eferentes situam-se em posição dorsolateral aos ovovitelo ductos; penetram a região antero-ventral do bulbo peniano encurvam-se para a frente e unem-se no ducto ejacatório. A porção distal dos ductos eferentes, tanto fora quanto dentro do bulbo peniano, está revestida por uma musculatura circular.

A porção inicial do ducto ejacatório, externa a papila peniana, é um canal algo dilatado em forma de C em vista lateral. Nessa porção, é revestido por um epitélio ciliado, com 25-40 μ m de altura, atravessado por células que produzem finos grânulos eritrófilos, e envolto por uma camada (40 μ m) de fibras musculares circulares (Fig. 20D). Este ducto se continua dentro da papila peniana de forma sinuosa até desembocar em seu ápice; na porção interna a papila, é revestido por um epitélio ciliado, com 40-50 μ m de altura, profusamente atravessado por células que produzem grânulos grossos xantófilos, excetuando as proximidades da ponta da papila; este epitélio é envolvido por uma camada (com 40 μ m de espessura, ou 1/4 do diâmetro do ducto) muscular de fibras circulares, que vai se afinando em direção distal.

A longa papila peniana é cilíndrica e está disposta horizontalmente, com a inserção dorsal um pouco mais adiantada que a ventral; ocupa todo o átrio masculino e metade do átrio feminino; possui comprimento de cerca de 6 vezes o seu diâmetro (Fig. 20C). A papila é atravessada por numerosas células de dois tipos, que produzem grânulos finos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente, e cujos prolongamentos correm reunidos em feixes. Os feixes das células eritrófilas são cada vez mais volumosos e em menor número até um total de 9-14 gomos, separados entre si por fibras musculares radiais, resultando num quadro que lembra uma laranja cortada ao meio. Os grânulos cianófilos são vertidos através do epitélio lateral; as eritrófilas, do epitélio distal (Fig. 20F). O epitélio da papila peniana é cúbico, não ciliado. A musculatura subepitelial é composta por uma espessa camada (50 μm) de fibras circulares, levemente decussadas, seguida por uma camada (20 μm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, atravessado por células de secreção eritrófila amorfa; ao seu epitélio subjaz uma camada (5 μm) de fibras circulares, seguida de uma camada muito fina de fibras longitudinais.

Os ovários, alongados no eixo ântero-posterior, têm cerca de 500 μm comprimento e 180 μm de largura; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 18% do comprimento corporal. Os oviductos saem da região dorso-lateral dos ovários; correm ventralmente, apostos à placa nervosa. Ascendem lateralmente ao átrio feminino e unem-se com o ducto glandular comum acima desse átrio. O ducto glandular comum tem forma de C, com a maior parte do percurso descendente, inicialmente corre para trás e, na região distal, para a frente abrindo-se a um curto canal genital comum. Este é uma projeção da parte posterior do átrio feminino dirigida para trás e para cima, ou seja, a condição 'proflex'. O átrio feminino é uma cavidade longa, um pouco mais que o átrio masculino. As paredes na metade anterior são lisas, as da posterior, intensamente pregueadas e com paredes muito dobradas (Fig. 20G-H). É revestido por um epitélio não ciliado, com 35 μm de altura, que é atravessado por dois tipos de células secretoras de grânulos, um tipo eritrófilo e um segundo tipo, cianófilo, mais abundante na metade posterior do átrio. O átrio é envolvido por uma camada (25-40 μm) muscular de fibras circulares; na parte mais profunda desta camada, as fibras circulares são entremeadas por fibras longitudinais, estas ocorrem quase sem descontinuidade até o chamado envoltório muscular.

Fig. 19. *Geoplana cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): vista dorsal do espécime F4096; região anterior para a direita. (B): vista ventral do espécime F4096. (C): vista dorsal do espécime F4096, fixado; região anterior, no lado superior esquerdo. (D): porção do dorso do espécime F4098, fixado. (E): microfotografia de um corte horizontal do espécime F4096 mostrando a musculatura parenquimática supaintestinal longitudinal (*lp*). (F): microfotografia de um ovário e fibras musculares parenquimáticas subintestinais, transversais e longitudinais, em um corte horizontal. (G): microfotografia de um corte sagital do espécime F4096 mostrando fibras longitudinais (*m*) imediatamente sob o epitélio interno da faringe.

Fig. 20. *Geoplana cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): corte sagital da faringe do espécime F4096. (B): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F4098, incompletamente maduro. (C): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F4096. (D): microfotografia de uma seção do ducto ejacutório em um corte sagital do espécime F4096. (E): microfotografia do bulbo peniano do espécime F4096 em um corte sagital. (F): microfotografia de um corte oblíquo da porção distal da papila peniana do espécime F4096; 'gomos' de células secretoras indicam-se com pontas de seta. (G): microfotografia de um corte sagital do átrio feminino do espécime F4096. (H): microfotografia de um corte sagital do átrio feminino do espécime F4098, incompletamente maduro.

Fig. 21. Desenho do dorso de dois espécimes da Ilha do Cardoso (Cananeia, SP) por E. M. Froehlich. O padrão de coloração lembra *Geoplana cananeia* sp. n., mas a largura das faixas, que não é fiel à realidade, difere da da nova espécie.

***Geoplana cambara* Almeida & Carbayo, sp. nov.**

Material-tipo. Parque Nacional de Saint-Hilaire/Lange, Matinhos/PR, Brasil. **Holótipo F1611:** F. Carbayo *et al.* col., 10/01/2008. Região cefálica: cortes transversais em 21 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 13 lâminas; faringe: cortes transversais em 18 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 15 lâminas. **Parátipo F1635 (imaturo):** F. Carbayo *et al.* col., 11/01/2008. Região cefálica: cortes horizontais em 9 lâminas; faringe: cortes sagitais em 5 lâminas; região posterior à faringe: cortes sagitais em 4 lâminas.

Ocorrência: Parque Nacional de Saint-Hilaire/Lange, Matinhos/PR.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome do rio nas imediações da área de coleta onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 40 mm de comprimento. Dorso com uma mediana faixa alaranjada orlada de preto. As faixas marginais são de cor cinza com manchas circulares brancas. Os bordos são pretos. O bulbo peniano é muito desenvolvido anteriormente e em torno do átrio masculino. O ducto ejaculatório é envolvido por musculatura mais espessa que seu diâmetro. A papila peniana mede cerca de 7 vezes o próprio diâmetro. Na musculatura dorsal da papila peniana acumula-se uma densa massa de secreção cianófila. O átrio feminino mede 2 vezes o comprimento do átrio masculino. Acumula-se entre o epitélio de revestimento do átrio feminino e a musculatura subjacente uma densa massa de secreção cianófila.

Descrição

Morfologia externa. O corpo atinge cerca de 43 mm de comprimento e 3,5 mm de largura; é alongado, com os bordos quase paralelos. O dorso é convexo, ventre plano, a extremidade anterior arredondada e a posterior obtusa. Na região cefálica, que equivale a o 1/12 anterior do corpo, corre uma faixa dorsal mediana preta que, no resto do corpo, se divide em duas listras separadas por uma faixa cor de laranja com 1/3 da largura do corpo. As listras pretas, desde o início, são margeadas, de cada lado, por uma faixa branca leitosa com 1/6 da largura do corpo, que é contornada por uma listra preta. A cor externa a esta listra é cinza e está povoada irregularmente por áreas arredondadas esbranquiçadas. O ventre é branco leitoso, com as margens pretas (Fig. 22A-B)

Os olhos medem até 130 µm. Os olhos em forma de pão de açúcar, contornam unisserialmente a região cefálica. Olhos caliciformes ocorrem no dorso desde a região cefálica até a cauda, atingindo as faixas brancas. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 50% e 64% do comprimento do corpo, respectivamente. As fossetas sensoriais, ventromarginais, possuem cerca de 40 µm de profundidade e distribuem-se em uma fileira pelo menos os 13% iniciais do comprimento

do corpo.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa 80% de largura da superfície ventral. A epiderme dorsal é atravessada por numerosos rabditos e por três tipos de células produtoras de grânulos, eritrófilo, xantófilo e cianófilo, respectivamente. Os bordos são atravessados por numerosos rabditos. Através do epitélio ventral desembocam células que produzem grânulos cianófilos grossos e células produtoras de grânulos xantófilos finos. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidêmica está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada de feixes longitudinais de 7-19. O mc:h é 6% .

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, fraca, de fibras diagonais decussadas, uma camada suprainestinal e outra subintestinal, ambas fracas e constituídas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas.

O sistema nervoso central é organizado em uma placa. A boca situa-se no meio da bolsa faríngea; esta encosta no bulbo peniano. Há um curto esôfago. A faringe é cilíndrica (Fig. 22C); é atravessada por células produtoras de grânulos de três tipos, a saber, cianófilo, eritrófilo e xantófilo, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe, baixo e ciliado, é composta por uma camada fina (5 μ m) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (65 μ m) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. Sob o epitélio interno da faringe existem algumas fibras musculares longitudinais, e sob elas uma camada (45 μ m) de fibras circulares, seguida por uma outra camada (10 μ m) de fibras longitudinais (Fig. 22D).

Os testículos, de forma abaloada, estão dispostos dorsalmente ao intestino; têm cerca de 200 μ m de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que começam a uma distância da ponta do corpo equivalente a 16% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (49% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana e envolve todo o átrio masculino, até a região do gonóporo. Os ductos eferentes correm dorsalmente aos oviductos; vindos dos lados, estes ductos penetram a região antero-ventral do bulbo peniano, encurvam-se para a frente e unem-se no ducto ejacutório, uma cavidade ímpar inicialmente extrema a papila peniana, em forma de C em vista lateral. Esta canal é localizado muito próximo as inserções da papila peniana; este ducto percorre concentricamente continua a papila peniana, até se abrir no ápice desta. O epitélio da porção externa a papila do ducto ejacutório, cúbico e ciliado, é atravessado por células produtoras de grânulos palidamente eritrófilos; a musculatura que envolve este canal é formada por uma camada de fibras musculares circulares com 50 μ m de espessura. Já dentro da papila, este epitélio é atravessado por numerosas células produtoras de grânulos eritrófilos; é envolvido por uma camada de fibras musculares circulares e decussadas, com uma espessura variável, que se torna máxima, 105 μ m, à altura do gonóporo. Em sua maior extensão, a musculatura do ducto ejacutório atinge cinco vezes o diâmetro deste ducto (Figs. 22E-F, 23A).

A papila peniana é alongada, horizontal, com as inserções à mesma altura e a extremidade distal

pontuda; seu comprimento equivale a cerca de sete vezes o seu diâmetro. Ocupa todo o átrio masculino e grande parte do feminino (Fig. 22E-F). O epitélio da papila peniana, com 4 μm de altura e não ciliado, é atravessado por células produtoras de dois tipos de grânulos grossos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente. Além destas, sob o epitélio de revestimento dorsal da papila, excetuando-se a as regiões da base e do ápice, acumula-se uma massa de secreção granular fina cianófila procedente de prolongamentos celulares que atravessam as camadas musculares subepiteliais (Fig. 23A-B). A musculatura subepitelial da papila é formada por uma densa camada de fibras musculares circulares (decussadas na região apical), mais espessa no dorso (185 μm) que no ventre (145 μm), seguida por uma camada (15 μm) de fibras longitudinais. No estroma da papila existem numerosas fibras musculares diagonais, mais densamente agrupadas quanto mais próximas da região distal. O átrio masculino é amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, atravessado por numerosas células produtoras de finos grânulos eritrófilos; ao seu epitélio subjaz uma camada (5 μm) de fibras circulares, seguida por uma camada simples de fibras longitudinais.

Os ovários, ovóides, têm cerca de 425 μm comprimento e 225 μm de largura; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 17% do comprimento corporal. Os oviductos correm ventralmente, apostos à placa nervosa; lateralmente ao átrio feminino se encurvam para o dorso e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a 1/4 deste átrio, corre posteriormente e comunica-se com o canal genital feminino, que é uma projeção da parte posterior-dorsal deste átrio. A orientação destes ductos é chamada de 'proflex'.

O átrio feminino, longo e funiliforme, tem sua porção posterior dobrada para o dorso (Reconstrução do AC); seu comprimento equivalente a duas vezes o do masculino. O epitélio do átrio feminino é não-ciliado, passa progressivamente de cúbico, na região anterior, a alto (20-25 μm), com aparência estratificada na porção posterior. Esse átrio é envolvido por musculatura composta por uma camada (10-40 μm) de fibras circulares entremeadas por fibras oblíquas, seguida por uma camada de fibras longitudinais (10-110 μm) (Fig.). Na região posterior, a musculatura não está imediatamente sob o epitélio, mas afastada dele (25-35 μm), sendo o espaço que os separa preenchido por uma massa de grânulos cianófilos muito finos e por uma espécie de filamentos que penetram a musculatura subjacente (Fig. 23C-D).

Fig. 22. *Geoplana cambara* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): vista dorsal do espécime F1611. (B): vista ventral do espécime F1611. (C): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F1635. (D): microfotografia da epitêlio interno da faringe em um corte sagital. (E): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F1611. (F): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F1611.

Fig. 23. *Geoplana cambara* Almeida & Carbayo, sp. n. Microfotografias do espécime F1611. **(A):** corte sagital da região média da papila peniana; note-se a espessura da musculatura (*m*) que envolve o ducto ejaculatório. **(B):** acúmulo de secreção cinófila (ponta de seta) sob o epitélio dorsal da papila peniana em um corte sagital. **(C):** corte sagital do átrio feminino (ponta de seta indica acúmulo de secreção cianófila sob seu epitélio de revestimento). **(D):** acúmulo de secreção cianófila (ponta de seta) sob o epitélio da região posterior do átrio feminino.

***Geoplana iporanga* Almeida & Carbayo, sp. n.**

Material tipo. Holótipo F3166: Parque Estadual de Intervales, Ribeirão Grande/SP, Brasil. F. Carbayo *et al.* col., 13/12/2008. Região dos ovários: cortes sagitais em 17 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 7 lâminas; faringe: cortes sagitais em 11 lâminas; região do átrio masculino: cortes sagitais em 21 lâminas; região do átrio feminino: cortes sagitais em 9 lâminas. **Parátipo F3132:** Parque Estadual de Intervales, Ribeirão Grande/SP, Brasil. F. Carbayo *et al.* col., 13/12/2008. Região cefálica: cortes horizontais em 3 lâminas; aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 12 lâminas.

Ocorrência: Ribeirão Grande/SP, Brasil.

Etimologia: o epíteto específico refere-se ao nome da localidade onde foi encontrada a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 50 mm de comprimento. Dorso com uma listra mediana alaranjada contornada por listras pretas mais espessas; as faixas marginais e os bordos são brancos. Os ductos eferentes unem-se dentro da papila peniana. Uma massa de secreção cianófila acumula-se na musculatura dorsal da papila peniana e sobre o epitélio de revestimento da porção posterior do átrio feminino.

Descrição. Morfologia externa. Os adultos medem cerca de 53 mm de comprimento e 4 mm de largura. O corpo é alongado, os bordos quase paralelos, o dorso convexo, o ventre plano; a extremidade anterior é arredondada e a posterior obtusa. Na região cefálica, que equivale a 1/10 anterior do corpo, corre uma listra mediana dorsal preta que, no resto do corpo, é dividida em duas listras separadas por uma estreita listra ocre-alaranjada com 1/5 da largura do corpo. As listras pretas, com 1/4 da largura do corpo, são margeadas, de cada lado, por uma faixa marginal branca leitosa, no meio da qual corre uma estria preta, que desaparece nas extremidades. O ventre é branco leitoso, com as margens pretas (Fig. 24A-C).

Os olhos contornam uniserialmente a ponta anterior, mas logo tomam o dorso ocupando as listras pretas. Os olhos mantêm esta distribuição até a cauda, mas são progressivamente mais esparsos. Os olhos da região cefálica têm forma de pão-de-açúcar; os demais têm forma de cálice. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 52% e 67% do comprimento do corpo, respectivamente.

Morfologia interna

A sola rastejadora ocupa 81% da superfície ventral. A epiderme dorsal e a das margens do corpo são atravessadas por numerosos rabditos. Através do epitélio dorsal desembocam também numerosas células que produzem grânulos xantófilos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente. Células produtoras de grânulos cianófilos e produtoras de grânulos eritrófilos abrem-se também através do epitélio ventral. Não há bordo

glandular.

A musculatura subepitelial está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, e uma camada longitudinal composta por feixes de 21-40 fibras cada. O m.c.h é de 7%. A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, fraca, de fibras diagonais decussadas, uma camada suprintestinal e outra subintestinal, ambas fracas e constituídas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas (Fig. 24D).

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se no fim da primeira metade da bolsa faríngea; esta atinge o bulbo peniano; a faringe é cilíndrica; seu epitélio distal, ciliado, é atravessado por células produtoras de três de grânulos, cianófilo, eritrófilo e xantófilo, respectivamente. Os tipos eritrófilo e xantófilo desembocam em zonas distintas, o eritrófilo mais central e o xantófilo mais periférico; o cianófilo é distribuído pelo epitélio distal (Fig. 24E). A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe é composta por uma camada fina (7 μm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (55 μm) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. Sob o epitélio interno da faringe existem algumas fibras musculares longitudinais, e sob elas uma camada (110 μm) de fibras circulares, seguida por uma outra camada (40 μm) de fibras longitudinais.

Os testículos, abaloados e dispostos dorsalmente ao intestino, têm cerca de 250 μm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que acabam logo antes da faringe (46% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano, muito volumoso, é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana; anteriormente, o bulbo se estende anteriormente a uma distância maior que sua máxima altura; sua parte posterior envolve todo o átrio masculino (Figs. 24F-G, 25A). Os ductos eferentes correm dorsalmente aos ovovitelo ductos; os ductos são preenchidos por esperma na porção distal extrabulbar e em toda a intrabulbar. Vindos dos lados encurvam-se primeiramente para o plano medial e para cima, penetram a região ventral do bulbo peniano, e continuam sinuosamente para trás dentro da papila peniana; é dentro da papila onde se reúnem no ducto ejacatório, um canal levemente dilatado no trecho inicial, mas logo afina-se. Este ducto percorre o centro da papila peniana até, presumivelmente se abrir no seu ápice, pois esta parte da papila se perdeu durante a inclusão em parafina. Não existe uma vesícula prostática como cavidade dilatada (Fig. 24F).

Os ductos eferentes são revestidos por um epitélio baixo, ciliado; são envolvidos por musculatura circular (10 μm). O do ducto ejacatório é revestido por um epitélio cúbico, ciliado que contém grânulos finos aparentemente cianófilos; este epitélio é envolvido por uma camada muscular muito densa, de fibras circulares que se tornam decussadas em direção distal. Sua espessura máxima, à altura do gonóporo, atinge 140 μm , o que representa cinco vezes o diâmetro deste ducto (Fig. 25B-C).

A papila peniana é alongada, horizontal, com a inserção dorsal à altura da ventral; seu comprimento equivale a cerca de 6 vezes o seu diâmetro; ocupa todo o átrio masculino e praticamente todo o átrio feminino (Fig. 24F-G). O epitélio da papila peniana, baixo, não ciliado, é atravessado por dois tipos de células, produtoras de grânulos cianófilos e eritrófilos, respectivamente. Além destas secreções, sob o epitélio da metade dorso-distal até perto do ápice, acumula-se uma conspícua massa de secreção granular

cianófila procedente de prolongamentos celulares que as atravessam a musculatura subepitelial; esta é formada por uma densa camada de fibras musculares circulares (decussadas na região apical), mais espessa no dorso (200 μm) que no ventre (100 μm), seguida por uma camada (10 μm) de fibras longitudinais (Fig. 25B, D). No estroma da papila existem numerosas fibras musculares diagonais, mais densamente agrupadas quanto mais próximas da região distal. O átrio masculino é longo, amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, atravessado por numerosas células produtoras de finos grânulos cianófilos; ao seu epitélio subjaz uma camada (12 μm) de fibras circulares.

Os ovários possuem forma circular alongada no eixo ântero-posterior; estes estão a uma distância do ápice anterior do corpo equivalente a 23% do comprimento corpóreo. Os ovovitelo ductos correm ventralmente, apostos à placa nervosa; lateralmente ao átrio feminino se encurvam para o dorso e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este ducto tem um comprimento equivalente a 1/3 do deste átrio; corre posteriormente e comunica-se com o canal genital feminino, que é uma projeção da parte posterior deste átrio. A orientação destes ductos é chamada de 'proflex'. O átrio feminino é longo e funiliforme (Reconstrução do AC); seu comprimento equivale a cerca de três vezes o do masculino (Figs. 24F, 25E). O epitélio do átrio feminino é não-ciliado, passa progressivamente de cúbico, na região anterior, a alto (18-26 μm), com aparência estratificada na porção posterior; seu epitélio é atravessado por células produtoras de grânulos cianófilos. Esse átrio é envolvido por musculatura composta por uma camada (5-75 μm) de fibras circulares entremeadas por fibras oblíquas, seguida por uma camada de fibras longitudinais (28-88 μm). Na região posterior, a musculatura não está imediatamente sob o epitélio, mas afastada dele (10-40 μm), sendo o espaço que os separa preenchido por uma massa de grânulos cianófilos muito finos e por uma espécie de filamentos que penetram a musculatura subjacente. Envolvendo estas camadas musculares, existem abundantes fibras musculares longitudinais mais grossas que parecem compor um laxo envoltório muscular (Fig. 25E).

Fig. 24. *Geoplana iporanga* Almeida & Carbayo, sp. n. (A): vista dorsal do espécime F3166. (B): vista dorsal do espécime F3132. (C): vista de parte do dorso e ventre do espécime F3132. (D): microfotografia de um corte horizontal sobre o intestino mostrando as fibras parenquimáticas supaintestinais transversais e longitudinais; o eixo ântero-posterior do corpo está horizontal na imagem. (E): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F3166. (F): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F3166; a ponta da seta indica o local de reunião dos ductos eferentes. (G): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F3166.

Fig. 25. *Geoplana iporanga* Almeida & Carbayo, sp. n. Microfotografias do holótipo (F3166). (A): corte sagital do bulbo peniano. (B): corte sagital da região central da papila peniana. (C): ducto ejaculatório e sua musculatura em um corte sagital. (D): epitélio dorsal da papila peniana em um corte sagital; a ponta da seta indica secreção cianófila acumulada sob o epitélio da papila. (E): parte posterior do átrio feminino.

***Geoplana pulchella* Schultz & Müller, 1857**

Material estudado. F3249: Parque Estadual da Serra do Tabuleiro, Paulo Lopes/SC, Brasil, (-27.98139 -48.74806). F. Carbayo, *et al.* col., 14/01/2009. Região cefálica: cortes transversais em 11 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 6 lâminas; região posterior a dos ovários: cortes sagitais em 9 lâminas; região pré-faríngea: cortes sagitais em 10 lâminas; faringe: cortes sagitais em 11 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 11 lâminas. **F6528:** RPPN Vale das Pedras, Alfredo Wagner/SC, Brasil, (-27.61695 -049.34778). A. L. Almeida *et al.* col., 16/01/2015. Região cefálica: cortes horizontais em 4 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 5 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 4 lâminas; faringe: cortes sagitais em 4 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 9 lâminas. **F6544:** RPPN Vale das Pedras, Alfredo Wagner/SC, Brasil, (-27.61696 -049.34813). A. L. Almeida *et al.* col., 18/01/2015. Região cefálica: cortes horizontais em 5 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 4 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 7 lâminas; faringe: cortes sagitais em 5 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 7 lâminas.

Ocorrência: Blumenau, Paulo Lopes, Alfredo Wagner, Estado de Santa Catarina, Brasil.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 30 mm de comprimento. Dorso com o primeiro terço alaranjado e o restante com uma faixa mediana cinza clara margeada por duas faixas pretas; grandes salpicos esbranquiçados por todo o dorso. O bulbo peniano muito desenvolvido anteriormente e em torno do átrio masculino. Espessura da musculatura do ducto ejaculatório maior que seu diâmetro. Epitélio da porção posterior do átrio feminino envolvido por uma densa massa de secreção cianófila.

Descrição. Morfologia externa. O corpo atinge cerca de 30 mm de comprimento e 3 mm de largura; é alongado, com os bordos praticamente paralelos. O dorso é subcilíndrico, ventre plano, a extremidade anterior arredondada e a posterior obtusa. O primeiro terço dorsal é laranja-ocre, o resto tem uma faixa mediana cinza clara, margeada de cada lado, por uma faixa preta. Exceto no ápice anterior, todo o dorso é salpicado por zonas esbranquiçadas arredondadas, que se adensam nas margens da faixa mediana. O ápice posterior é cinza claro. O ventre é esbranquiçado no primeiro terço do corpo e cinza no restante (Figs. 26A, 28).

Os olhos, em forma de pão de açúcar, medem cerca de 39 µm; contornam uniserialmente a região cefálica. Olhos caliciformes ocorrem no dorso desde a região cefálica até a cauda, restritos as áreas pretas e alaranjadas. As fossetas sensoriais são invaginações com 30 µm de profundidade dispostas ventromarginalmente em uma fileira simples, estendendo-se até a região pré-faríngea. A boca e o gonóporo estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 53% e 69% do comprimento do corpo, respectivamente.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa cerca de 85% da superfície ventral. A epiderme dorsal e a dos bordos é atravessada por numerosos rabditos e por três tipos de células secretoras de grânulos, eritrófilos, xantófilos e cianófilos, respectivamente, o último tipo escasso. Através do epitélio ventral desembocam células que produzem secreção amorfa de dois tipos, eritrófilo e cianófilo, respectivamente. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada de feixes longitudinais de 17-21 fibras cada um. O mch é 5%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal de fibras diagonais decussadas, uma camada supra-intestinal e outra subintestinal, todas fracas, compostas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas.

O sistema nervoso está organizado em uma placa nervosa. A boca situa-se no meio da bolsa faríngea. A faringe é cilíndrica (Fig. 26B); seu epitélio distal é atravessado por três tipos de células produtoras de grânulos, xantófilos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe é composta por uma camada fina (5 μ m) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (50 μ m) de fibras circulares e longitudinais entremeadas. A musculatura subjacente ao epitélio interno da faringe é composta por uma camada simples de fibras longitudinais seguida de uma camada (65 μ m) de fibras circulares, esta seguida por uma camada (20 μ m) de fibras longitudinais (Fig. 26C).

Os testículos, abaloados têm cerca de 230 μ m de diâmetro; estão organizados em duas fileiras dorsais ao intestino que começam logo atrás dos ovários, a uma distância da ponta do corpo equivalente a 27% do comprimento deste, e acabam logo antes da faringe (45% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares; é mais desenvolvido dorsal que ventralmente; para trás envolve todo o átrio masculino. Os ductos eferentes penetram ventrolateralmente o bulbo peniano, então encurvam-se medialmente para cima, e unem-se no ducto ejaculatório, inicialmente externo a papila peniana, em forma de uma cavidade ímpar, com forma de C, vista de lado (fig. 26E-F). Os ductos eferentes contêm espermatozoides na porção distal extra e intrabulbar; são revestidos por epitélio cúbico, e estão envolvidos por musculatura composta de uma camada (7-10 μ m) de fibras circulares. A porção inicial do ducto ejaculatório é revestida por um epitélio alto e ciliado, que aparentemente não recebe células secretoras, envolto por uma camada (15 μ m) muscular de fibras circulares. Dentro da papila esse ducto a atravessa na região central até desembocar em seu ápice; nessa porção, é revestido por um epitélio envolvido por uma camada de fibras musculares circulares com espessura de 50 μ m em seu percurso anterior ao gonópore e 75 μ m após essa região, diminuindo novamente de espessura à medida que se aproxima da ponta da papila peniana. Em seu maior desenvolvimento, essa musculatura equivale a 3 vezes o diâmetro externo do ducto.

A papila peniana é alongada, ocupando todo o átrio masculino e quase todo o feminino; seu comprimento equivale a cerca de 7-9 vezes o seu maior diâmetro (Fig. 26E-F). O epitélio da papila peniana é

de baixo a cúbico, não ciliado; o epitélio dos 3/4 distais é atravessado por células produtoras de grânulos eritrófilos em concentração crescente no sentido apical. A musculatura que subjaz ao epitélio está formada por uma densa camada (90 µm) de fibras musculares circulares -decussadas na região apical-, seguida por uma fina, somente visível em cortes tangenciais, de fibras longitudinais. O estroma dessa papila apresenta numerosas fibras musculares diagonais. O átrio masculino é longo, amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, ao qual subjaz uma camada (5 µm) de fibras musculares circulares, seguida de outra, muito fina de fibras longitudinais. Existe uma espécie de alça muscular, apenas em um dos lados do corpo, de fibras que contornam a região distal do átrio masculino e se acumulam na região ventral, posteriormente ao gonóporo (Fig. 27B-C).

Os ovários, ovóides, têm cerca de 260 µm de diâmetro do eixo principal; localizam-se a uma distância da ponta anterior do corpo equivalente a 25% do comprimento corporal. Os ovoviteloductos saem da região dorso-lateral dos ovários; correm ventralmente, apostos à placa nervosa; atrás da região do gonóporo, ascendem obliquamente e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente e aproximadamente à região central do átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a 40-50% do comprimento deste átrio, comunica-se com o canal genital feminino. Este é um canal dilatado da parte posterior do átrio feminino que se dirige para o dorso e para a frente, ou seja, a condição 'proflex'; é um epitélio não ciliado com 25 µm de altura, com a superfície livre eritrófila, e aparência estratificada (Fig. 26E-F). Sob seu epitélio há uma massa cianófila, com até 50 µm de espessura, de grânulos muito finos e uma espécie de filamentos que se estendem pela musculatura subjacente (Fig. 27A).

O átrio feminino é uma cavidade longa, funiliforme na sua porção posterior, com quase o dobro do comprimento do átrio masculino (Fig. 26E-F); é revestido por um epitélio baixo, atravessado por células produtoras de grânulos eritrófilos. Esse átrio é envolvido por musculatura composta por uma camada (5-20 µm) de fibras entre circulares e decussadas, seguida por uma camada de fibras longitudinais (5-55 µm) (Fig. 27A).

Fig. 26. *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857. (A): vista dorsal (no requadro, ventral) do espécime F3249 em vida. (B): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F3249. (C): microfotografia do epitélio interno da faringe e a musculatura subjacente em um corte tangencial da faringe do espécime F6528. (D): microfotografia de um corte sagital do canal genital feminino do espécime F6544; a ponta da seta indica acúmulo de secreção cianófila. (E): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F6544. (F): reconstrução do aparelho copulador do espécime F3249.

Fig. 27. *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857. Microfotografias do espécime F3249. **(A):** corte sagital do canal genital feminino; a ponta da seta indica acúmulo de secreção cianófila sob seu epitélio de revestimento. **(B):** plano sagital do aparelho copulador cortado tangencialmente. **(C):** corte sagital de lateral ao gonóporo.

Fig. 28. Desenho esquemático, por E. M. Froehlich, de espécime imaturo descrito em Froehlich (1955b) como *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857.

***Geoplana chita* Froehlich, 1956**

Material estudado. **Espécime A:** Curitiba/PR, Brasil. Froehlich, 21/11/1952. Aparelho copulador: cortes sagitais em 2 lâminas. **Espécime B:** Curitiba/PR, Brasil. Froehlich, 21/11/1952. Aparelho copulador: cortes sagitais em 4 lâminas. **Espécime A ou B:** região pré-faríngea: cortes transversais em 2 lâminas; faringe: cortes sagitais em 1 lâmina. **F6993:** Serra-Morretes/PR, Brasil. Froehlich *et al. col.*, 17/06/1953. Aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 9 lâminas. **F6995:** Morretes/PR, Brasil. Magno C. Segalla *leg.* Froehlich, 01/11/1987. Região do aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 37 lâminas. **F1710:** Morretes/PR, Brasil. F. Carbayo *et al. col.*, 13/01/2008. Região pré-faríngea: cortes transversais em 3 lâminas; faringe: cortes sagitais em 5 lâminas; região posterior a faringe: cortes sagitais em 4 lâminas. **F1730:** Morretes/PR, Brasil. F. Carbayo *et al. col.*, 13/01/2008. Região cefálica: cortes horizontais em 4 lâminas; faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 6 lâminas.

Ocorrência: Curitiba/PR, Matinhos/PR e Morretes/PR, Brasil.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 60 mm de comprimento. Dorso com uma faixa mediana amarela, margeada externamente por duas faixas pretas; sobre todo o dorso distribuem-se manchas esbranquiçadas. A bolsa faríngea encosta no bulbo peniano. O bulbo peniano é denso, bem desenvolvido anteriormente e envolve todo o átrio masculino. A musculatura que envolve o ducto ejaculatório é maior que seu diâmetro. A papila mede 7 vezes o próprio diâmetro. Uma densa massa de secreção cianófila se acumula na musculatura ventral da papila peniana. O epitélio da porção posterior do átrio feminino envolvido por uma densa massa de secreção cianófila.

Descrição

Morfologia externa. Os adultos fixados medem cerca de 58 mm de comprimento e 4 mm de largura. O corpo é alongado, os bordos quase paralelos, dorso convexo, ventre plano, extremidade anterior arredondada e posterior obtusa. Corre sobre o dorso uma faixa mediana, preta na região cefálica, que equivale ao 1/6 anterior do corpo; para trás, esta faixa, com 1/3 da largura do corpo, torna-se amarelo mostarda e desaparece pouco antes da extremidade posterior. A faixa mediana é contornada de cada lado por uma faixa, branca na região cefálica, e preta no restante do corpo; manchas claras salpicam todo o dorso (Fig. 29A-B). O ventre é branco leitoso e os bordos são pretos.

Olhos em forma de pão de açúcar, contornam unisserialmente a região cefálica. Olhos caliciformes também ocorrem na região cefálica e se espalham pelo dorso sobre as faixas brancas e pretas atingindo a cauda (Fig. 29C). A boca e o gonóporo estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 65% e 76% do comprimento do corpo, respectivamente.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa 86% de largura da superfície ventral. A epiderme dorsal e os bordos são atravessados por rabditos e por células produtoras de grânulos de dois tipos, eritrófilos e cianófilos, respectivamente. Através do epitélio ventral desembocam células produtoras de grânulos cianófilos. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada de feixes longitudinais de 7-31 fibras cada um. O mc:h é 6%.

A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, fraca, de fibras diagonais decussadas, uma camada supaintestinal e outra subintestinal, ambas fracas e constituídas por fibras transversais e longitudinais entrecruzadas.

O sistema nervoso central é organizado em uma placa. A boca situa-se no fim do primeiro terço da bolsa faríngea. A bolsa faríngea encosta no bulbo peniano. Há um curto esôfago. A faringe é cilíndrica (Fig. 29D); é atravessada por células produtoras de grânulos de três tipos, a saber, cianófilo, eritrófilo e xantófilo, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe, ciliado, é composta por uma camada fina (2,5 μm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (35 μm) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. Sob o epitélio interno da faringe existe uma fina camada de fibras musculares longitudinais, e sob ela uma camada (38 μm) de fibras circulares, seguida por uma outra camada (10 μm) de fibras longitudinais.

Os testículos, abaloados e dispostos dorsalmente ao intestino; têm cerca de 250 μm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que acabam logo antes da faringe (60% do comprimento do corpo).

O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana; o bulbo se estende anteriormente à inserção da papila em uma distância equivalente a algo mais do que o seu maior diâmetro; sua porção posterior envolve todo o átrio masculino. Os ductos eferentes correm em posição dorso-lateral aos ovovitelo ductos; chegados à região da base da papila peniana, encurvam-se para cima e para a frente, penetram a região medial-ventral do bulbo peniano e mantêm o mesmo percurso, algo irregular, unem-se no ducto ejaculatório, em porção externa a papila peniana, sinuoso e ímpar, em forma de C, sem intermédio de uma cavidade dilatada que se possa denominar de vesícula prostática (Fig. 29E-F, 30A). Os ductos eferentes são revestidos por um epitélio ciliado baixo, que se torna cúbico distalmente; cada ducto eferente, na região de epitélio baixo, é envolvido por uma camada (10 μm) de fibras circulares que se torna mais espessa (15 μm) na região em que é revestido por epitélio cúbico. O epitélio do ducto ejaculatório, cúbico e ciliado, é envolvido, na porção externa à papila peniana, por uma camada (60 μm) muscular de fibras circulares. Já dentro da papila peniana, este ducto a atravessa concentricamente até desembocar em seu ápice; dentro da papila peniana, este ducto é envolvido por uma camada de fibras musculares circulares com espessura de 40 μm em seu percurso anterior ao gonóporo e 140 μm após essa região, diminuindo novamente de espessura à medida que se aproxima da ponta da papila peniana. Em seu maior desenvolvimento, essa musculatura equivale a 5 vezes o diâmetro do ducto (Fig. 30B-C).

A papila peniana é alongada, horizontal, com porção posterior ao gonóporo mais dilatada; seu comprimento equivale a cerca de 7 vezes o seu maior diâmetro; ocupa totalmente os átrios masculino e feminino. O epitélio da papila peniana é baixo e não ciliado; sob o epitélio da metade ventral-distal ou também no dorso, formando um anel em torno da papila, até perto do ápice, acumula-se uma conspícua massa de secreção granular cianófila (Fig. 29E) procedente de prolongamentos celulares que atravessam a musculatura subepitelial. Esta musculatura não está imediatamente sob o epitélio, mas separada deste pelo espaço ocupado pela secreção cianófila; esta formada por uma densa camada de fibras musculares circulares (decussadas na região apical) mais espessa no ventre (160 μm) que no dorso (80 μm), seguida por uma camada (10 μm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é longo, amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo ao que subjaz uma camada (10 μm) de fibras musculares circulares, seguida de outra (10 μm) de fibras longitudinais (Fig. 29E-F).

Os ovoviteloductos correm ventralmente apostos à placa nervosa; atrás da região do gonóporo, ascendem obliquamente e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a 1/4 do comprimento deste átrio, corre para trás até abrir-se ao canal genital feminino, que é uma projeção da parte posterior deste órgão feminino, dirigida para o dorso, ou seja, a condição 'proflex'. O átrio feminino é alongado, com a parte posterior funiliforme; seu comprimento equivale ao dobro do comprimento do átrio masculino (Fig. 29F). Excetuando na região funiliforme, o epitélio que reveste o átrio é baixo e não ciliado; nessa região, o epitélio tem aparência estratificada e o espaço imediatamente sob ele é ocupado por um acúmulo de secreção cianófila. A musculatura do átrio é formada por uma camada (5-40 μm) de fibras entre circulares e decussadas. O conjunto está envolvido por uma densa massa muscular 40-150 μm de espessura de fibras longitudinais mais espessas que é um contínuo da camada anterior.

Fig. 29. *Geoplana chita* Froehlich, 1956. (A): vista dorsal do espécime F1730. (B): vista dorsal do espécime F1710. (C): vista dorsal da porção anterior do espécime F6995, fixado, da coleção da Profa. E. M. Froehlich, mostrando a distribuição dos olhos. (D): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F1710. (E): microfotografia de um corte sagital do espécime F6995. (F): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F6995.

Fig. 30. *Geoplana chita* Froehlich, 1956. (A): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F1730. (B): microfotografia de um corte sagital do espécime F6995, da coleção da Profa. E. M. Froehlich, mostrando a papila peniana e o ducto ejaculatório; note-se a espessura da musculatura (*m*) subepitelial. (C): microfotografia de um corte sagital do aparelho copulador do espécime F1710, incompletamente maduro.

***Geoplana boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov.**

Sinonímia:

Geoplana chita Froehlich, 1956a (em parte).

Material estudado. Espécime F4112: Estação Biológica de Boraceia, Salesópolis/SP, Brasil (-23.65389 -45.88917). F. Carbayo *et al.* col., 21/12/2009. Região cefálica: cortes horizontais em 11 lâminas; região dos ovários: cortes horizontais em 4 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 8 lâminas; faringe: cortes sagitais em 6 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 12 lâminas. **F6575:** São Sebastião/SP, Brasil (-23.74685 -45.63213). A. L. Almeida *et al.* col., 13/02/2015. Região dos ovários: cortes horizontais em 7 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 10 lâminas; faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 15 lâminas. **F6578:** São Sebastião/SP, Brasil (-23.74685 -45.63213). A. L. Almeida *et al.* col., 13/02/2015. Região dos ovários: cortes horizontais em 7 lâminas; região pré-faríngea: cortes transversais em 10 lâminas; faringe e aparelho copulador: cortes sagitais em 9 lâminas. **F6357:** São Sebastião/SP, Brasil. F. Carbayo *et al.* col., 29/04/2014. Aparelho copulador: cortes sagitais em 11 lâminas. **F6994:** Estação Biológica de Boraceia, Salesópolis/SP, Brasil. E. M. Froehlich *et al.* col., 14/09/1986. Aparelho copulador e faringe: cortes sagitais em 48 lâminas. **Espécime sem nr.** (estudado por Froehlich, 1956b): Eldorado (=Xiririca) / SP, Brasil. Dr. Otto Schubart leg. E. M. Froehlich *et al.* col., 21/11/1952. Faringe: cortes sagitais em 1 lâminas; aparelho copulador: cortes sagitais em 2 lâminas.

Ocorrência. Salesópolis/SP, São Sebastião/SP, Eldorado (=Xiririca)/SP, Brasil.

Etimologia. O epíteto específico refere-se ao nome da Reserva Biológica de Boaraceia, onde encontramos a espécie; o nome é usado em aposição.

Diagnose. *Geoplana* com cerca de 50 mm de comprimento. Dorso com uma listra mediana amarelo mostarda margeada de cada lado por uma faixa preta; brancas na região cefálica, e preta no restante do corpo; sobre todo o dorso distribuem-se manchas circulares esbranquiçadas. O bulbo peniano envolve todo o átrio masculino. A musculatura que envolve o ducto ejaculatório, em espessura, é menor que o diâmetro deste ducto. A papila peniana mede 6-7 vezes o próprio diâmetro.

Descrição

Morfologia externa. Os adultos fixados medem cerca de 50 mm de comprimento e 4 mm de largura. O corpo é alongado, os bordos quase paralelos, dorso convexo, ventre plano, extremidade anterior arredondada e posterior obtusa. Corre sobre o dorso uma faixa mediana, preta na região cefálica, que equivale ao 1/5 anterior do corpo; para trás, esta faixa, com 1/3-1/4 da largura do corpo, torna-se amarelo

mostarda e desaparece pouco antes da extremidade posterior. A faixa mediana é contornada de cada lado por uma faixa, branca na região cefálica, e preta no restante do corpo; manchas claras salpicam todo o dorso. O ventre é branco leitoso e os bordos são pretos (Fig. 31A-E).

Olhos em forma de pão de açúcar, contornam uniserialmente a região cefálica. Olhos caliciformes também ocorrem na região cefálica e se espalham pelo dorso sobre as faixas brancas e pretas atingindo a cauda. A boca e o gonópore estão a uma distância da extremidade anterior equivalente aproximadamente a 56% e 70% do comprimento do corpo, respectivamente. As fossetas sensoriais, ventromarginais, possuem cerca de 40 μm de profundidade e distribuem-se em uma fileira pelo menos na porção anterior do corpo com 13% do comprimento.

Morfologia interna. A sola rastejadora ocupa 85% de largura da superfície ventral. A epiderme dorsal é atravessada por numerosos rabditos e por três tipos de células produtoras de grânulos, eritrófilo, xantófilo – a mais abundante – e cianófilo, respectivamente. Os bordos são atravessados por numerosos rabditos. Através do epitélio ventral desembocam células de dois tipos, cianófilo, eritrófilo -escasso-, respectivamente. Não há bordo glandular.

A musculatura subepidérmica está organizada em uma camada de fibras circulares, seguida por uma camada dupla de fibras diagonais, seguida por uma camada de feixes longitudinais de 9-30 fibras cada um. O m.c.h é 9%. A musculatura parenquimática é composta por uma camada dorsal, pouco desenvolvida, de fibras diagonais decussadas, uma camada supra-intestinal e outra subintestinal, ambas de fibras transversais e longitudinais entrecruzadas (Fig. 31F).

O sistema nervoso central é organizado em uma placa. A boca situa-se no meio da bolsa faríngea. A bolsa faríngea encosta no bulbo peniano. Há um curto esôfago. A faringe é cilíndrica (Fig. 31G); é atravessada por células produtoras de grânulos de três tipos, a saber, cianófilo, eritrófilo e xantófilo, respectivamente. A musculatura subjacente ao epitélio externo da faringe, ciliado, é composta por uma camada fina (2,5 μm) de fibras longitudinais, seguida por uma camada (35 μm) de fibras circulares, entremeadas, na parte mais interna, com fibras longitudinais. Sob o epitélio interno da faringe existe uma fina camada de fibras musculares longitudinais, e sob ela uma camada (50 μm) de fibras circulares, seguida por uma outra camada (15 μm) de fibras longitudinais (Fig. 31H).

Os testículos, abalados e dispostos dorsalmente ao intestino; têm cerca de 300 μm de diâmetro; estão organizados em duas fileiras que acabam logo antes da faringe (51% do comprimento do corpo). O bulbo peniano é formado por uma densa retícula de fibras musculares em que se assenta a papila peniana; anteriormente, o bulbo se estende anteriormente o equivalente ao seu maior diâmetro; sua parte posterior envolve o átrio masculino até região do gonópore. Os ductos eferentes correm dorsalmente aos ooviteloductos; chegados à altura da inserção ventral da papila peniana, encurvam-se anteriormente para o plano sagital e penetram a região ântero-ventral do bulbo peniano; continuam o mesmo percurso até se unir, cada um, no ducto ejaculatório, em porção externa à papila peniana, em forma de C sinuoso (Figs. 31I, 32A-C). Os dutos eferentes são revestidos por um epitélio cúbico ciliado envolvido por uma camada (12 μm de espessura de fibras circulares. Estes ductos pares e porção em forma de C do ducto ejaculatório são

revestidos por um epitélio alto, ciliado envolvido por uma musculatura circular (15 µm). O ducto ejaculatório, nessa região, parece conter pequenos grânulos palidamente cianófilos. Em certas áreas, este epitélio é travessado por células produtoras de grânulos eritrófilos. O mesmo tipo de células de secreção eritrófila atravessa profusamente o epitélio do ducto ejaculatório dentro da papila peniana; dentro da papila, este ducto corre concentricamente até se abrir no ápice desta; este canal é revestido por um epitélio alto e ciliado, atravessado por numerosas células produtoras de grânulos de dois tipos, eritrófilos e xantófilos, respectivamente; é envolvido por uma camada (10 µm) de fibras musculares circulares e decussadas, o que equivale a 1/5 do diâmetro do ducto (Fig. 32D-E).

A papila peniana é alongada, horizontal; seu comprimento equivale a cerca de 6-7 vezes o próprio diâmetro; sua inserção dorsal um pouco adiantada em relação à ventral (Reconstrução do AC). Ocupa todo o átrio masculino e grande parte do feminino. O epitélio da papila peniana, cúbico e não ciliado, apresenta duas regiões diferenciadas pelo tipo de secreção que o atravessa; em uma das regiões, é atravessado por numerosas células produtoras de grânulos grossos eritrófilos, e em outra região que corresponde ao epitélio da metade dorso-distal, ou também ventro-distal, até perto do ápice, acumula-se uma conspícua massa de secreção granular cianófila (Fig. 32D-E) procedente de prolongamentos celulares que atravessam a musculatura subepitelial (Fig. 32F). Esta musculatura não está imediatamente sob o epitélio, mas separada deste pelo espaço ocupado pela secreção cianófila; esta formada por uma densa camada de fibras musculares circulares (decussadas na região apical) e mais espessa no dorso (110 µm) que no ventre (55 µm), seguida por uma camada (15 µm) de fibras longitudinais. O átrio masculino é longo, amplo e sem pregas; é revestido por um epitélio baixo, atravessado por células produtoras de secreção eritrófila; ao seu epitélio subjaz uma camada (10 µm) de fibras circulares, seguida de outra de fibras longitudinais, ambas finas (10 µm).

Os ovários, com cerca de 500 µm de comprimento, possuem forma alongada no eixo ântero-posterior; estes estão a uma distância do ápice anterior do corpo equivalente a 32% do comprimento do corpo num animal incompletamente maduro (F6578).

Os ovoviteloconductos correm ventralmente apostos à placa nervosa; atrás da região do gonóporo, ascendem obliquamente e unem-se com o ducto glandular comum, dorsalmente ao átrio feminino. Este ducto, com comprimento equivalente a 16-18% do comprimento deste átrio, corre para trás até abrir-se ao canal genital feminino, que é uma projeção funiliforme arredondada da parte posterior deste órgão feminino; é dirigida para o dorso, ou seja, a condição 'proflex'. O átrio feminino é alongado; sua parte posterior é funiliforme e, em alguns animais, apresenta também algumas pequenas dobras. O epitélio que reveste o átrio, alto, não ciliado, tem aparência estratificada em porção posterior; é atravessado por numerosas células de secreção cianófila e xantófila, ambas amorfas. Envolvendo este átrio, existe uma camada (5-20 µm) de fibras entre circulares e decussadas. O conjunto está envolvido por uma densa massa muscular de fibras longitudinais com 20-125 µm de espessura (Fig. 32D, G).

Fig. 31. *Geoplana boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *G. chita* sensu Froehlich, 1956, em parte) (A): vista dorsal do espécime F4358. (B): vista dorsal do espécime F6994, fixado, da coleção da Prof. Froehlich. (C): vista dorsal do filhote F6068. (D): vista ventral do espécime F6026. (E): microfotografia de um corte horizontal sob o intestino mostrando as fibras parenquimáticas subintestinais transversais e longitudinais. (F): microfotografia de um corte sagital da faringe do espécime F6575. (G): microfotografia o epitélio interno e as fibras musculares subjacentes (*m*, longitudinais) da faringe do espécime F6575 em um corte sagital. (H): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F4112.

Fig. 32. *Geoplana boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *G. chita* sensu Froehlich, 1956, em parte) (A): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F6578, incompletamente maduro. (B): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F6357. (C): reconstrução sagital do aparelho copulador do espécime F6575. (D): microfotografia da metade distal da apapila peniana do espécime F6575. (E): microfotografia de um corte sagital da porção dorsal da papila peniana e do ducto ejaculatório do espécime F6575. (F): microfotografia do epitélio dorsal da papila peniana do espécime F6575 em um corte sagital mostrando o acúmulo de secreção sob esse epitélio (ponta da seta). (G): microfotografia de um corte sagital do átrio feminino do espécime F6575.

RESULTADOS. SEÇÃO MOLECULAR

Foram obtidas, no total, 46 sequências moleculares, das quais 42 são de espécimes de *Geoplana* e as demais referem-se as de indivíduos do grupo externo. Para COI e EF-1- α , foram obtidas 36 e 33 sequências de *Geoplana*, respectivamente.

O modelo evolutivo selecionado para a matriz de COI foi TIM1+I+ Γ ; o modelo selecionado para a matriz de EF-1- α foi TIM1+I e o melhor modelo para a matriz dos genes concatenados foi GTR+I+ Γ .

A análise filogenética por parcimônia para o gene EF-1- α resultou em 3 árvores igualmente parcimoniosas, todas com custo de 249, das quais foi realizado o consenso estrito (Apêndice 2). A análise filogenética do gene COI resultou em uma única árvore (Fig. 33) com custo de 738 passos. A análise simultânea destes genes (concatenado) resultou em 16 árvores igualmente parcimoniosas com custo de 1024 passos, cujo consenso estrito está representado na Figura 34.

As análises filogenéticas por verossimilhança máxima dos genes COI (Apêndice 3) e EF-1- α (Apêndice 4) resultaram em uma árvore com valores de $-\ln L$ -4339.666600 e $-\ln L$ 2007.297123, respectivamente. A análise filogenética sob o mesmo critério de otimalidade para os genes concatenados (Apêndice 5) resultou em uma topologia com menor custo $-\ln L$ 6711.562367.

Comportamento dos genes nas análises

Os dois genes utilizados nas análises filogenéticas, COI (mitocondrial) e EF-1- α (nuclear), têm comportamentos diferentes, condição demonstrada pelas filogenias resultantes de análises individuais para cada um deles. Os sítios do gene COI são mais variáveis que os do gene do EF-1- α , e as filogenias inferidas de COI são mais bem resolvidas comparadas com aquelas obtidas pela análise do gene EF-1- α . COI recupera mais clados, estes congruentes com resultados morfológicos, portanto, consideramos este bom marcador a nível de espécie; condição que não se confere a EF-1- α .

Considerando que a representatividade taxonômica dos genes não é a mesma, as análises com os genes concatenados repetem a topologia geral que se observa nas análises individuais de cada gene. Os terminais com representantes de apenas sequências de COI tendem a formar grupos congruentes com a morfologia; terminais com apenas sequências de EF-1- α têm propensão a formar grupos morfollogicamente heterogêneos (e.g., *Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo nom. nov. + *Geoplana* sp. 3 + *Geoplana cananeia* sp. n.).

As análises sob o critério de parcimônia recuperam melhor clados morfollogicamente congruentes e com valores de suporte mais elevados quando comparadas com aquelas obtidas sob o critério de verossimilhança, inclusive no que se refere a relacionamentos de parentesco entre estas espécies. Por tais motivos, para a discussão dos resultados consideraremos principalmente as filogenias inferidas a partir das análises filogenéticas de COI e do genes concatenados sob o critério de parcimônia.

Fig. 33. Árvore filogenética de *Geoplana* gerada pelo critério de parcimônia a partir de sequências moleculares de COI. Números nos ramos referem-se aos valores de suporte de Goodman-Bremer. Cada terminal recebe o nome da espécie, seguido, entre colchetes, pelo município de ocorrência e o número de identificação do espécime. Clados com membros morfologicamente semelhantes estão delimitados por retângulos coloridos. KC indica sequências obtidas do GenBank, e constam primeiro da sequência de COI, depois, de EF-1- α . (*) Consta como *Geoplana vaginuloides* no GenBank; (**) consta como *Geoplana chita* no GenBank.

Fig. 35. Árvore filogenética de *Geoplana* gerada pelo critério de parcimônia a partir de dados moleculares dos genes COI e EF-1- α concatenados. Valores de suporte de Goodman-Bremer estão representados nos nós. Cada terminal recebe o nome da espécie, seguido, entre colchetes, pelo município de ocorrência e o número de identificação do espécime. Clados com membros morfologicamente semelhantes estão delimitados por retângulos coloridos. KC indica sequências obtidas do GenBank, e constam primeiro da sequência de COI, depois, de EF-1- α . (*) Consta como *Geoplana vaginuloides* no GenBank; (**) consta como *Geoplana chita* no GenBank.

DISCUSSÃO

Congruência dos dados morfológicos com os moleculares: complexos de espécies e novas espécies

Embora a representatividade da subfamília nas nossas análises seja muito reduzida, as topologias obtidas são congruentes com as de Carbayo *et al.* (2013) quanto à monofilia de *Geoplana*. As espécies nominais, como descritas na literatura, *Geoplana vaginuloides* e *G. cf. chita* representam um complexo de espécies. Estas resultaram polifiléticas em todas as análises moleculares. Com apenas uma exceção (i. e., grupo *Geoplana chita* + *Geoplana cambara* sp. n.), as inferências filogenéticas revelam clados também congruentes com agrupamentos de indivíduos realizados seguindo critérios morfológicos. Esses critérios referem-se a características tais como tamanho, padrão de colorido do corpo, anatomia e histologia do aparelho copulador, como discutido na seção anterior. Estas características são comumente utilizadas para a distinção das espécies de planárias. A congruência se manifesta no reconhecimento como espécies até 13 agrupamentos de indivíduos, incluindo 4 grupos reconhecidos historicamente como *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844) por Riester (1938), Marcus (1951, 1952), C. G. Froehlich (1956a, 1958) bem como outros indivíduos cujo aspecto externo é compatível com as descrições de *G. vaginuloides* (Tab. 4). Uma parte destes últimos indivíduos procede da coleção da Profa. E. M. Froehlich, onde estavam identificados como *G. vaginuloides* (dados não publicados); outros foram recentemente coletados por nós. Uma chave de identificação das espécies de *Geoplana* é fornecida no fim da Discussão.

Tab. 4. Representatividade das espécies de *Geoplana* tratadas neste trabalho. O hífen “-” indica espécies presumivelmente não coletadas nem estudadas até o presente trabalho por outros autores.

Espécie nominal	Nome proposto
<i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)	<i>Geoplana vaginuloides</i> (Darwin, 1844)
<i>Geoplana vaginuloides</i> sensu Riester (1938) (em parte)	<i>Geoplana apua</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.
<i>Geoplana vaginuloides</i> sensu Marcus (1951)	<i>Geoplana mogi</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.
<i>Geoplana vaginuloides</i> sensu Marcus (1952)	<i>Geoplana piratininga</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.
<i>Geoplana vaginuloides</i> (E. M. Froehlich, não publicado)	<i>Geoplana paranapiacaba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.
-	<i>Geoplana caragatatuba</i> Almeida & Carbayo, sp. n.
-	<i>Geoplana ibiuna</i> Almeida & Carbayo, sp. n.
<i>Geoplana vaginuloides</i> (E. M. Froehlich, não publicado)	<i>Geoplana cananeia</i> Almeida & Carbayo, sp. n.
-	<i>Geoplana cambara</i> Almeida & Carbayo, sp. n.
-	<i>Geoplana iporanga</i> Almeida & Carbayo, sp. n.
<i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857	<i>Geoplana pulchella</i> Schultze & Müller, 1857
<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956 (em parte)	<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956
<i>Geoplana chita</i> Froehlich, 1956 (em parte)	<i>Geoplana boraceia</i> Almeida & Carbayo, nom. nov.
-	<i>Geoplana</i> sp. 1
-	<i>Geoplana</i> sp. 2
-	<i>Geoplana</i> sp. 3
-	<i>Geoplana</i> sp. 4

Complexo de espécies de *Geoplana* cf. *vaginuloides*

As seguintes dez espécies de *Geoplana* seriam reconhecidas como *G. vaginuloides* se fossem empregados os critérios utilizados por Riester (1938), Marcus (1951, 1952) e Froehlich (1956a, 1958): *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844), *Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov., *Geoplana mogi* Almeida & Carbayo, nom. nov., *Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov., *Geoplana paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n., *Geoplana caraguatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n., *Geoplana ibiuna* Almeida & Carbayo, sp. n., *Geoplana cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n., *Geoplana cambara* Almeida & Carbayo, sp. n. e *Geoplana iporanga* Almeida & Carbayo, sp. n.

Pelo padrão de colorido do corpo, quase todas elas podem ser diferenciadas entre si (Tab. 5). *Geoplana vaginuloides* é a única com uma listra mediana dorsal preta. As demais espécies possuem a faixa mediana alaranjada ou avermelhada. Destas, somente *G. mogi* tem listras paramedianas esbranquiçadas contornando a faixa mediana. Nas demais espécies, estas listras são pretas. Faixas marginais brancas são exclusivas de *G. iporanga*. Três espécies que apresentam as faixas marginais de cor preta homogênea, mas apenas *G. apua* possui também os bordos do corpo da mesma cor; as outras duas espécies, *G. ibiuna* e *G. piratininga*, ambas com bordos brancos, são indiferenciáveis pela morfologia externa.

Em *Geoplana cananeia*, *G. caraguatatuba*, *G. paranapiacaba* e *G. cambara*, as faixas marginais não têm cor homogênea, mas salpicadas de áreas esbranquiçadas. No entanto, em *G. cananeia*, as faixas são pretas; em *G. caraguatatuba* estão divididas em uma área interna preta e uma externa cinza; *G. paranapiacaba* e *G. cambara*, ambas com as faixas totalmente cinzas, não se diferenciam externamente.

Em relação à morfologia interna, *G. vaginuloides*, *G. apua* e *G. ibiuna* se diferenciam de todas as demais espécies do complexo porque apresentam projeção da papila peniana na região ântero-ventral do átrio masculino. *Geoplana ibiuna* se diferencia destas por apresentar os átrios masculino e feminino com aproximadamente o mesmo comprimento e também o epitélio de revestimento do átrio feminino é pregueado. O átrio feminino das outras duas espécies tem um comprimento equivalente a três vezes o do masculino; diferenciam-se entre si porque *G. vaginuloides* tem bulbo peniano mais desenvolvido ventralmente e *G. apua*, dorsalmente.

Entre as demais espécies, *G. cambara* e *G. iporanga*, o ducto ejaculatório é envolvido por uma espessa musculatura, mas na primeira espécie, os ductos eferentes se reúnem fora da papila peniana e, na segunda espécie, dentro dela.

Nas quatro espécies restantes, o ducto ejaculatório é envolvido por uma musculatura pouco desenvolvida, mas em *G. paranapiacaba* o ducto glandular comum é muito curto – menos de 1/10 do comprimento do átrio feminino. Em *G. cananeia*, a papila peniana é atravessada por uma densa massa de células secretoras dividida em feixes com aspecto de gomo em seções transversais da papila. Por último, *G. piratininga* apresenta uma papila peniana curta, enquanto que em *G. mogi* é longa.

A coincidência geral das cores do dorso nestas espécies e o extraordinário comprimento da papila peniana, devem ter levado os diferentes autores a reconhecerem estas diferenças como variações intra-específicas. Marcus (1951, 1952) chamou a atenção para as diferenças marcantes nas cores e sua distribuição

no dorso dos animais, e concedeu tanta importância – sob a perspectiva atual – ao órgão copulatório desproporcionalmente grande quando comparado ao de qualquer outra espécie de Geoplaninae que não atentou para diferenças nos detalhes deste e de outros órgãos do aparelho copulador. Também não ponderou a importância da coloração do dorso. Este último se pode justificar, dado que na época, já era conhecida a variação intra-específica das cores em outras espécies de planárias terrestres, como bem observou Marcus (1951) para *Cephaloflexa bergi* (Graff, 1899), por exemplo.

Identidade de *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844)

Darwin (1844) descreveu a espécie (originalmente com o nome *Planaria vaginuloides*) com as seguintes palavras:

“Alimentary orifice situated at two-thirds of the entire length of the body from the anterior extremity; width of orifice 1/60th of an inch: at the distance of 3/10ths of an inch posteriorly, lies the genital orifice, very plainly marked. Ocelli numerous, placed at regular interval on the anterior extremity; irregularly, round the edges of the foot. Anterior part of the body elongated, with the extremity much pointed and grooved on the under side: tail bluntly pointed; body convex, flattened on the top. Sides and foot coloured dirty “orpiment orange*”; above, with two stripes on each side of pale “primrose-yellow”, edged externally with black; on centre of the back a stripe of glossy black; this stripes become narrow towards both extremities. Length when fully extended 2 3/10ths of an inch; breadth in broadest part 13/100ths of an inch.

Hab. Under the bark of a decayed tree in the forest: Rio de Janeiro (June).”

Darwin (1844)

Espécimes adicionais com tal padrão de coloração dorsal não foram encontrados até o momento por nenhum outro autor. É verdade que várias outras espécies de planárias nunca foram reencontradas na localidade-tipo ou em outros locais prospectados várias vezes por Carbayo *et al.* (e.g., *Notogynaphallia parca*), o que se pode explicar pela relativa baixa densidade geográfica destes organismos (Carbayo *et al.*, 2016).

Em 2014 e 2015, nós também procuramos a espécie na localidade-tipo por tempo considerável (18 noites em 3 expedições de coleta) e não encontramos nenhum animal com as características que Darwin descreveu. Na verdade, a descrição de Darwin é ambígua no que diz respeito ao número e cor das listras dorsais. Este fato levou Marcus (1951) a concluir, por dedução, que existiria um par adicional de listras:

Da descrição deste [Darwin] em que os dizeres 'duas listras amarelas pálidas (primrose) de cada lado do meio preto' são claros (Darwin, 1844, p. 244), depreendemos a existência de uma linha lateral preta, de cada lado, apesar de ser mencionada apenas a externa.”

Marcus (1951, p. 76)

Esta ambiguidade pode ser desfeita nas notas que Darwin tomou durante a viagem a bordo do H. M. S. Beagle. No dia 17 de junho de 1832, Darwin registrou no seu caderno de notas:

“Colours: back with glossy black stripe; on each side of this a primrose white one edged externally with black; these stripes reach to extremities, & become uniformly narrower.— sides & foot dirty "orpiment orange".— from the elegance of shape & great beauty of colours, the animal had a very striking appearance.—”

(in Keynes, 2000, p. 47).

Destas anotações fica evidente que não existe esse par adicional de listras. E é precisamente com este padrão de coloração que achamos, na localidade-tipo, um espécime, F6387. A razão que nos leva aqui a considerar coespecíficos este espécime e o de Darwin são a plena compatibilidade entre ambos quanto ao aspecto externo (i.e., cor, forma e tamanho) e a que não se conserva o material original. A comparação da morfologia interna, que poderia confirmar a coespecificidade, não é possível pois não existe registro deste animal no Museu de História Natural de Londres, onde está depositado o material coletado por Darwin (REF) (H. Jones, pers. comm.).

Complexo de espécies de *Geoplana chita*

Com o emprego dos mesmos critérios para delimitação das espécies anteriormente mencionadas, reconhecemos *Geoplana chita* como um complexo composto por duas espécies: *Geoplana chita* Froehlich, 1956 e *Geoplana boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov., a primeira do estado do Paraná e a segunda do estado de São Paulo. Exemplares de ambas espécies foram utilizados por Froehlich (1956) na descrição original da espécie.

O colorido dorsal coincidente de *G. chita* e *G. boraceia* torna-as indiferenciáveis pela morfologia externa. No entanto, características internas separam estas espécies. *Geoplana chita* possui um denso bulbo peniano, um ducto ejaculatório revestido por um epitélio baixo, envolvido por uma espessa musculatura (até 5 vezes o diâmetro externo do ducto) e uma papila peniana cilíndrica cujo ápice se afila abruptamente. Em *G. boraceia*, o bulbo peniano é menos denso, o ducto ejaculatório é revestido por um epitélio alto envolvido por uma fina musculatura (1/5 do diâmetro externo deste) e a parte distal da papila peniana, mais curta que a da espécie anterior, é mais arredondada.

Estas diferenças morfológicas do aparelho copulador existentes entre indivíduos das duas localidades foram notadas por Froehlich (1956b) na descrição da espécie, mas ele as atribuiu a efeitos da contração do espécime de *G. boraceia*, causada pela fixação do exemplar a frio.

Distinção e identidade de *Geoplana pulchella*

Esta espécie se diferencia muito facilmente das outras espécies de *Geoplana* por apresentar dorso coberto por pigmento cor de laranja no primeiro terço do corpo e uma listra mediana cinza clara margeada por faixas marginais pretas nos outros dois terços, além de numerosas manchas esbranquiçadas sobre todo o corpo. Internamente, se distingue de todas elas por apresentar esta combinação de características: bulbo peniano denso, envolvendo todo o átrio masculino; ducto ejaculatório revestido por epitélio cúbico, envolvido por musculatura bem desenvolvida; átrios masculino e feminino com aproximadamente o mesmo comprimento; glândulas secretoras acumuladas entre o epitélio de revestimento do canal genital feminino e

sua musculatura.

A espécie foi descrita originalmente em poucas linhas:

“12. *Geoplana pulchella*. The anterior third of the body above brownish tile-red. With oval whitish spots; beneath grey, with a whitish band in the middle. Eye-spots considerably approximated near the anterior margin; their series uninterrupted on the anterior margin, missing on the posterior two-thirds of the body. About an inch long, by fully 1 line in breadth, not very much attenuated anteriorly. Only once observed”.

Schultze & Müller (1857)

Froehlich (1955b) complementou a descrição do aspecto externo a partir de um espécime imaturo da localidade-tipo (Blumenau, SC). Ele notou pequenas diferenças quanto à extensão da região avermelhada, que relacionou ao diferente grau de desenvolvimento, e distribuição dos olhos, e concluiu “Contudo, o padrão invulgar do colorido da *G. pulchella* permite-nos classificar com bastante segurança nosso exemplar” (Froehlich, 1955b, p. 190). Como não há registro de depósito do material de Schultze & Müller, tampouco há como confirmar a coespecificidade, o que se aplica aos nossos três exemplares aqui descritos. No entanto, pela força do uso do nome associado a esse particular padrão de coloração, seguimos o critério de Froehlich.

Emenda da diagnose de *Geoplana*

Em vista do novo conhecimento acrescido com este trabalho, propomos emendar (sublinhado) a diagnose de *Geoplana* como segue:

Geoplaninae with medium-sized body, 30–100 mm in length; body slender, with nearly parallel margins; dorsum strongly convex; eyes monolobulated, cone shaped in the anterior region of the body; parenchymatic longitudinal muscle fibres organized as a muscle tube around the intestine, or as two layers, one supra-, another subintestinal; pharynx cylindrical; prostatic vesicle intrabulbar, narrow; thick well-delimited male genital muscle coat and; penis papilla protrusible, cylindrical, long or very long, extending even along the entire female genital atrium; muscle fibres of penis papilla and ejaculatory duct densely packed in a thick layer; male atrium not folded; ascending portion of the ovovitelline ducts lateral to female atrium, joining each other above it; genital canal dorso-anteriorly flexed, arising from the posterior region of the female atrium; female atrium long, not folded.

Emenda da diagnose de Geoplaninae

Uma das características mais marcantes de *Geoplana* é a existência de musculatura parequímica longitudinal. Esta musculatura também é conhecida das duas espécies de *Imbira* (Carbayo et al., 2013). Em vista desta característica, propomos uma emenda (sublinhada) à diagnose de Geoplaninae, como segue:

Broad ciliated creeping sole covering most of ventral surface (or sparse body cilia as in the genus *Geobia*); mouth just behind midbody (since in *Polycladus* mouth is in posterior fourth); dorsal testes; subepithelial or cutaneous longitudinal musculature, well developed, arranged in bundles; longitudinal parenchymal muscle generally absent.

Tab. 5. Comparação diagnóstica das espécies de *Geoplana*.

AF, átrio feminino; CO: ducto ovivotelino comum; EJ, ducto ejaculatório; PB, bulbo peniano; PP, papila peniana; SD: duto eferente; -, não se aplica.

Caráter	<i>G. vaginuloides</i>	<i>G. apua</i>	<i>G. mogi</i>	<i>G. piratininga</i>	<i>G. ibiuna</i>	<i>G. cananeia</i>	<i>G. paranapia caba</i>	<i>G. cambara</i>	<i>G. iporanga</i>	<i>G. caraguatatu</i>	<i>G. pulchella</i>	<i>G. chita</i>	<i>G. boraceia</i>
Cor da listra mediana dorsal	Preta	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Alaranjada	Cinza	Amarela	Amarela
Largura da linha mediana dorsal	2/7	1/3	1/3	Variável	Variável	1/4	1/5	1/3	1/5	1/3	1/3	1/3	1/6
Cor de contorno da listra mediana	Amarela clara	Amarela clara	Esbranquiçada	Preta	Preta	Preta	Preta	Preta	Preta	Preta	-	-	-
Cor das faixas laterais	Alaranjada	Preta	Cinza	Preta	Preta	Preta	Cinza	Cinza	Branca	Cinza	Preta	Preta	Preta
Salpicos claros	-	-	Apenas nas faixas laterais	-	-	Apenas nas faixas laterais	Apenas nas faixas laterais	Apenas nas faixas laterais	-	Apenas nas faixas laterais	Sobre todo o dorso	Sobre todo o dorso	Sobre todo o dorso
Cor dos bordos	Alaranjada	Alaranjada	Preta	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Preta	Preta	Preta	Esbranquiçada	Preta	Alaranjada no 1/3 anterior do corpo; cinza no resto	Preta	Preta
Cor do ventre	Alaranjada	Alaranjada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Esbranquiçada	Cinza	Esbranquiçada	Esbranquiçada
Posição da boca em relação a ponta anterior do corpo (%)	50	55	55	54	50-58	55	61	50	52	55	53	65	56

Caráter	<i>G. vaginuloides</i>	<i>G. apua</i>	<i>G. mogi</i>	<i>G. piratininga</i>	<i>G. ibiuna</i>	<i>G. cananeia</i>	<i>G. paranapia caba</i>	<i>G. cambara</i>	<i>G. iporanga</i>	<i>G. caraguatatuba</i>	<i>G. pulchella</i>	<i>G. chita</i>	<i>G. boraceia</i>
Fibras musculares longitudinais subjacentes ao epitélio interno da faringe	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Encontro dos SD	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP	Fora da PP
Região de maior desenvolvimento do PB	Ventral	Dorsal	Dorsal	Ventral	Dorsal e ventral	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior e dorsal	Anterior e dorsal	Anterior	Dorsal
Projeção da PP	Ântero-ventral	Ântero-ventral	Anterior	Anterior	Ântero-ventral	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior	Anterior
Relação espessura musculatura : diâmetro externo do EJ	2,5	2,5	1/4	1/4	1	1/5	1/3	5	5	1/4		5	1/5
Relação diâmetro : comprimento da PP	1:15	1:18	1:10	1:5	1:6-7	1:9-12	1:10,5	1:7	1:6	1:7	1:7-9	1:11	1:8
Epitélio do AF na porção posterior	Liso e de aparência estratificada	Liso e Baixo	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Pregueado e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada	Liso e de aparência estratificada
Relação comprimento CO : AF	1/5	1/5	1/3	1/3	1/5	1/10	1/2	1/3	1/3	1/6	1/2	1/4	1/5

CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DE *GEOPLANA*

Terminologia utilizada nesta chave:

O **colorido do corpo** refere-se ao padrão cromático observado em espécimes apenas adultos, na região mediana do corpo (proximidades da faringe). **Faixas laterais:** faixas mais externas, que podem margear o corpo ou serem contornadas por uma fina linha de outra cor. **Bulbo peniano estendido anteriormente:** é aquele que projetado anteriormente à inserção da papila peniana o equivalente a sua altura.

- 1 • Morfologia externa conhecida: 2.
 - Morfologia externa desconhecida: 11.
- 2 • Listra mediana dorsal preta: *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844) – faixa mediana preta, margeada por uma listra branca amarelada, contornada por uma estria preta, externamente orlada por uma faixa marginal ocre-alaranjada.
 - Listra mediana dorsal de outra cor: 3.
- 3 • Listra mediana dorsal amarela a avermelhada: 4.
 - Listra mediana dorsal cinza: *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857 – o primeiro terço do corpo é coberto por pigmento alaranjado, nos dois terços restantes há uma faixa mediana de cor cinza clara, margeada de cada lado por uma faixa marginal preta; sobre todo o corpo distribuem-se zonas circulares esbranquiçadas.
- 4 • Listra mediana margeada de preto: 5.
 - Listra mediana orlada de branco: *Geoplana mogi* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1951) – faixa mediana alaranjada contornada por listras esbranquiçadas, externamente contornadas por estrias pretas, orladas por faixas cinzas, sobre as quais distribuem-se pintas circulares esbranquiçadas.
- 5 • Com manchas brancas dorsais: 6.
 - Sem manchas brancas dorsais: 9.
- 6 • Manchas brancas restritas as faixas laterais: 7.
 - Manchas brancas por todo o dorso : *Geoplana chita* Froehlich, 1956 e *Geoplana boraceia* Almeida & Carbayo nom. nov. (= *Geoplana chita* Froehlich, 1956 (em parte)) – dorso com listra mediana de cor amarelo mostarda, margeada, de cada lado por uma faixa lateral preta. Manchas circulares esbranquiçadas salpicam todo o dorso; os bordos são preto.
- 7 • Faixas laterais pretas: *Geoplana cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n. – faixa mediana ocre-alaranjada, contornada de cada lado por uma estria preta, margeada por uma listra esbranquiçada, externamente margeada por uma faixa marginal preta sobre a qual distribuem-se machas circulares esbranquiçadas; os bordos são pretos.
 - Faixas laterais de outra cor: 8.

- 8 • Faixas laterais cinzas: *Geoplana cambara* Almeida & Carbayo, sp. n. e *Geoplana paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n. – faixa mediana ocre-alaranjada, contornada por uma estria preta, orlada por uma listra branca, externamente margeada por uma listra preta; as faixas marginais são cinzas com zonas circulares esbranquiçadas; os bordos são pretos.
- Faixas laterais divididas em faixas preta e cinza: *Geoplana caragatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n. – listra mediana ocre-alaranjada, contornada, de cada lado, por uma estria preta, orlada por uma listra esbranquiçada, também contornada por uma estria preta; as faixas laterais são pretas na metade interna e cinza na externa; os bordos são pretos.
- 9 • Faixas laterais inteiramente pretas: 10.
- Faixas laterais brancas: *Geoplana iporanga* Almeida & Carbayo, sp. n. – listra mediana alaranjada, margeada por listras pretas, externamente orladas por um par de faixas brancas interrompidas por uma estria preta.
- 10 • Bordos do corpo pretos: *Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Riester, 1938 (em parte)) – faixa mediana ocre-alaranjada contornada por uma estria preta, a qual é contornada por uma listra amarelada esverdeada; as faixas marginais são pretas.
- Bordos do corpo brancos: *Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1952) e *Geoplana ibiuna* Almeida & Carbayo, sp. n. – faixa mediana ocre-alaranjada, contornada por uma estria preta, orlada por uma listra branca; as faixas laterais são pretas e os bordos são brancos.
- 11 • Papila peniana projetada de região ântero-ventral do átrio masculino: 12.
- Papila peniana projetada de região anterior: 14.
- 12 • Átrio feminino revestido por epitélio liso: 13.
- Átrio feminino revestido por epitélio pregueado: *Geoplana ibiuna* Almeida & Carbayo, sp. n. – a papila peniana é 6-7 vezes mais longa que seu próprio diâmetro. A musculatura que envolve o ducto ejaculatório, em espessura, equivale ao seu diâmetro. – vide 10.
- 13 • Bulbo peniano mais desenvolvido ventralmente: *Geoplana vaginuloides* (Darwin, 1844) – musculatura do ducto ejaculatório com espessura equivalente a cerca de 2,5 vezes o diâmetro externo do ducto. Papila peniana 15 vezes mais longa que seu próprio diâmetro. – vide 2.
- Bulbo peniano mais desenvolvido dorsalmente: *Geoplana apua* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Riester, 1938 (em parte)) – musculatura do ducto ejaculatório com espessura equivalente a cerca de 2,5 vezes o diâmetro externo do ducto. Papila peniana 18 vezes mais longa que seu próprio diâmetro. – vide 10.
- 14 • Musculatura do ducto ejaculatório mais espessa que seu diâmetro externo: 15.
- Musculatura do ducto ejaculatório menos espessa que seu diâmetro externo: 17.
- 15 • Encontro dos ductos eferentes dentro da papila peniana: *Geoplana iporanga* Almeida & Carbayo, sp. n. – os ductos eferentes unem-se dentro da papila peniana. uma massa de secreção cianófila acumula-se na musculatura dorsal da papila peniana e sobre o epitélio de revestimento da porção posterior do átrio feminino. – vide 9.
- Encontro dos ductos eferentes fora da papila peniana: 16.
- 16 • Papila peniana dilatada na parte distal: *Geoplana chita* Froehlich, 1956 – o bulbo peniano é denso, bem desenvolvido anteriormente e envolve todo o átrio masculino. A papila mede 7 vezes o próprio diâmetro. Uma densa massa de secreção cianófila se acumula na musculatura da papila peniana e sobre o epitélio de revestimento do átrio feminino. – vide 6.

- Papila peniana de diâmetro uniforme em quase todo o comprimento: *Geoplana pulchella* Schultze & Müller, 1857 e *Geoplana cambara* Almeida & Carbayo, sp. n. – o bulbo peniano é desenvolvido anteriormente e em torno do átrio masculino. A papila peniana mede cerca de 7-9 vezes o próprio diâmetro. Uma densa massa de secreção cianófila se acumula na musculatura da papila peniana e sobre o epitélio de revestimento do átrio feminino. O ducto glandular comum com metade do comprimento do átrio feminino. – vide 3 e 8.
- 17 • Ducto glandular comum menor que 1/5 do comprimento do átrio feminino: 18.
- Ducto glandular comum com cerca da metade do comprimento do átrio feminino: 19.
- 18 • Papila peniana com massa de secreção em forma de gomos: *Geoplana cananeia* Almeida & Carbayo, sp. n. – o bulbo peniano é denso, bem desenvolvido e localizado anteriormente. O ápice da papila peniana é atravessado por secreção que forma 9-12 densos gomos. O ducto glandular comum é curto, com cerca de 7,5% do comprimento do átrio feminino. – vide 7.
- Papila peniana sem gomos de secreção: *Geoplana caraguatatuba* Almeida & Carbayo, sp. n. – a papila peniana tem comprimento de cerca de 6 vezes o próprio diâmetro. Massa de secreção cianófila se acumula na musculatura dorsal da papila peniana. O átrio feminino possui 1,5 vez o comprimento do átrio masculino. – vide 8.
- 19 • Bulbo peniano estendido anteriormente: *Geoplana paranapiacaba* Almeida & Carbayo, sp. n. – o bulbo peniano envolve todo átrio masculino. A papila peniana é cerca de 10,5 vezes o seu diâmetro. – vide 8.
- Bulbo peniano não estendido anteriormente: 20.
- 20 • Papila peniana com cerca de 5 vezes o próprio diâmetro: *Geoplana piratininga* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1952) – o bulbo peniano é denso, e bem desenvolvido, pelo menos ventralmente. Na musculatura dorsal da papila peniana acumula-se densa secreção cianófila. O átrio feminino tem o dobro do comprimento do átrio masculino. – vide 10.
- Papila peniana com cerca de 10 vezes o próprio diâmetro: *Geoplana mogi* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana vaginuloides* sensu Marcus, 1951) e *Geoplana boraceia* Almeida & Carbayo, nom. nov. (= *Geoplana chita* Froehlich, 1956 (em parte)). – vide 4 e 6.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho de revisão indicam que o número de espécies de *Geoplana* era subestimado. O caso mais notável é representado pelo complexo de dez espécies de *Geoplana* cf. *vaginuloides*, agora resolvido. O singular órgão copulador masculino, muito alongado, existente nas espécies do complexo, aliado às pequenas variações no padrão cromático do dorso, levou outros autores a interpretar essas características como variabilidade intraespecífica. Constatamos aqui que existe pouca variabilidade específica, com exceção de *G. ibiuna* sp. n., cujo aspecto externo pode apresentar pequenas mudanças quanto à largura das faixas dorsais. Notamos também que certas características de morfologia interna, antes ignoradas, tais como o desenvolvimento muscular do bulbo peniano, do ducto ejaculatório e da papila peniana, bem como o tipo de epitélio de revestimento do ducto ejaculatório, a distribuição de secreções associadas à papila peniana, entre outras, são muito importantes na identificação das espécies, as quais propomos como novas características diagnósticas.

Os resultados das análises filogenéticas mostram que os dados de sequências nucleotídicas do gene mitocondrial da citocromo oxidase I recuperam clados compostos por terminais morfologicamente congruentes. Em concordância com outros autores, o uso integrado destas duas fontes de dados, *i.e.*, DNA e morfologia é uma estratégia eficaz para delimitar espécies.

A redescrição e delimitação da espécie-tipo do gênero, e a emenda da diagnose de *Geoplana* e de Geoplaninae, conferiram estabilidade nomenclatural a estes dois táxons.

Além das 13 espécies descritas neste trabalho, desvendamos mais duas espécies novas, não descritas, e duas espécies candidatas. As expedições de coleta que temos feito em áreas de mata Atlântica, também tem proporcionado pelo menos mais três espécies desconhecidas pela ciência, que não foram mencionadas neste estudo e que firmam, mais uma vez, a mata Atlântica brasileira como guardiã de imensa riqueza biológica.

REFERÊNCIAS

- Álvarez-Presas, M.; Amaral, S.V.; Carbayo, F.; Leal-Zanchet, A. M. & Marta Riutort. 2015. Focus on the details: morphological evidence supports new cryptic land flatworm (Platyhelminthes) species revealed with molecules. *Organism Diversity and Evolution*, 15(2): 379-403.
- Antunes, M. B. 2008. Influência de variáveis ecológicas na ocorrência de planárias terrestres (Platyhelminthes: Tricladida: Terricola) em áreas de floresta ombrófila mista. 33 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul.
- Baguña, J.; Carranza, S.; Paps, J.; Ruiz-Trillo, I. & Riutort, M., 2001. Molecular taxonomy and phylogeny of Tricladida. In: Littlewood, D.T.J., Bray, R.D. (Eds.), *The Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor & Francis, UK, CL, pp. 49-56.
- Beauchamp, P. de. 1912. Planaires terrestres des broméliacées de Costa Rica recueillies par M. C. Picado. *Arch. Zool. exp. Gén.*, 10(1): 1-10.
- Beauchamp, P. de. 1939. Rotifères et turbellaries. *Trans. Linn. Soc. London*, 1(5): 51-79.
- Bikandi, J.; San Millán an, R.; Rementeria, A. & Garaizar, J. 2004. In silico analysis of complete bacterial genomes: PCR, AFLP-PCR, and endonuclease restriction. *Bioinformatics*, 20, 798–799.
- Bremer, K. 1994. Branch support and tree stability. *Cladistics* 10: 295-304.
- Carbayo, F. & Leal-Zanchet, A.M. 2003. Two new genera of geoplaninid land planarians (Platyhelminthes, Tricladida, Terricola) of Brazil in the light of cephalic specialisations. *Invertebrate Systematics*, 17(3): 449-468.
- Carbayo, F. 2005. Procedimentos de campo e laboratório para a caracterização das planárias terrestres neotropicais (Platyhelminthes: Tricladida). *Caderno La Salle XI*. 2 (1): 131-144.
- Carbayo, F. & Froehlich, E.M. 2008. Estado do conhecimento dos macrotubelários (Platyhelminthes) do Brasil. *Biota Neotrop.* 8(4): 177-197.
- Carbayo, F.; Álvarez-Presas, M.; Olivares, C. T.; Marques, F. P. L.; Froehlich, E. M. & Riutort, M. 2013. Molecular phylogeny of Geoplaninae (Platyhelminthes) challenges current classification: proposal of taxonomic actions. *Zoologica Scripta* 42: 508-528.
- Carbayo, F.; Francoy, T. M. & Giribet, G. 2016. Non-destructive imaging to describe a new species of Obama land planarian (Platyhelminthes, Tricladida). *Zoologica Scripta* DOI: 10.1111/zsc.12175
- Carbayo, F. & Leal-Zanchet, A. M. 2001. A new species of terrestrial planarian (Platyhelminthes: Tricladida: Terricola) from South Brazil. *Braz. J. Biol.* 62 (3): 437-447.
- Carbayo, F.; Leal-Zanchet, A. M.; Froehlich, E. M. & Amato, S. B. 2009. Turbelários (Platyhelminthes). In Estado da arte e perspectivas para a zoologia no Brasil (R. Rocha & W. Boeger, org.). *Ed. UFPR*, Curitiba, 49-64.
- Carbayo, F. & Lenihan, J. W. 2016. Micro-computed tomography scan and virtual histological slide data for the land planarian Obama otavioi (Platyhelminthes). *GigaScience* 5(13): 1-6. DOI 10.1186/s13742-016-0119-4
- Carbayo, F.; Álvarez-Presas, M.; Jones, H. D. & Riutort, M. 2016. The true identity of Obama (Platyhelminthes: Geoplanidae) flatworm spreading across Europe. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 177(1): 5-28.
- Carranza, S.; Littlewood, D. T. J.; Clough, K. A.; Ruiz, I.; Baguña J. & Riutort, M., 1998a. A robust molecular phylogeny of the Tricladida (Platyhelminthes, Seriata) and a reassessment of morphological synapomorphies. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 631-640.
- Carranza, S.; Ruiz-Trillo, I.; Littlewood, D. T. J.; Riutort, M. & Baguña, J., 1998b. A reappraisal of the phylogenetic and taxonomic position of land planarians (Platyhelminthes, Turbellaria, Tricladida) inferred from 18S rDNA sequences. *Pedobiologia* 42: 433-440.
- Cason, J. E. 1950. A rapid one-step Mallory-Heidenhain stain for connective tissue. *Stain Technology* 25(4): 225-226.
- CINZ (Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica), 1999. Código internacional de nomenclatura zoológica. Sociedad de Amigos del Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. 4a ed.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. Em: *Current Ornithology*. Johnston, R. F. (ed.). Kansas: Springer US, pp. 159-187.
- Darwin, C. 1844. Brief descriptions of several terrestrial planariae, and of some remarkable marine species, with an account of their habits. *Quart. Jour. Micros. Soc.* 91(2): 209-214.

- de Queiroz, K. Species Concepts and Species Delimitation. 2007. *Syst. Biol.* 56(6): 879-886. doi: 10.1080/10635150701701083.
- Du Bois-Reymond Marcus, E. 1951. Contributions to the natural history of Brazilian Turbellaria. *Comun. Zool. Mus. Hist. Nat. Montevideo* 3(63): 1-25.
- Ewing, B. & P. Green. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using Phred II. Error probabilities. *Genome Research* 8: 186-194.
- Ewing, B.; Hillier, L.; Wendl, M. C. & Green, P. (1998). Base-calling of automated sequencer traces using Phred I. Accuracy assessment. *Genome Research*, 8: 175-185. doi: 10.1101/gr.8.3.175.
- Farris, J. 1982. Outgroups and parsimony. *Systematic Zoology* 31: 328-334.
- Froehlich, C.G. 1955a. Sobre morfologia e taxonomia das Geoplanidae. *Bol. Fac. Fil. Ci. Letras, Univ. São Paulo, Zool.* 19: 195-279.
- Froehlich, C.G. 1955b. Notas sobre *Geoplanas* brasileiras. *Pap. Avul. Dep. Zool.* 12(7): 189-198.
- Froehlich, C.G. 1956a. Tricladida Terricola das regiões de Teresópolis e Ubatuba. *Pap. Avul. Dep. Zool.* 12(16): 313-344.
- Froehlich, C.G. 1956b. Planárias terrestres do Paraná. *Dusenía* 7(4):173-196.
- Froehlich, C. G. 1966. Notas sobre a ecologia de planárias terrestres. In *Progresos en biología del suelo*. Montevideo, Uruguay.
- Froehlich, C. G. 1967. A contribution on the zoogeography of neotropical land planarians. *Acta Zool. Lilloana*, 23: 153-162.
- Froehlich, C. G. 1958. On a collection of Brazilian land planarians. *Bol. Fac. Fil. Ci. Letras Univ. São Paulo, Zool.*, 21: 93-121.
- Froehlich, C.G. 1959. On geoplanids from Brazil. *Bol. Fac. Fil. Ci. Letras, Univ. São Paulo, Zool.*, 22: 201-265.
- Froehlich, E. M. 1955. Chave para a classificação das *Geoplanas* brasileiras. *Pap. Av. Dep. Zool.*, 12 (8): 201-214.
- Froelich, E.M. & Froehlich, C.G. 1972. Land planarians from the Amazonian Region. *Pap. Avul. Dep. Zool.*, 26(2): 29-45.
- Froehlich, E.M. 1978. On a collection of chilean landplanarians. *Bol. Zool. Univ. São Paulo*, 3: 7-80.
- Goloboff, P. A. 1999. Analyzing large data sets in reasonable times: solutions for composite optima. *Cladistic*, 15: 415-428.
- Goloboff, P. A.; Farris, J. S. & Nixon, K. C. 2008a. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24: 1-13.
- Goloboff, P. A.; Farris, J. S. & Nixon, K. C. 2008b. TNT (Tree analysis using new technology) (BETA) ver. 1.1. Published by the authors, Tucumán, Argentina.
- Goodman, M.; C. B. Olson; J. E. Beeber & J. Czelusniak. 1982. New perspectives in the molecular biological analysis of mammalian phylogeny. *Acta Zoologica Fennica*, 169: 19-35.
- Gordon, D.; C. Abajian & P. Green. 1998. Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Research*, 8: 195-202.
- Gordon, D., Desmarais, C. & Green, P. (2001). Automated finish-ing with autofinish. *Genome Research*, 11: 614-625.
- Graff, L. von. 1899. Monographie der Turbellarien II. Tricladida Terricola. Engelmann, Leipzig, 574 p.
- Grant, T. & A. G. Kluge. 2008. Clade support measures and their adequacy. *Cladistics*, 24: 1051-1064.
- Grau, J. H.; Sluys, R.; Froehlich, E. M. & Carbayo, F. 2012. Reflections on the genus *Amaga* Ogren and Kawakatsu 1990, and description of a new genus of land planarian (Platyhelminthes: Tricladida: Geoplanidae). *J. Nat. Hist.*, 46: 1529-1546.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hyman, L. H. 1938. Land planarians from Yucatan. In: A.S. PEARSE (ed.), *Fauna of the caves of Yucatan*. Washington, *Carnegie Inst.*, p. 23-32.
- Hyman, L. H. 1939. New species of flatworms from North, Central, and South America. *Proc. U.S. Nat. Mus.*, 86(3055): 419-439.
- Hyman, L. H. 1941. Terrestrial flatworms of the Canal Zone, Panama. *Am. Mus. Novit.*, 1105: 1-11.
- Hyman, L. H. 1955. Miscellaneous marine and terrestrial flatworms from South America. *Am. Mus. Novitates.*, 1742: 1-33.
- Hyman, L. H. 1962. Some land planarians from Caribbean countries. *Am. Mus. Novit.*, 2110: 1-25.

- Katoh, K.; Misawa, K.; Kuma, K. & Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 33: 511-518.
- Keynes, R. (ed.). 2000. Charles Darwin's zoology notes & Specimen lists from H. M. S. Beagle. Cambridge University Press. Cambridge.
- Leal-Zanchet, A. M. & Carbayo, F. 2000. Fauna de planárias terrestres (Platyhelminthes, Tricladida, Terricola) da Floresta Nacional de São Francisco de Paula, RS, Brasil: uma análise preliminar. *Acta Biol. Leopoldensia.*, 22(1): 19-25.
- Leal-Zanchet, A. M. & Souza, S. A. 2003. Redescricao de *Choeradoplana iheringi* Graff (Platyhelminthes, Tricladida, Terricola). *Rev. Bras. de Zool.* 20(3): 523-530.
- Lemos, V. S.; Cauduro, G. P.; Valiati, V. H. & Leal-Zanchet, A. M. 2014. Phylogenetic relationships within the flatworm genus *Choeradoplana* Graff (Platyhelminthes : Tricladida) inferred from molecular data with the description of two new sympatric species from Araucaria moist forests. *Invert Syst*, 28: 605-627.
- Marcus, E. 1951. Turbellaria brasileiros. *Bol. Fac. Fil. Ci. Letras, Univ. São Paulo, Zool.*, 16: 1-217.
- Marcus, E. 1952. Turbellaria brasileiros (10). *Bol. Fac. Fil. Ci. Letras da Universidade de São Paulo, Zool.*, 17: 5-187.
- Meireles, C. M.; Czelusniak, J.; Schneider, M. P. C; Mubiz, J. A, P, C; Brigido, M. C.; Ferreira, H. S & Goodman, M. 1999. Molecular phylogeny of ateline New World monkeys (Platyrrhini, Atelinae) based on γ -Globin gene sequences: evidence that *Brachyteles* is the sister group of *Lagothrix*. *Mol. Phylogenet.* 12: 10-30.
- Nixon, K. & J. Carpenter. 1993. On Outgroups. *Cladistics*, 9: 413-426.
- Ogren, R. E. & Sluys, R. 1998. Selected characters of the copulatory organs in the land planarian family Bipaliidae and their taxonomic significance (Tricladida: Terricola). *Hydrobiologia* 383: 77-82.
- Ogren, R. E. & Kawakatsu, M. 1990. Index to the species of the family Geoplanidae (Turbellaria, Tricladida, Terricola) Part I: Geoplaninae. *Bull. Fuji Women's College, Ser. I*, 28: 79-166.
- Posada, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.*, 25(7): 1253-6. doi: 10.1093/molbev/msn083.
- Riester, A. 1938. Beiträge zur Geoplaniden-Fauna Brasiliens. *Abhandl. Senkenberg. naturf. Ges.* 41: 1-88.
- Rossi, I.; Amaral, S. V.; Ribeiro, G. G.; Cauduro, G. P.; Fick, I.; Valiati, V. H. & Leal-Zanchet, A. M. 2015. Two new Geoplaninae species (Platyhelminthes: Continenticola) from Southern Brazil based on an integrative taxonomic approach. *Journal of Natural History*, 50: 787-815. <http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2015.1084057>
- Schirch, P. F. 1929. Sobre as planárias terrestres do Brasil. *Bol. Mus. Nat. Rio de Janeiro*. 5: 26-38.
- Schultze, M. & Müller, F. 1857. Beiträge zur Kenntnis der Landplanarien. *Abh. senkenb. naturf. Ges.*, 4: 19-38.
- Seitenfus, A. L. R. & Leal-Zanchet, A. M. 2004. Uma introdução à taxonomia de planárias terrestres (Platyhelminthes, Tricladida, Terricola). *Acta Biol. Leopoldensia.*, 26(2): 187-202.
- Sluys R.; Solà E.; Gritzalis K.; Vila-Farré M.; Mateos E. & Riutort M. 2013. Integrative delineation of species of Mediterranean freshwater planarians (Platyhelminthes, Tricladida, DugesIIDae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 157(3): 523-547. DOI: 10.1111/zoj.12077
- Stimpson, W. 1857. Prodomus descriptionis animalium evertibratorum quae in Expeditione ad Oceanum, Pacificum Septentrionalem a Republica Federata missa, Johanne Rodgers Duce, observavit et descripsit. Pars 1. Turbellaria Dendrocoela. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 9: 19-31.
- Swofford D. L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tibiriçá L. C. 1984. Dicionário Tupi-Português. São Paulo. Traço Editora e Distribuidora.
- Vieites, D. R.; Wollenberg, K. C.; Andreone, F.; Köhler, J.; Glaw, F. & Vences, M. 2009. Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 106: 8267-8272.
- Zwickl, D. J. 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Ph.D. dissertation, The University of Texas at Austin. Available via www.bio.utexas.edu/faculty/antisense/garli/Garli.html.

Apêndice 1

Parâmetros utilizados para a aquisição de imagens por microtomografia computadorizada e reconstrução do aparelho copulador do espécime F6026

[System]

Scanner=SkyScan1173
Instrument S/N=11F05024
Hardware version=A
Software=Version 1. 6 (build 13)
Home directory=C:\Skyscan\SkyScan1173
Source Type=Hamamatsu 130/300
Camera=FlatPanel Sensor
Camera Pixel Size (um)=50.0
CameraXYRatio=1.0030
Incl.in lifting (um/mm)=0.6650

[Acquisition]

Data directory=D:\Fernando\F6026_chita_CopApp_I
Filename Prefix=F6026_chita_CopApp_I
Number of Files= 1600
Source Voltage (kV)= 73
Source Current (uA)= 104
Number of Rows= 2240
Number of Columns= 2240
Image crop origin X= 0
Image crop origin Y=0
Camera binning=1x1
Image Rotation=0.0700
Gantry direction=CC
Number of connected scans=1
Image Pixel Size (um)= 5.69
Object to Source (mm)=41.795
Camera to Source (mm)=364.000
Vertical Object Position (mm)=21.000
Optical Axis (line)=1110
Filter=No Filter
Image Format=TIFF
Depth (bits)=16
Screen LUT=0
Exposure (ms)= 1000
Rotation Step (deg)=0.150
Frame Averaging=ON (12)
Random Movement=OFF (10)
Use 360 Rotation=NO
Partial width=100
FF updating interval=146
Geometrical Correction=OFF
Camera Offset=OFF
Median Filtering=OFF
Flat Field Correction=OFF
Rotation Direction=CC
Scanning Trajectory=ROUND
Type Of Motion=STEP AND SHOOT
Study Date and Time=Mar 25, 2015 12:18:21
Scan duration=05:26:12

[Reconstruction]

Reconstruction Program=NRecon
Program Version=Version: 1.6.9.18

Program Home Directory=C:\Program Files\NreconServerLocal64
Reconstruction engine=NReconServer
Engine version=Version: 1.6.9
Reconstruction from batch=No
Postalignment=15.50
Reconstruction servers= MICROCT
Reconstruction mode=Standard
Dataset Origin=SkyScan1173
Dataset Prefix=F6026_chita_CopApp_I
Dataset Directory=C:\Users\IZmicroCT\Desktop\Fernando\09-F6026_chita_CopApp_I
Output Directory=C:\Users\IZmicroCT\Desktop\Fernando\09-F6026_chita_CopApp_I\F6026_chita_CopApp_I_REC
Time and Date=Mar 25, 2015 14:06:04
First Section=167
Last Section=2068
Reconstruction duration per slice (seconds)=6.549947
Total reconstruction time (1902 slices) in seconds=12458.000000
Section to Section Step=1
Sections Count=1902
Result File Type=BMP
Result File Header Length (bytes)=1134
Result Image Width (pixels)=2240
Result Image Height (pixels)=2240
Pixel Size (um)=5.68615
Reconstruction Angular Range (deg)=240.00
Use 180+=OFF
Angular Step (deg)=0.1500
Smoothing=0
Ring Artifact Correction=13
Draw Scales=OFF
Object Bigger than FOV=OFF
Reconstruction from ROI=OFF
Filter cutoff relative to Nyquist frequency=100
Filter type=0
Filter type meaning(1)=0: Hamming (Ramp in case of optical scanner); 1: Hann; 2: Ramp; 3: Almost Ramp;
Filter type meaning(2)=11: Cosine; 12: Shepp-Logan; [100,200]: Generalized Hamming, alpha=(iFilter-100)/100
Undersampling factor=1
Threshold for defect pixel mask (%)=0
Beam Hardening Correction (%)=68
CS Static Rotation (deg)=0.00
Minimum for CS to Image Conversion=0.000905
Maximum for CS to Image Conversion=0.026320
HU Calibration=ON
HU Calibration scale=65535
BMP LUT=0
Cone-beam Angle Horiz.(deg)=17.327532
Cone-beam Angle Vert.(deg)=17.327532
[File name convention]
Filename Index Length=4
Filename Prefix=F6026_chita_CopApp_I_rec

Parâmetros utilizados para a aquisição de imagens por microtomografia computadorizada e reconstrução do aparelho copulador do espécime F6727

[System]

Scanner=SkyScan1272
Instrument S/N=13C09015
Software Version=1.1.2

Home Directory=C:\SkyScan1272\SkyScan1272

Source Type=HAMAMATSU_L11871_20

Camera Type=XIMEA xiRAY16

Camera Pixel Size (um)=7.4

Camera X/Y Ratio=1.0000

[Acquisition]

Data Directory=C:\Results\Usuários externos\Fernando - USP\F6727-vaginuloidesAC

Filename Prefix=F6727-vaginuloidesAC_

Filename Index Length=8

Number Of Files= 2400

Number Of Rows= 3280

Number Of Columns= 3579

Partial Width= 73%

Image crop origin X=662

Image crop origin Y=0

Camera binning=1x1

Image Rotation=-0.12900

Optical Axis (line)= 1722

Camera to Source (mm)=174.90436

Object to Source (mm)=76.77350

Source Voltage (kV)= 21

Source Current (uA)= 175

Image Pixel Size (um)=3.249953

Scaled Image Pixel Size (um)=3.249953

Image Format=TIFF

Depth (bits)=16

Reference Intensity=57000

Exposure (ms)=1458

Rotation Step (deg)=0.080

Use 360 Rotation=NO

Scanning position=45.200 mm

Frame Averaging=ON (2)

Random Movement=ON (30)

Flat Field Correction=ON

FF updating interval=300

Geometrical Correction=ON

Filter=No Filter

Gantry direction=CC

Rotation Direction=CC

Type of Detector Motion=STEP AND SHOOT

Scanning Trajectory=ROUND

Study Date and Time=19 Nov 2015 14h:13m:42s

Scan duration=5h:18m:56s

Maximum vertical TS=5.0

[Reconstruction]

Reconstruction Program=NRecon

Program Version=Version: 1.6.10.2

Program Home Directory=C:\SkyScan1272\SkyScan1272

Reconstruction engine=GPURconServer

Engine version=Version: 1.6.10

Reconstruction from batch=No

Postalignment=-19.00

Reconstruction servers= LNN107

Dataset Origin=SkyScan1272

Dataset Prefix=F6727-vaginuloidesAC_

Dataset Directory=C:\Results\Usuários externos\Fernando - USP\F6727-vaginuloidesAC

Output Directory=C:\Results\Usuários externos\Fernando - USP\F6727-vaginuloidesAC\F6727-

vaginuloidesAC_Rec
Time and Date=Nov 19, 2015 14:58:35
First Section=130
Last Section=3161
Reconstruction duration per slice (seconds)=0.651055
Total reconstruction time (3032 slices) in seconds=1974.000000
Section to Section Step=1
Sections Count=3032
Result File Type=BMP
Result File Header Length (bytes)=1134
Result Image Width (pixels)=1264
Result Image Height (pixels)=916
Pixel Size (um)=3.24995
Reconstruction Angular Range (deg)=192.00
Use 180+=OFF
Angular Step (deg)=0.0800
Smoothing=0
Ring Artifact Correction=1
Draw Scales=OFF
Object Bigger than FOV=OFF
Reconstruction from ROI=ON
ROI Top (pixels)=2911
ROI Bottom (pixels)=1994
ROI Left (pixels)=1295
ROI Right (pixels)=2562
ROI reference length=3579
Filter cutoff relative to Nyquist frequency=100
Filter type=0
Filter type description=Hamming (Alpha=0.54)
Undersampling factor=1
Threshold for defect pixel mask (%)=0
Beam Hardening Correction (%)=0
CS Static Rotation (deg)=0.00
Minimum for CS to Image Conversion=0.018494
Maximum for CS to Image Conversion=0.226278
HU Calibration=OFF
BMP LUT=0
Cone-beam Angle Horiz.(deg)=8.664060
Cone-beam Angle Vert.(deg)=7.942660
[File name convention]
Filename Index Length=8
Filename Prefix=F6727-vaginuloidesAC__rec

Apêndice 2

Árvore filogenética de *Geoplana* gerada pelo critério de parcimônia a partir de sequências moleculares de EF-1- α . Números nos ramos referem-se aos valores de suporte de Goodman-Bremer. Cada terminal recebe o nome da espécie, seguido, entre colchetes, pelo município de ocorrência e o número de identificação do espécime. Clados com membros morfologicamente semelhantes estão delimitados por retângulos coloridos. KC indica sequências obtidas do GenBank, e constam primeiro da sequência de COI, depois, de EF-1- α . (*) Consta como *Geoplana vaginuloides* no GenBank; (**) consta como *Geoplana chita* no GenBank.

Apêndice 3

Árvore filogenética gerada pelo critério de verossimilhança a partir de sequências moleculares de COI. Números nos ramos referem-se aos valores de Razão de Verossimilhança. Cada terminal recebe o nome da espécie, seguido, entre colchetes, pelo município de ocorrência e o número de identificação do espécime. Clados com membros morfologicamente semelhantes estão delimitados por retângulos coloridos. KC indica sequências obtidas do GenBank, e constam primeiro da sequência de COI, depois, de EF-1- α . (*) Consta como *Geoplana vaginuloides* no GenBank; (**) consta como *Geoplana chita* no GenBank.

Apêndice 4

Árvore filogenética gerada pelo critério de verossimilhança a partir de sequências moleculares de EF-1- α . Números nos ramos referem-se aos valores de Razão de Verossimilhança. Cada terminal recebe o nome da espécie, seguido, entre colchetes, pelo município de ocorrência e o número de identificação do espécime. Clados com membros morfologicamente semelhantes estão delimitados por retângulos coloridos. KC indica sequências obtidas do GenBank, e constam primeiro da sequência de COI, depois, de EF-1- α . (*) Consta como *Geoplana vaginuloides* no GenBank; (**) consta como *Geoplana chita* no GenBank.

Apêndice 5

Árvore filogenética gerada pelo critério de verossimilhança a partir de sequências moleculares dos genes COI e EF-1- α concatenados. Números nos ramos referem-se aos valores de Razão de Verossimilhança. Cada terminal recebe o nome da espécie, seguido, entre colchetes, pelo município de ocorrência e o número de identificação do espécime. Clados com membros morfologicamente semelhantes estão delimitados por retângulos coloridos. KC indica sequências obtidas do GenBank, e constam primeiro da sequência de COI, depois, de EF-1- α . (*) Consta como *Geoplana vaginuloides* no GenBank; (**) consta como *Geoplana chita* no GenBank.