Edgar Gamero Mora

Revisão morfológica e molecular do gênero de medusas
upside-down Cassiopea Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria:
Scyphozoa: Rhizostomeae)

Morphological and molecular revision of the upside-down
jellyfish *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria:
Scyphozoa: Rhizostomeae)

São Paulo

2020

Edgar Gamero Mora

Revisão morfológica e molecular do gênero de medusas
upside-down Cassiopea Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria:
Scyphozoa: Rhizostomeae)

Morphological and molecular revision of the upside-down
jellyfish *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria:
Scyphozoa: Rhizostomeae)

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

Orientador: Prof. Dr. André Carrara Morandini
Coorientador: Dr. Maximiliano Manuel Maronna

São Paulo

2020

Disclaimer

New taxon names and nomenclatural changes referred in this dissertation are disclaimed and unavailable for nomenclatural purposes (ICZN Art. 8.3)

Resumo

As medusas do gênero *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 estão amplamente distribuídas em habitats marinhos e estuarinos, tropicais e subtropicais, rasos; são os únicos membros de Kolpophorae com representantes no Atlântico Ocidental e no Indo-Pacífico. O status atual da diversidade de *Cassiopea* é incerto e pode estar subestimado pela (1) presença de espécies crípticas, (2) baixa representatividade geográfica na amostragem de trabalhos anteriores, (3) falta de estudos sistemáticos comparados direcionados ao grupo. Compreender a sistemática do gênero *Cassiopea* tem se tornado uma prioridade uma vez que espécies deste táxon tem ganhando terreno como organismos modelo nos últimos anos. Assim, este projeto foi elaborado para realizar uma revisão sistemática do gênero *Cassiopea* (que permitiria uma melhor compreensão da evolução, biogeografia e ecologia do grupo) utilizando dados moleculares e morfológicos.

O 2o. capítulo “Hidden diversity and insights into the origin and biogeography of the upside-down jellyfishes (Cnidaria: Scyphozoa)” foi baseado em dados moleculares, e nos permitiu detectar uma divisão no nó mais profundo da filogenia entre as linhagens Atlântica e Indo-Pacífica. Além disso, foi revelada uma diversidade oculta no Indo-Pacífico. No total, foram delimitadas 17 espécies, as quais estão diagnosticadas por caracteres moleculares. Os resultados foram discutidos no contexto da riqueza de espécies e das relações de parentesco do grupo, sendo possível elucidar aspetos sobre sua origem e biogeografia.

No 3o. capítulo “Revision of the upside-down jellyfish genus *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria: Scyphozoa)” encontramos que caracteres morfológicos derivados da observação dos braços orais, apêndices orais, ropálios e óstios subgenitais são úteis para delimitar algumas espécies. No entanto, a morfologia nem sempre é suficiente para a elucidação e delimitação de espécies, sendo necessário o uso de outras fontes de informação em alguns casos. Nossos resultados indicam que das 11 espécies nominais de *Cassiopea* oito foram consideradas válidas: *C. frondosa*, *C. andromeda*, *C. mertensi*, *C. ornata*, *C. picta*, *C. xamachana*, *C. ndrosia*, *C. maremetens*; sendo designados neótipos para seis delas. *C. vanderhorsti* foi considerada sinônimo de *C. xamachana*. *Cassiopea depressa* foi considerada *species inquirenda*. *Cassiopea medusa* foi considerada *nomen dubium*. Duas espécies novas são propostas e descritas: *C. appendicula* [Localidade-tipo: Subic Bay, Luzon Island, Philippines] e *C. ongaeli* [Localidade-tipo: Ongael Lake, Palau, Oceania].

No 4o. capítulo “Regenerative Capacity of the Upside-down Jellyfish *Cassiopea xamachana*” usamos abordagens morfológicas e moleculares para identificar a espécie e discutir um processo que foi observado no tecido umbrelar que pode levar à formação de praticamente todas as estruturas corporais em *C. xamachana*.

Abstract

Jellyfishes of the genus *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 are widely distributed throughout shallow tropical and subtropical marine and estuarine habitats, being the only members within Kolpophorae with representatives both in the Western Atlantic and the Indo-Pacific region. The present status of *Cassiopea* diversity is uncertain and could be underestimated by (1) cryptic forms that hampers the establishment of species boundaries, (2) poor collecting efforts, and (3) the lack of comparative systematics studies directed to this group. Understanding the systematics of the genus *Cassiopea* has become a priority because some species are gaining ground as model organisms. This project was designed to perform a revision of the genus *Cassiopea* (which would allow a better comprehension of the evolution, biogeography, and ecology of this group) under the light of molecular and morphological data.

The 2nd chapter “Hidden diversity and insights into the origin and biogeography of the upside-down jellyfishes (Cnidaria: Scyphozoa)” based on molecular data let us to identify an early division into Atlantic and Indo-Pacific lineages. Also, it revealed a hidden diversity, in the Indo-Pacific region, allowing us to recognize and propose diagnostic molecular characters for 17 species. We discussed our findings in the context of the species richness and phylogenetic relationships within *Cassiopea*, to elucidate about its origin and biogeography.

In the 3rd chapter “Revision of the upside-down jellyfish genus *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria: Scyphozoa)” our results indicate that morphological characters derived from the observation of the oral arms, oral appendages, sense organs, and subgenital pits are useful for delimiting some species. However, morphology was not always reliable to discover and establish limits between certain species, being necessary other sources of information to support species hypotheses. Taxonomic actions that followed our revision included: eight valid species: *C. frondosa*, *C. andromeda*, *C. mertensi*, *C. ornata*, *C. picta*, *C. xamachana*, *C. ndrosia* and *C. maremetens*. *Cassiopea vanderhorsti* is considered a synonym of *C. xamachana*. *Cassiopea depressa* is considered *species inquirenda*. *Cassiopea medusa* is considered *nomen dubium*. Two new species are proposed and described: *C. appendicula* [Type-locality: Subic Bay, Luzon Island, Philippines] e *C. ongaeli* [Type-locality: Ongael Lake, Palau, Oceania].

In the 4th chapter “Regenerative Capacity of the Upside-down Jellyfish *Cassiopea xamachana*”, morphological and molecular approaches were used to identify the species and discuss a process in which we observed that the umbrellar tissue can lead to the formation of virtually all body structures in *C. xamachana*.

Capítulo 1

Introdução geral: breve histórico sobre as medusas *upside-down* (*Cassiopea*)

Contexto filogenético

Cnidaria é um filo cujos membros apresentam morfologia bastante diversa, e que inclui mais de 13.500 espécies recentes (Daly et al. 2007, Okamura et al. 2015a). De acordo com a evidencia fóssil e dados moleculares, os primeiros cnidários apareceram no Neoproterozóico, enquanto que a cladogênese dos grandes grupos teria acontecido ainda no Neoproterozoico ou no início do Paleozóico (Cartwright & Collins 2007, Park et al. 2012, Van Iten et al. 2014, Okamura et al. 2015b).

Apesar de os cnidários serem principalmente marinhos e de vida livre, existem espécies em águas continentais e até aquelas adaptadas para um estilo de vida parasita (Jankowski et al. 2008, Okamura et al. 2015a). O sucesso ecológico espaço-temporal dos cnidários tem sido associado a um conjunto de inovações biológicas, incluindo ciclo de vida metagenético, natação propelida por ação muscular, planos corpóreos coloniais e polimórficos, e presença de toxinas (Costello et al. 2008, Jaimes-Becerra et al. 2017, Kayal et al. 2018). Estudos filogenéticos concordam que a diversidade de cnidários pode ser definida em três clados principais: Anthozoa, Endocnidozoa e Medusozoa (Collins 2009, Holzer et al. 2018, Kayal et al. 2018). O clado Medusozoa é onde se observa a expressão de duas formas corporais distintas: o pólipo e a medusa (Marques & Collins 2004).

Ao longo do estudo da sistemática recente dos Medusozoa têm sido propostas diversas hipóteses de relacionamento interno, sejam baseadas tanto em dados moleculares como caracteres morfológicos, a maioria delas corroboram a proposta de Medusozoa subdividido em quatro classes: Cubozoa, Hydrozoa, Scyphozoa e Staurozoa (Marques & Collins 2004, Van Iten et al. 2006, Bayha et al. 2010, Kayal et al. 2013, 2018) (mas veja Strahler-Pohl, 2017). Historicamente, Cubozoa e Staurozoa já foram considerados parte de Scyphozoa (e.g., Kramp, 1961; Mayer, 1910); posteriormente, foram elevados a classes com base em hipóteses suportadas por dados morfológicos e/ou do ciclo de vida, prevalecendo assim unicamente os clados Coronatae (=Coronamedusae) e Discomedusae, este último incluindo, Rhizostomeae e Semaestomeae dentro de Scyphozoa, estes dois últimos conformando Discomedusae (Werner 1973, Marques & Collins 2004, Bayha et al. 2010).

Diferentes evidências morfológicas e moleculares suportam o monofiletismo de Discomedusae (Dawson 2004, Kayal et al. 2013). No entanto, diversas hipóteses de

parentesco e filogenéticas vêm mostrando que Semaestomeae é considerado parafilético com respeito a Rhizostomeae (Uchida 1926, Thiel 1966, Collins 2002, Dawson 2004, Collins et al. 2006, Hamner & Dawson 2009, Bayha et al. 2010, Gómez-Daglio & Dawson 2017, Kayal et al. 2018). Já o monofiletismo de Rhizostomeae é corroborado pela ausência de tentáculos na margem umbrelar, bocas secundárias e oito braços orais (Marques & Collins 2004).

Diferenças na organização do sistema gastrovascular sustentam a divisão de Rhizostomeae em duas subordens: Daktyliophorae e Kolpophorae (Stiasny 1921, Hamner & Dawson 2009). Esta classificação é amplamente aceita, mas estudos recentes apresentam Daktyliophorae como um grupo parafilético (Hamner & Dawson 2009, Bayha et al. 2010, Gómez-Daglio & Dawson 2017); já a monofilia de Kolpophorae é altamente suportada, mostrando-se persistente ante uma maior inclusão de táxons e distintas fontes de informação (Holst et al. 2007, Hamner & Dawson 2009, Bayha et al. 2010, Gómez-Daglio & Dawson 2017).

Análises com maior inclusão de taxa e dados têm permitido corroborar a monofilia de Kolpophorae, e de seus subgrupos, as famílias Cassiopeidae, Mastigiidae, Leptobrachidae (como Thysanostomatidae), Versurigidae e Cepheidae (Gómez-Daglio & Dawson 2017). As cinco famílias mencionadas foram definidas dentro de 3 superfamílias: Actinomyariae, Krikomyariae, e Kampylomyariae (Stiasny 1921). Dados e análises levaram a criar hipóteses de classificação e relacionamento alternativas para o grupo: a superfamília monogenérica Kampylomyariae (=Cassiopeidae) com posição incerta dentro de Kolpophorae (Kramp 1961), como próxima ao grupo Actinomyariae- Krikomyariae (Stiasny 1921) ou dentro do clado (Cepheidae (Cassiopeidae (Mastigiidae (Leptobrachidae) Versurigidae)) (Dawson & Hamner 2009, Bayha et al. 2010, Gómez-Daglio & Dawson 2017) (Figura 1).

Figura 1. Hipótese filogenética competente à posição filogenética de Cassiopeidae dentro de Cnidaria e relações internas de Kolpophorae. **A** – Hipótese molecular da posição filogenética de Krimomyariae (=Cassiopeidae) dentro de Cnidaria baseada em vários estudos (Bayha et al. 2010, Kayal et al. 2013, 2018, Gómez-Daglio & Dawson 2017). A topologia geral não pretende representar um consenso; figura baseada em Ohdera et al. (2018). **B** e **C** – Hipóteses morfológicas de relacionamento “tradicionais” para Kolpophorae (**B** Stiasny 1921, **C** Kramp 1961).

***Cassiopea*: importância ecológica, e organismo modelo**

As espécies do gênero *Cassiopea* se encontram amplamente distribuídas em baías, lagunas, estuários e regiões pouco profundas de zonas tropicais e subtropicais associadas a manguezais (Mayer 1910, Holland et al. 2004). São organismos que possuem uma característica única com respeito a outros cifozoários, a fase de medusa ocupa um nicho epibentônico em águas rasas passando a maior parte do tempo virada de “cabeça para baixo”, *i.e.* com os braços orais voltados para a superfície da água (Brandt 1838, Gray 1869, Guppy 1882). No seu habitat, folhas de mangue em decomposição fornecem um elemento para o assentamento assim como os precursores biológicos que desencadeiam a metamorfose da larva plânula e dos brotos livre-natantes (Fleck & Fitt 1999). Uma vez que a medusa abriga uma abundante comunidade de simbioses (Verde & McCloskey 1998). habitar águas rasas, claras e relativamente quentes favorece a captação de luz e produção pelos simbioses (Figura 2).

Figura 2. Fotografias de *Cassiopea andromeda* no estuário do Rio Meirim, Alagoas, Brasil. **A** – Grupo de medusas em seu habitat natural. **B** – Água-viva em vista lateral. **C** – Espécimes em vista oral sobre o substrato; **D** – Vista aboral de medusas fora da água. Fotografias de André C. Morandini. Data: 11/10/2016.

Dado que as medusas invertidas se encontram em águas rasas, são epibentônicas, tem um modo de vida sedentário e vivem em grupos (Bigelow 1892a, Collado-Vides et al. 1988, Niggli & Wild 2010, Stoner et al. 2011), era questão de tempo descobrir a facilidade com que podem ser coletadas e mantidas em aquários (Bigelow 1900). Isto permitiu o desenvolvimento de linhas de pesquisa que requeriam a tomada de dados a partir de animais mantidos e cultivados em laboratório. Os primeiros estudos datam já do início do século XX, principalmente focados no estudo da fisiologia da fase de medusa: a partir de observações experimentais em laboratório, se descreveu a resposta a condições de inanição, pulsação, capacidade de regeneração, condução de impulsos nervosos e sua reação metabólica a distintos tratamentos (Mayer 1906, 1914, 1915, Zeleny 1907, Stockard 1908, Goldfarb 1914, Cary 1916, Hatai 1917, McClendon 1917) (Figura 3C). Pouco a pouco, estas medusas começaram a ganhar terreno como modelo de estudo em diferentes áreas da ciência. Explorando-se enfoques sobre biologia reprodutiva, interações ecológicas, fisiologia (Verde & McCloskey 1998, Hofmann & Hadfield 2002, Todd et al. 2006, Lampert et al. 2012, Hopf & Kingsford 2013), bioquímica (Torres et al. 2001, Radwan et

al. 2005, Templeman & Kingsford 2012), ecologia (Özgür & Öztürk 2008, McGill & Pomory 2008, Jantzen et al. 2010, Niggli & Wild 2010, Niggli et al. 2010, Stoner et al. 2014), biofísica (Hamlet et al. 2011, Hamlet & Miller 2012), filogeografia e genética (Holland et al. 2004, Kayal et al. 2012) e biologia comportamental (Nath et al. 2017) (Figura 3B). A partir de novas linhagens clonais de laboratório e novas técnicas de sequenciamento genômico, recentemente *Cassiopea xamachana* foi proposta como um bom candidato de organismo modelo (Ohdera et al. 2018).

A linha de pesquisa mais prolífica no estudo de *Cassiopea* começou no início do século XX como o estudo do ciclo de vida de *C. xamachana* e a identificação dos seus simbiontes (Bigelow 1892b, 1900) (Figura 3C); a verificação dessa relação simbiótica levou ao estabelecimento de uma forte linha de pesquisa baseada no sistema *Cassiopea-Symbiodinium* (veja Lampert 2016). Entre os resultados mais relevantes, destaca-se que a produção de éfiras está condicionada à presença do simbionte (Hofmann et al. 1978, Colley & Trench 1983) e decréscimos no pH da água do mar não tem efeito na densidade de zooxantelas, nem na saúde da medusa. Isto sugere que, diferentemente de algumas outras espécies de cnidários zooxantelados, espécies de *Cassiopea* podem ser relativamente insensíveis aos impactos da acidificação dos oceanos, aumentando seu potencial como espécie invasora, como sugerido na literatura (Doty 1961, Holland et al. 2004; Weeks et al. 2019).

Outras características que poderiam aumentar esta capacidade invasora seriam a tolerância a amplas variações de parâmetros físico-químicos da água, estratégias de reprodução e a sua capacidade de regeneração (Zeleny 1907, Schiariti et al. 2014, Heins et al. 2015, Lampert 2016, Morandini et al. 2017, Gamero-Mora et al. 2019). De fato, recentemente três espécies do gênero foram detectadas fora da sua área de distribuição natural (Doty 1961, Holland et al. 2004, Graham & Bayha 2007, Bayha & Graham 2014) e *C. andromeda* amplamente distribuída e com contínuos registros de aumento de área de distribuição permanente (Holland et al. 2004, Zenetos et al. 2011, Gülşahin & Tarkan 2012, Siokou et al. 2013, Özbek & Öztürk 2015, Morandini et al. 2017, Cillari et al. 2018). Com o aumento na frequência de registros de eventos de invasão, e reconhecendo que algumas linhagens de *Cassiopea* representam um complexo de espécies (Mayer 1910, Hummelinck 1968, Morandini et al. 2017), é urgente o desenvolvimento de métodos para a delimitação e identificação precisa deste suposto grupo críptico (similar situação se pensamos seu valor como modelo biológico).

Por último, *Cassiopea* também está ganhando força como bioindicador, com diversas aplicações para o gerenciamento de ecossistemas costeiros (Templeman & Kingsford 2012, 2015, Epstein et al. 2016, Ohdera et al. 2018). As medusas invertidas são consideradas indicadoras de eutrofização antrópica, e alguns autores sugerem que este fato se reflete no tamanho dos indivíduos e no seu aumento populacional (Collado-Vides et al. 1988, Arai 2001, Stoner et al. 2011). Um aumento na população de medusas vem acompanhado de repercussões ecológicas e econômicas em diferentes aspectos como o pesqueiro, por sua condição predadora, e no turístico por apresentarem células urticantes (Purcell et al. 2007).

Figura 3. Visão gráfica da história dos estudos sobre o gênero *Cassiopea*. **A** – Número total de trabalhos publicados por ano desde 1774 até 2019. **B** – Número de trabalhos publicados por ano desde 1774 até 2019 divididos por abordagem de estudo (L1-L13). **C** – Porcentagem de trabalhos publicados por abordagem de estudo (L1-L13). L1 – Zoologia experimental; L2 – Morfologia, sistemática e filogeografia; L3 – Sistema *Cassiopea-Symbiodinium*; L4 - Morfogênese, assentamento e metamorfose de estágios assexuados; L5 –

Abundância e monitoramento; L6 – Desenvolvimento, regeneração, reprodução e ciclo de vida; L7 – Engenheiros do ecossistema, bioindicadores, e resposta metabólica; L8 – Genômica e evolução; L9 – Toxicologia; L10 - Dinâmica de Fluidos; L11- Bioinvasão; L12 – Bioquímica e outros; L13 – Biologia do comportamento.

Histórico taxonômico do gênero *Cassiopea*

A primeira espécie descrita para o atual gênero *Cassiopea* Péron & Lesueur, 1810 foi coletada no mar do Caribe, e descrita como *Medusa frondosa* por Pallas (1774). No contexto histórico daquela “nova taxonomia”, foi a quinta espécie de cifomedusa formalmente descrita (Linnaeus 1758) e a primeira espécie de Rhizostomeae (Jarms & Morandini 2019). Forskål (1775) descreve a segunda espécie posteriormente classificada no gênero, como *Medusa andromeda*, a partir de exemplares do mar Vermelho. Destaca no texto original “*Copiosa in fundo littoris Rubri Maris*” (p. 107), referência a uma das características mais relevantes do gênero e que não tinha sido enfatizada por Pallas (pois observou espécimes preservados). Assim, o modo de vida epibentônico da medusa passa rapidamente a ser reconhecido como um dos atributos mais conspícuos do grupo.

Um passo importante na classificação taxonômica dos Scyphozoa, e portanto de *Cassiopea*, aconteceu quando Cuvier (1799, 1800) propôs o gênero “*Rhizostome*” (atualmente *Rhizostoma*). Assombrado por um animal sem boca aparente, usando leite e vinagre, conseguiu observar diversos canais no interior da medusa que distribuíam o alimento que era ingerido através de múltiplos orifícios nos braços do animal (*ostioles*). Assim, “*Rhizostome*”, mais tarde daria o nome à ordem Rhizostomeae, na qual seriam agrupadas cifomedusas sem boca primária e efetivamente com múltiplas bocas secundárias.

Invariavelmente as descrições de espécies de cifomedusas feitas entre 1758-1809 foram classificadas dentro do gênero *Medusa* (Linnaeus 1758; Gmelin, 1791). Este gênero reunia 13 espécies de cifomedusas com características suficientemente diferentes, ante os olhos de determinados naturalistas, para sustentar uma proposta de desmembramento do gênero. Péron & Lesueur (1810) publicaram uma classificação e mudanças nomenclaturais para as 120 espécies de águas-vivas conhecidas até aquele momento, propondo múltiplas categorias supra-genéricas e 29 gêneros. Entre eles, o gênero *Cassiopea* (p. 356). O qual, foi definido brevemente como “*Huit á dix bras très-composés, arborescens, polychotomes, branchiophores? et cotylifères*”. Nele foram incluídas quatro espécies: a nova espécie *Cassiopea Dieuphila* (mas veja capítulo 3), e três espécies previamente descritas. Estas foram realocadas no novo gênero, porém com epítetos específicos diferentes dos originais:

Cassiopea Forskalea (hoje sinônimo de *Cassiopea andromeda*), *Cassiopea Borlase* (hoje sinônimo de *Rhizostoma octopus*) e *Cassiopea Pallas* (hoje sinônimo de *Cassiopea frondosa*).

Após a realocação das diferentes espécies do gênero *Medusa* e já com o gênero *Cassiopea* estabelecido (entre outros), padrões de relacionamento de maior hierarquia começaram a ser reconhecidos. Sendo assim, podemos destacar 3 grandes eventos taxonômicos no século XIX:

1) Tilesius (1831) identificou que os membros de *Cassiopea* e *Cephea*, assim como os membros de *Rhizostoma* estudado por Cuvier (1799, 1800), se alimentavam através de múltiplas bocas secundárias. Segundo o autor, outra característica compartilhada pelos três grupos seria a presença de “ventrículos respiratórios” (*Respirationsventrikeln*) (hoje reconhecidos como óstios subgenitais, Mayer 1910) na superfície inferior da umbrela. Porém, *Cassiopea* seria diferente de *Cephea* e *Rhizostoma* por apresentar oito ventrículos respiratórios, o que daria suporte para criar a nova família Cassiopeae (hoje Cassiopeidae). Alterações nas espécies na monografia de Tilesius foram: a exclusão de *C. Dieuphila* da família, a descrição da nova espécie *Cassiopea canariensis* (hoje sinônimo de *Cotylorhiza tuberculata*) e o reestabelecimento dos epítetos específicos de *C. andromeda*, *C. frondosa* e *C. rhizostomoidea* (hoje sinônimo de *Rhizostoma octopus*). No mesmo trabalho, *C. andromeda* é designada como a espécie tipo da família. No período compreendido entre 1830-1860, podem se encontrar descrições e a redescrições de espécies (Ehrenberg 1837, Brandt 1838, Wagner 1841), avanços taxonômicos (Gegenbaur 1856), na anatomia e ontogenia dos cifozoários (Dalyell 1834, Sars 1841, Huxley 1849). Brandt (1838) estabeleceu o subgênero *Polyclonia* para incluir animais com forma de *Cassiopea* mas com quatro gônadas como em *Rhizostoma*.

2) Um novo sistema de classificação para medusas foi proposto por Agassiz (1862). O autor mantém o gênero *Cassiopea* para medusas com oito gônadas na família Cassiopeidae, e ascender à categoria de gênero *Polyclonia* para incluir aquelas medusas com quatro gônadas dentro da nova família Polyclonidae.

3) Por último, múltiplas foram as novidades propostas pelo naturalista alemão Haeckel (1880) que criou uma nova classificação baseada na configuração da cavidade gastrovascular e no padrão de ramificação dos braços orais. Com respeito a *Cassiopea*, o autor desmitificou a presença de oito óstios genitais em Cassiopeidae, assegurando que todos os Discomedusae possuíam quatro gônadas e quatro óstios genitais. Com isso, a família Polyclonidae passou a ser considerada uma das três subfamílias da nova família

Toreumidae, incluindo Cassiopeidae. Os três gêneros podiam ser diferenciados unicamente pelo número de órgãos sensoriais: *Cassiopea* com 16, *Polyclonia* com 12 e o novo gênero *Toreuma* com oito. Além disso, descreveu duas novas espécies de *Cassiopea* e duas de *Toreuma*; finalizando assim sua classificação com uma espécie de *Polyclonia*, três de *Toreuma* e quatro de *Cassiopea*. Ao final do século XIX a proposta de classificação de Haeckel para delimitar famílias foi rebatida por Claus (1883) e por von Lendenfeld (1888) e Vanhöffen (1888). O principal contra argumento foi que o número de ropálios é variável em organismos da mesma espécie. Como contraproposta, um sistema de classificação baseado em padrões de ramificação dos braços orais, e em menor medida no sistema de canais, foi proposto como resultado do refinamento do trabalho de Claus (1883) culminando com a dissolução da família Toreumidae, resgate da família Cassiopeidae (Claus 1883, von Lendenfeld 1888) e realocação dos membros de Cassiopeidae no grupo *Rhizostomata pinnata* (Vanhöffen 1888, Mayer 1910). Embora com diferentes nomes, a partir da proposta de Claus (1883), que foi modificada gradualmente (Vanhöffen 1888, von Lendenfeld 1888, Schultze 1898, Maas 1903), a definição da família já se encontrava muito mais próxima ao aceite atualmente. Ou seja, apenas incluindo os gêneros da invalidada família Toreumidae (*Cassiopea*, *Polyclonia*, *Toreuma*) de Haeckel (1880). Porém, ao mesmo tempo, foi levantada a dúvida se o gênero *Polyclonia* poderia ser considerado válido com base no número de ropálios uma vez que é uma característica variável (Fewkes 1882, Schultze 1898).

Já no século XX, Maas (1903) propõe uma nova classificação, desta vez baseada (a) no sistema muscular da subumbrela, (b) presença de manchas oclares nos órgãos sensoriais, (c) características do sistema de canais radiais e (d) braços orais. Estes caracteres foram debatidos posteriormente por Mayer (1910), e o gênero *Cassiopea* permaneceu com a mesma configuração; no mesmo trabalho *Toreuma* foi considerado duvidoso, mencionando-se que poderia ter sido descrito a partir de exemplares juvenis de *Cassiopea* (Maas 1903).

Uma vez atingido um consenso sobre a classificação supra-genérica do grupo, começaram a aparecer estudos sobre as relações intraespecíficas do gênero, e portanto as incertezas nos caracteres para identificar as espécies (Maas 1903, Browne 1905). Maas (1903) reduz o número de espécies de *Cassiopea*, convertendo algumas das espécies previamente descritas em variedades. Igualmente, faz uma argumentação sobre a pouca utilidade dos caracteres usados para diferenciar as espécies dentro do gênero e criou o que

poderia ser a primeira hipótese de relacionamento com base em similaridade morfológica (veja seção: Hipóteses de relacionamento das espécies de *Cassiopea*).

Mayer (1910) propõe novas alterações para *Cassiopea*, sinonimizando *Polyclonia* – mesmo quando outros autores alegavam a validade do gênero pela peculiaridade dos seus apêndices (Perkins 1908).

Stiasny (1921), apresentou uma proposta que buscava compensar as dificuldades na interpretação acerca da ramificação dos braços orais. Um primeiro nível de separação das medusas Rhizostomeae considerava a presença de canais anastomosados em toda a umbrela (Kolpophorae) ou apenas externamente ao canal circular (Dactyliophorae). Dentro de Kolpophorae, a subdivisão consistia na disposição da musculatura subumbrelar: radial (Actinomyariae), circular (Krikomyariae), e pinada (Kampylomyariae). A família Cassiopeidae está incluída na superfamília Kampylomyariae. Stiasny também não considera os gêneros *Toreuma*, e *Polyclonia* como válidos e discute sobre a pouca utilidade dos caracteres utilizados para identificar espécies (ver também Mayer 1910, p. 638), e cria uma hipótese de relacionamento com base no tamanho dos apêndices orais (veja seção: Hipóteses de relacionamento das espécies de *Cassiopea*).

O período compreendido entre 1920-1960 foi marcado pela diminuição da revolução taxonômica (período em que proliferaram os taxonomistas de Discomedusae e no qual expedições oceânicas resultaram em publicações taxonômicas importantes; Gómez-Daglio & Dawson 2019) de Discomedusae (1920-1930) e por um período onde existiram poucas publicações taxonômicas (1930-1960) . Neste período apenas uma espécie de *Cassiopea* foi descrita (Stiasny 1924), e registrou-se poucas discussões sobre a evolução do grupo; predominou a revisão de materiais de museus e trabalhos com informações biológicas de espécies já descritas (Stiasny 1923, 1926, 1933, Uchida 1926, Rao 1931, Hummelinck 1933, 1968, Smith 1936, Kramp 1955, Gohar & Eisawy 1960a b) (Figura 4).

Figura 4. Visão gráfica do histórico dos estudos de morfologia e taxonomia de *Cassiopea*. **A.** Porcentagem de trabalhos publicados por tema de estudo (L1-L4). **B** Número total de trabalhos publicados por ano desde 1774 até 2019 . L1 – Descrição de espécies; L2 - Atos nomenclaturais; L3 – Redescrição de espécies e revisões; L4 – Contribuições à morfologia das espécies.

Kramp (1961) publica uma síntese das medusas do mundo, onde incluiu ~900 espécies e 272 gêneros. *Cassiopea* (e Rhizostomeae) foi ordenado de acordo ao sistema de Stiasny (1921), porém sem comentar hipóteses de relacionamento em Kolpophorae (Fig 1), reconhecendo 8 das 10 espécies atualmente válidas (ver capítulo 3 e Tabela 1).

Tabela 1. Classificação taxonômica supraespecífica de *Cassiopea*, e espécies válidas do gênero segundo Kramp 1961 e Gershwin et al. 2010, com dados da localidade tipo e do status taxonômico segundo o Capítulo 3 desta tese).

Classificação supraespecífica	Espécie	Localidade tipo	Válida após este estudo?
Cnidaria Vernill, 1865 Medusozoa Petersen, 1979 Scyphozoa Goette, 1887 Discomedusae Haeckel, 1880 Rhizostomeae Cuvier, 1799 Kolpophorae Stiasny, 1921 Cassiopeidae Tilesius, 1829 <i>Cassiopea</i> Péron & Lesueur, 1810	<i>C. andromeda</i> (Forskål, 1775)	Mar Vermelho	Sim
	<i>C. depressa</i> Haeckel, 1880	Madagascar, Moçambique	<i>Species inquirenda</i>
	<i>C. frondosa</i> (Pallas, 1774)	Caribe	Sim
	<i>C. maremetens</i> Gershwin, Zeidler & Davie, 2010	Lake Magellan, Austrália	Sim
	<i>C. medusa</i> Light, 1914	Culion Bay, Filipinas	<i>Nomen dubium</i>
	<i>C. mertensi</i> Brandt, 1835	Kosrae Island, Micronesia	Sim
	<i>C. ndrosia</i> Agassiz & Mayer, 1899	Suva, Fiji	Sim
	<i>C. ornata</i> Haeckel, 1880	Palau; Papua Nova Guiné	Sim
	<i>C. picta</i> Vanhöffen, 1888— <i>nomen dubium</i>	Mar Vermelho	Sim
	<i>C. vanderhorsti</i> , Stiasny 1922	Caracas Bay, Curaçao	Sinônimo de <i>C. xamachana</i>)
	<i>C. xamachana</i> , Bigelow 1892	Kingston Harbor, Jamaica	Sim

O último trabalho taxonômico que considerou plenamente o gênero *Cassiopea* surgiu a partir de uma proposta do Thiel (1970). Na qual, foi proposta a divisão de Rhizotomeae em duas ordens: Cepheida and Rhizostomida; isso segundo o argumento de uma origem bifilética do grupo a partir de Semaestomeae. Baseado na proposta do Thiel 1970, Thiel (1975) sugere que Kampylomyariae (= Cassiopeidae) teria uma origem diferente, e que é tão distinta de Cepheida e Rhizostomida (considerando características dos órgãos sensoriais, a estrutura dos braços orais e principalmente o padrão da sua

musculatura radial) que tem que ser elevada ao nível de ordem (junto com Cepheida e Rhizostomida), proposta já sugerida por Uchida (1926). Na proposta, três ordens são agrupadas dentro da superordem Rhizostomoidea mas, mas a classificação foi pouco aceita (veja Straehler-Pohl 2009) e poucas vezes discutida (Collins et al. 2006). Desta forma, prevaleceram 10 espécies válidas no gênero (mais uma *species inquirenda* e um *nomen dubium*), conforme a classificação de Stiasny (1921) (ver capítulo 3 e Tabela 1).

Hipóteses de relacionamento das espécies de *Cassiopea*

Agrupamentos baseados em similaridade morfológica

Sem embasamento filogenético e como parte da descrição dos taxons, os dados morfológicos levaram à criação de propostas de agrupamento de espécies por similaridade de caracteres. Maas (1903) propôs uma classificação baseada em quatro caracteres: a forma e padrão de ramificação dos braços orais, a presença ou ausência de uma depressão central da exumbrela e o tamanho dos apêndices orais. Neste sistema, espécies geograficamente distantes como *C. xamachana*, do Caribe, e *C. polypoides* das Filipinas (Figura 5A) ficaram agrupadas. Posteriormente, os caracteres utilizados por Maas (1903) foram questionados por Stiasny (1921): partindo do pressuposto de que os apêndices pequenos não representam apenas estados de desenvolvimento das formas maiores, considera os apêndices orais o melhor caráter para diferenciar espécies. Desta forma cria uma hipótese de relacionamento para Cassiopeidae, sendo sete espécies válidas (incluindo variedades) e divididas em dois agrupamentos não resolvidos: um com apêndices grandes e outro com pequenos (Figura 5B).

A última ideia de relacionamento por similaridade morfológica foi baseada na distribuição geográfica, número de ropálios e tamanho dos apêndices orais (Hummelinck 1933, 1968). Neste, as medusas de *Cassiopea* seriam divididas em dois grupos (potenciais subgêneros, segundo o autor): Frondosae, restrito ao Caribe, com apêndices de menor tamanho e menor número de ropálios; e Andromedae, que representaria um complexo de espécies incluindo *C. xamachana* do Caribe e as demais espécies do Indo-Pacífico.

A implementação de dados moleculares na sistemática de *Cassiopea*

Apesar das abordagens morfológicas, é evidente que para taxonomistas de diferentes gerações e níveis de treinamento, as evidências morfológicas empregadas não foram “definitivas” para a delimitação de espécies muito menos outras questões evolutivas da família Cassiopeidae; esta consideração poderia ser estendida até mesmo para os Scyphozoa (Mayer 1910, Kramp 1961). Paulatinamente novas evidências foram levadas

em consideração para tentar resolver as incertezas sistemáticas nos cifozeários. Há mais de duas décadas, aloenzimas e sequências de DNA nuclear e mitocondrial começaram a ser implementadas em estudos de sistemática e evolução dos cifozeários (Greenberg et al. 1996, Dawson & Jacobs 2001). Desde o início de sua utilização os dados moleculares se mostraram especialmente úteis **(a)** na detecção de complexos de espécies que não tinham sido reconhecidas apenas com base na morfologia (Greenberg et al. 1996, Dawson & Jacobs 2001), **(b)** estabelecimento de hipóteses de relações de parentesco (Bridge et al. 1992, 1995) e uma vez delimitados os taxa, **(c)** estudos populacionais permitiram estabelecer padrões geográficos de algumas cifozeodusas (Schroth et al. 2002); **(d)** estudos filogenéticos com discussão de padrões dos ciclos de vida e outros atributos da biologia dos Cnidaria (Collins 2002; Marques & Collins 2004).

Os primeiros dados moleculares gerados para *Cassiopea* foram empregados para dar suporte à divisão de classes dentro de Cnidaria (Bridge et al. 1995) e para estudar a evolução dos genes Hox (Kuhn et al. 1999). Porém, o primeiro estudo molecular de fato trouxe uma filogenia molecular que deu clareza sobre a filogeografia do gênero (Holland et al. 2004). A partir da sequência parcial do gene mitocondrial codificante de proteína, o citocromo oxidase I (COI, 32 sequências representando unidades taxonômicas operativas, OTUs) e interpretação fenética da análise filogenética (distância de similaridade), seis linhagens/“espécies” foram reconhecidas: *C. andromeda*, *C. frondosa*, *C. ornata*, e três espécies novas que não foram descritas formalmente: *Cassiopea* sp.1-sp.3 (Figura 5C). Os dados genéticos também permitiram identificar a presença de duas espécies de *Cassiopea* fora de sua área de distribuição natural. Assim, *C. andromeda*, nativa do mar Vermelho, ficou agrupada com espécimes do Atlântico Leste e Pacífico; enquanto, que *Cassiopea* sp.3, possivelmente oriunda do Indo-Pacífico, com indivíduos do Pacífico.

Com um intuito de reconhecer a invasão de *Cassiopea* no Brasil, um novo estudo baseado em COI e OTUs utilizou as seis linhagens/espécies propostas por Holland et al (2004) (Morandini et al. 2017). Porém, com a inclusão dos espécimes brasileiros observou-se diferenças nas relações filogenéticas entre as espécies, o resultado suportaria a proposta dos subgrupos Frondosae e Andromedae (Hummelinck 1933; não discutido pelos autores) (Figura 5D). Arai et al. (2017), analisaram 69 sequências de COI (*Cassiopea*) provenientes de espécimes coletados nas Ilhas de Palau, aquários e de trabalhos prévios (Holland et al. 2004, Ojimi & Hidaka 2010, Kayal et al. 2012, Armani et al. 2013, Mellas et al. 2014, Morandini et al. 2017). Como resultado, os autores reconheceram três espécies novas, não descritas formalmente: *Cassiopea* sp.4-sp.6, e uma topologia filogenética em

geral similar à recuperada por Morandini et al. (2017). As três novas espécies agruparam-se em um clado irmão de *C. andromeda* (*Cassiopea ornata*, *Cassiopea* sp.1-2, 4-6); destaca-se que as novas espécies compreendem espécimes da Austrália, Palau, Fiji, Filipinas, Papua Nova Guiné, Japão(?) (ou seja, todas do Pacífico Centro Ocidental). Mesmo não sendo mencionado pelos autores, recuperaram a espécie *C. ornata* como parafilética (Figura 5E).

No que diz respeito às relações filogenéticas de Cassiopeidae com as outras famílias de Rhizostomeae, existe um consenso de que Cassiopeidae se encontra em um clado monofilético denominado Kolpophorae. Dependendo das diferentes hipóteses e fontes de evidência a família pode resultar grupo irmão do clado (Actinomyariae, Krikomyariae), ou como grupo irmão de Krikomyariae (Fig. 1A, B) (Stiasny 1921, Kramp 1961, Hamner & Dawson 2009).

Figura 5. Representações em forma de cladograma das hipóteses de relacionamento interespecíficas para *Cassiopea* publicadas desde 1903. **A** – (Maas, 1903) e **B** – (Stiasny, 1921) foram baseadas em dados morfológicos e sem embasamento filogenético. **C** – (Holland et al., 2004), **D** – (Morandini et al., 2017) e **E** – (Arai et al., 2017) representam hipóteses filogenéticas, simplificadas a partir de sequências do gene Citocromo C Oxidase I com métodos de evolução mínima (**C**) ou máxima verossimilhança (**D**, **E**). Notar que para as figuras **C**, **D** e **E** a espécie *C. xamachana* é considerada sinônimo de *C. Andromeda*.

Justificativa e objetivo geral do estudo

Dado que a delimitação das espécies do gênero *Cassiopea* e suas relações filogenéticas ainda não estão completa e claramente resolvidas, seja por falta de estudos taxonômicos focados exclusivamente no grupo ou pela falta de resolução dada pelos caracteres morfológicos, é impossível estabelecer planos de manejo adequados com as espécies do gênero consideradas invasoras. Bases taxonômicas robustas são cruciais no estudo da sistemática, ecologia ou biogeografia de qualquer grupo; similarmente, são fundamentais para a compreensão dos processos biológicos que derivam do estudo de espécies modelo, como é o caso de *Cassiopea xamachana*.

Considerando a importância do grupo em todos os seus aspectos, e com a finalidade de estabelecer uma base taxonômica robusta, o presente projeto pretende realizar uma revisão morfológica e genética do gênero *Cassiopea*. Nosso material de estudo contou com exemplares de coleções de referência mundial, observações de exemplares de aquários públicos, além de amostras recém-coletadas, quando possível destacando diferenças no ciclo de vida. Como resultados, destacamos descrições taxonômicas detalhadas e padronizadas (informação diagnóstica). Em conjunto, espera-se delimitar as espécies e inferir suas relações filogenéticas mediante o uso de marcadores genéticos.

Estrutura da tese

Esta tese está organizada na forma de capítulos e cada um deles formatado como um manuscrito para publicação. Este modelo foi escolhido para valorizar a participação de diferentes colaboradores nas distintas partes do estudo, e também para que os resultados fossem mais direcionados em seu formato final (publicações, capítulos 2, 3 e 4).

O primeiro capítulo [Introdução geral] aborda aspectos gerais sobre o conhecimento do gênero, situando o leitor na problemática que envolve as medusas “*upside down*”.

O segundo capítulo [*Hidden diversity and insights into the origin and biogeography of the upside-down jellyfishes (Cnidaria: Scyphozoa)*] aborda a questão da identificação molecular usando 5 marcadores (3 mitocondriais e 2 nucleares). As amostras de *Cassiopea* foram obtidas por coletas próprias e de distintos colaboradores ao redor do mundo. O objetivo principal foi evidenciar as diferentes linhagens, e também apresentar redes de haplótipos para os clados encontrados.

O terceiro capítulo [*Revision of the upside-down jellyfish genus Cassiopea Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomeae)*] faz uma análise da morfologia de diversos exemplares do gênero. As amostras de *Cassiopea* foram obtidas por coletas

próprias, por colaboradores, mas também através da inspeção de exemplares depositados em coleções de museus provenientes de diferentes regiões do mundo. O objetivo principal foi reconhecer características morfológicas que pudessem diferenciar os espécimes de diferentes locais. Além disso, buscou-se fazer uma revisão sistemática do gênero, procurando validar ou não as espécies nominais e sinonimizando-as quando possível.

No quarto capítulo [*Regenerative capacity of the upside-down jellyfish Cassiopea xamachana*], são apresentadas observações morfológicas realizadas em espécimes cultivados em aquário, e que foram identificados molecularmente. Os dados foram utilizados para discutir as capacidades regenerativas da espécie. Este capítulo já está publicado.

O quinto e último capítulo [Discussão Geral e Conclusões] faz uma síntese dos resultados obtidos tanto da parte morfológica quanto molecular, propondo principalmente uma resolução para o grupo com base nos resultados obtidos.

Referencias

- Agassiz L (1862) Contributions to the natural history of the United States of America. IV. Second monograph, In five parts, Acalephs in general, Ctenophorae, Discophorae, Hydroidae, homologues of the Radiata. Little, Brown & Company, Boston
- Arai MN (2001) Pelagic coelenterates and eutrophication: A review. In: *Hydrobiologia* 451:69–87
- Arai Y, Gotoh RO, Yokoyama J, Sato C, Okuizumi K, Hanzawa N (2017) Phylogenetic relationships and morphological variations of upside-down jellyfishes, *Cassiopea* spp. inhabiting Palau Islands. *Biogeography* 19:133–141
- Armani A, Tinacci L, Giusti A, Castigliengo L, Gianfaldoni D, Guidi A (2013) What is inside the jar? Forensically informative nucleotide sequencing (FINS) of a short mitochondrial COI gene fragment reveals a high percentage of mislabeling in jellyfish food products. *Food Res Int* 54:1383–1393
- Bayha KM, Dawson MN, Collins AG, Barbeitos MS, Haddock SHD (2010) Evolutionary Relationships Among Scyphozoan Jellyfish Families Based on Complete Taxon Sampling and Phylogenetic Analyses of 18S and 28S Ribosomal DNA. *Integr Comp Biol* 50:436–455
- Bayha KM, Graham WM (2014) Nonindigenous marine jellyfish: Invasiveness, invasibility, and impacts. In: Pitt KA, Lucas CH (eds), *Jellyfish Blooms*. p 45–77
- Bigelow RP (1892a) On reproduction by budding in the Discomedusae. *Johns Hopkins Univ Circ* 97:71–72
- Bigelow RP (1892b) On the anatomy and development of *Cassiopea xamachana*, sp. n. Johns Hopkins University
- Bigelow RP (1900) The anatomy and development of *Cassiopea xamachana*. *Mem Bost Soc Nat Hist* 5:191–236
- Brandt JF (1838) Ausführliche Beschreibung der von C. H. Mertens auf seiner Weltumsegelung beobachteten Schirmquallen, nebst allgemeinen Bemerkungen über die Schirmquallen überhaupt. *Mém l'Acad imp Sci St Pétersbg* 6 Série, S:237–411
- Bridge D, Cunningham CW, DeSalle R, Buss LW (1995) Class-level relationships in the Phylum Cnidaria: Molecular and morphological evidence. *Mol Biol Evol* 12:679–689

- Bridge D, Cunningham CW, Schierwater B, DeSalle R, Buss LW (1992) Class-level relationships in the phylum Cnidaria: Evidence from mitochondrial genome structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:8750–8753
- Browne ET (1905) Scyphomedusae. *Fauna Geogr Maldive Laccadive Arch* 2:958–971
- Cartwright P, Collins A (2007) Fossils and phylogenies: integrating multiple lines of evidence to investigate the origin of early major metazoan lineages. *Integr Comp Biol* 47:744–751
- Cary LR (1916) The influence of the marginal sense organs on the rate of regeneration in *Cassiopea xamachana*. *J Exp Zool* 21:1–32
- Cillari T, Andaloro F, Castriota L (2018) First documented record of *Cassiopea* cf *andromeda* (Cnidaria: Scyphozoa) in Italian waters. *Cah Biol Mar* 59:193–195
- Claus C (1883) *Untersuchungen Über Die Organisation Und Entwicklung Der Medusen*. Prague and Leipzig: F. Tempsky
- Collado-Vides L, Segura-Puertas L, Merino-Ibarra M (1988) Observaciones sobre dos escifomedusas del genero *Cassiopea* en la laguna de Bojorquez Quintana Roo, Mexico. *Rev Investig Mar* 9:21–27
- Colley NJ, Trench RK (1983) Selectivity in phagocytosis and persistence of symbiotic algae by the scyphistoma stage of the jellyfish. *Proc R Soc B Biol Sci* 219:61–82
- Collins AG (2002) Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles. *J Evol Biol* 15:418–432
- Collins AG (2009) Recent Insights into Cnidarian Phylogeny. *Smithson Contrib Mar Sci* 38:139–149
- Collins AG, Schuchert P, Marques AC, Jankowski T, Medina M, Schierwater B (2006) Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models. *Syst Biol* 55:97–115
- Costello JH, Colin SP, Dabiri JO (2008) Medusan morphospace: phylogenetic constraints, biomechanical solutions, and ecological consequences. *Invert Biol* 127:265–290
- Cuvier G (1799) Sur l'organisation de l'animal nommé méduse. *J Phys Chim d'Hist Nat Arts* 49:436–440.
- Cuvier G (1800) Mémoire sur l'organisation de quelques méduses. *Bull Sci, Soc Philomath Paris Tome I* 2(33):69
- Daly M, Brugler MR, Cartwright P, Collins AG, Dawson MN, Fautin DG, France SC, McFadden CS, Opresko DM, Rodriguez E, Romano SL, Stake JL (2007) The phylum Cnidaria: A review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. *Zootaxa* 1668:127–182
- Dalyell JG (1834) On the propagation of Scottish Zoophytes. *Edinburgh New Philos J* 17:411–415
- Dawson MN (2004) Some implications of molecular phylogenetics for understanding biodiversity in jellyfishes, with emphasis on Scyphozoa. *Hydrobiologia* 530–531:249–260
- Dawson MN, Hamner WM (2009) A character-based analysis of the evolution of jellyfish blooms: Adaptation and exaptation. *Hydrobiologia* 616:193–215
- Dawson MN, Jacobs DK (2001) Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa). *Biol Bull* 200:92–96
- Doty M (1961) *Acanthophora*, a possible invader of the marine flora of Hawai'i. *Pac Sci* 15:547–552
- Ehrenberg CG (1837) Über die Akalephen des Rothen Meeres und den Organismus der Medusen der Ostsee. *Abhand König Akad der Wiss Berlin* 1835:181–260
- Epstein HE, Templeman MA, Kingsford MJ (2016) Fine-scale detection of pollutants by a benthic marine jellyfish. *Mar Pollut Bull* 107:340–346

- Fewkes JW (1882) Notes on acalephs from the Tortugas, with a description of new genera and species. Bull Mus Comp Zool Harvard Coll 9:251–289
- Fleck J, Fitt W. (1999) Degrading mangrove leaves of *Rhizophora mangle* Linne provide a natural cue for settlement and metamorphosis of the upside down jellyfish *Cassiopea xamachana* Bigelow. J Exp Mar Bio Ecol 234:83–94
- Forskål P (1775) Descriptiones animalium avium, amphibiorum, piscium, insectorum, vermium; quae in itinere orientali observavit Petrus Forskål (H ex officina Mölleri, Ed.).
- Gamero-Mora E, Halbauer R, Bartsch V, Stampar SN, Morandini AC (2019) Regenerative capacity of the upside-down jellyfish *Cassiopea xamachana*. Zool Stud 58(37)
- Gegenbaur C (1856) Versuch eines Systems der Medusen, mit Beschreibung neuer oder wenig gekannter Formen; zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Fauna des Mittelmeeres. Zeit wiss Zool 8:202–273
- Gershwin L, Zeidler W, Davie PJF (2010) Medusae (Cnidaria) of Moreton Bay, Queensland, Australia. Mem Queensl Museum 54:47–108
- Gmelin JF (1791) Systema naturae per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus, differentiis, synonymis, locis (13th ed. reformata Tomus I Pars VI). Leipzig: Impensis Georg. Emanuel. Beer.
- Gohar HAF, Eisawy AM (1960a) The biology of *Cassiopea andromeda* (from the Red Sea) (with a note on the species problem). Publ Mar Biol Stn Al-Ghardaga 11:5–42
- Gohar HAF, Eisawy AM (1960b) The development of *Cassiopea andromeda* (Scyphomedusae). Publ Mar Biol Stn Al-Ghardaga 11:148–190
- Goldfarb AJ (1914) Changes in salinity and their effects upon the regeneration of *Cassiopea xamachana*. Pap Tortugas Lab Carnegie Inst 6:85–94
- Gómez-Daglio L, Dawson MN (2017) Species richness of jellyfishes (Scyphozoa: Discomedusae) in the Tropical Eastern Pacific: missed taxa, molecules, and morphology match in a biodiversity hotspot. Invert Syst 31:635–663
- Gómez-Daglio L, Dawson MN (2019) Integrative taxonomy: ghosts of past, present and future. J Mar Biol Assoc UK 99:1237–1246
- Graham WM, Bayha KM (2007) Biological Invasions by Marine Jellyfish. In: Nentwig W (ed), Biological Invasions. p.239–255
- Gray JE (1869) Habits of the Medusae. Ann Mag Nat Hist 4-Fourth:295–296
- Greenberg N, Garthwaite RL, Potts DC (1996) Allozyme and morphological evidence for a newly introduced species of *Aurelia* in San Francisco Bay, California. Mar Biol 125:401–410
- Gülşahin N, Tarkan AN (2012) Occurrence of the alien jellyfish *Cassiopea andromeda* (Scyphozoa: Rhizostomeae: Cassiopeidae) in Hisarönü Bay, Muğla, Turkey. Biharean Biol 6:132–133
- Guppy HB (1882) Habits of Scypho-Medusae. Nature 27:31
- Haeckel E (1880) Das System der Medusen. I, 2: System der Acraspeden. Gustav Fischer, Jena
- Hamlet CL, Miller LA (2012) Feeding currents of the upside down jellyfish in the presence of background flow. Bull Math Biol 74:2547–69
- Hamlet CL, Santhanakrishnan A, Miller LA (2011) A numerical study of the effects of bell pulsation dynamics and oral arms on the exchange currents generated by the upside-down jellyfish *Cassiopea xamachana*. J Exp Biol 214:1911–1921
- Hamner WM, Dawson MN (2009) A review and synthesis on the systematics and evolution of jellyfish blooms: Advantageous aggregations and adaptive assemblages. Hydrobiologia 616:161–191

- Hatai S (1917) On the composition of the medusa, *Cassiopea xamachana* and the changes in it after starvation. Proc Natl Acad Sci U S A 3:22–24
- Heins A, Glatzel T, Holst S (2015) Revised descriptions of the nematocysts and the asexual reproduction modes of the scyphozoan jellyfish *Cassiopea andromeda* (Forskål, 1775). Zoomorphology 134:351–366
- Hofmann DK, Hadfield MG (2002) Hermaphroditism, gonochorism, and asexual reproduction in *Cassiopea* sp. - An immigrant in the islands of Hawai'i. Invert Reprod Dev 41:215–221
- Hofmann DK, Neumann R, Henne K (1978) Strobilation, budding and initiation of scyphistoma morphogenesis in the rhizostome *Cassiopea andromeda* (Cnidaria: Scyphozoa). Mar Biol 47:161–176
- Holland BS, Dawson MN, Crow GL, Hofmann DK (2004) Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands. Mar Biol 145:1119–1128
- Holst S, Sötje I, Tiemann H, Jarms G (2007) Life cycle of the rhizostome jellyfish *Rhizostoma octopus* (L.) (Scyphozoa, Rhizostomeae), with studies on cnidocysts and statoliths. Mar Biol 151:1695–1710
- Holzer AS, Bartošová-Sojtková P, Born-Torrijos A, Lövy A, Hartigan A, Fiala I (2018) The joint evolution of the Myxozoa and their alternate hosts: A cnidarian recipe for success and vast biodiversity. Mol Ecol 27:1651–1666
- Hopf JK, Kingsford MJ (2013) The utility of statoliths and bell size to elucidate age and condition of a scyphomedusa (*Cassiopea* sp.). Mar Biol 160:951–960
- Hummelinck PW (1933) Zur kenntnis der Scyphomedusen-Gattung *Cassiopea*, mit besonderer Berücksichtigung westindischer Formen. Zool Jahrbuch 64:453–502
- Hummelinck PW (1968) Caribbean scyphomedusae of the genus *Cassiopea*. Stud fauna Curaçao other Caribb Islands 97:1–55
- Huxley TH (1849) XXII. On the anatomy and the affinities of the family of the medusæ. Philos Trans R Soc London 139:413–434
- Jaimes-Becerra A, Chung R, Morandini AC, Weston AJ, Padilla G, Gacesa R, Ward M, Long PF, Marques AC (2017) Comparative proteomics reveals recruitment patterns of some protein families in the venoms of Cnidaria. Toxicon 137:19–26
- Jankowski T, Collins AG, Campbell R (2008) Global diversity of inland water cnidarians. Hydrobiologia 595:35–40
- Jantzen C, Wild C, Rasheed M, El-Zibdah M, Richter C (2010) Enhanced pore-water nutrient fluxes by the upside-down jellyfish *Cassiopea* sp. in a Red Sea coral reef. Mar Ecol Prog Ser 411:117–125
- Jarms G, Morandini AC (2019) World Atlas of Jellyfish. Hamburg: Dölling und Galitz Verlag
- Kayal E, Bentlage B, Collins AG, Kayal M, Pirro S, Lavrov D V. (2012) Evolution of linear mitochondrial genomes in medusozoan cnidarians. Genome Biol Evol 4:1–12
- Kayal E, Bentlage B, Sabrina Pankey M, Ohdera AH, Medina M, Plachetzki DC, Collins AG, Ryan JF (2018) Phylogenomics provides a robust topology of the major cnidarian lineages and insights on the origins of key organismal traits. BMC Evol Biol 18:68
- Kayal E, Roure B, Philippe H, Collins AG, Lavrov D V (2013) Cnidarian phylogenetic relationships as revealed by mitogenomics. BMC Evol Biol 13:5
- Kramp PL (1955) A revision of Ernst Haeckel's determinations of a collection of medusae belonging to the Zoological Museum of Copenhagen. Deep Res 3(Suppl.):149–168
- Kramp PL (1961) Synopsis of the medusae of the world. J Mar Biol Assoc UK 40:7–469

- Kuhn K, Streit B, Schierwater B (1999) Isolation of Hox genes from the scyphozoan *Cassiopeia xamachana*: implications for the early evolution of Hox genes. *J Exp Zool* 285:63–75
- Lampert KP (2016) *Cassiopea* and Its Zooxanthellae. In: Goffredo S, Dubinsky Z (eds) *The Cnidaria, Past, Present and Future*. Springer International Publishing, Cham, p 415–423
- Lampert KP, Bürger P, Striewski S, Tollrian R (2012) Lack of association between color morphs of the Jellyfish *Cassiopea andromeda* and zooxanthella clade. *Mar Ecol* 33:364–369
- Linnaeus C (1758) *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Editio decima, reformata. Laurentius Salvius: Holmiae
- Maas O (1903) Die Scyphomedusen der Siboga Expedition. *Siboga Exped Monogr* 11:1–91
- Marques AC, Collins AG (2004) Cladistic analysis of Medusozoa and cnidarian evolution. *Invert Biol* 123:23–42
- Mayer AG (1906) On rhythmical pulsation in Scyphomedusae. Reports on investigation and projects. Year book - Carnegie Institution of Washington 5: 118
- Mayer AG (1910) *Medusae of the World Volume III. The Scyphomedusae*. Carnegie Institution of Washington, Washington
- Mayer AG (1914) Laws governing loss of weight in starving *Cassiopea*. Pap from Tortugas Lab Carnegie Inst 6:55–82
- Mayer AG (1915) The Nature of Nerve Conduction in *Cassiopea*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1:270–274
- McClendon JF (1917) The Effect of Stretching on the Rate of Conduction in the Neuro-Muscular Network in *Cassiopea*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 3:703
- McGill CJ, Pomory CM (2008) Effects of bleaching and nutrient supplementation on wet weight in the jellyfish *Cassiopea xamachana* (Bigelow) (Cnidaria: Scyphozoa). *Mar Freshw Behav Physiol* 41:179–189
- Mellas RE, McIlroy SE, Fitt WK, Coffroth MA (2014) Variation in symbiont uptake in the early ontogeny of the upside-down jellyfish, *Cassiopea* spp. *J Exp Mar Bio Ecol* 459:38–44
- Morandini AC, Stampar SN, Maronna MM, Silveira FL Da (2017) All non-indigenous species were introduced recently? The case study of *Cassiopea* (Cnidaria: Scyphozoa) in Brazilian waters. *J Mar Biol Assoc UK* 97:321–328
- Nath RD, Bedbrook CN, Abrams MJ, Basinger T, Bois JS, Prober DA, Sternberg PW, Gradinaru V, Goentoro L (2017) The Jellyfish *Cassiopea* Exhibits a Sleep-like State. *Curr Biol* 27(19):2984–2990
- Niggel W, Naumann MS, Struck U, Manasrah R, Wild C (2010) Organic matter release by the benthic upside-down jellyfish *Cassiopea* sp. fuels pelagic food webs in coral reefs. *J Exp Mar Bio Ecol* 384:99–106
- Niggel W, Wild C (2010) Spatial distribution of the upside-down jellyfish *Cassiopea* sp. within fringing coral reef environments of the Northern Red Sea: Implications for its life cycle. *Helgol Mar Res* 64:281–287
- Ohdera AH, Abrams MJ, Ames CL, Baker DM, Suescún-Bolívar LP, Collins AG, Freeman CJ, Gamero-Mora E, Goulet TL, Hofmann DK, Jaimes-Becerra A, Long PF, Marques AC, Miller LA, Mydlarz LD, Morandini AC, Newkirk CR, Putri SP, Samson JE, Stampar SN, Steinworth B, Templeman M, Thomé PE, Vlok M, Woodley CM, Wong JCY, Martindale MQ, Fitt WK, Medina M (2018) Upside-Down but Headed in the Right Direction: Review of the Highly Versatile *Cassiopea xamachana* System. *Front Ecol Evol* 6:35

- Ojimi MC, Hidaka M (2010) Comparison of telomere length among different life cycle stages of the jellyfish *Cassiopea andromeda*. *Mar Biol* 157:2279–2287
- Okamura B, Gruhl A, Bartholomew JL (2015a) Myxozoan evolution, ecology and development.
- Okamura B, Gruhl A, Reft AJ (2015b) Cnidarian Origins of the Myxozoa. In: *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, p 45–68
- Özbek EÖ, Öztürk B (2015) The new location record of *Cassiopea andromeda* (Forsskål, 1775) from Asin Bay, Gulf of Güllük, Muğla, Aegean coast of Turkey. *J Black Sea/Mediterranean Environment* 21:96–101
- Özgür E, Öztürk B (2008) A population of the alien jellyfish, *Cassiopea andromeda* (Forsskål, 1775) [Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomea] in the Ölüdeniz Lagoon, Turkey. *Aquat Inv* 3:423–428
- Pallas PS (1774) *Spicilegia Zoologica: Quibus Novae Imprimis Et Obscurae Animalium Species Iconibus, Descriptionibus Atque Commentariis Illustrantur., Fasciculus*. Berolini
- Park E, Hwang DS, Lee JS, Song JI, Seo TK, Won YJ (2012) Estimation of divergence times in cnidarian evolution based on mitochondrial protein-coding genes and the fossil record. *Mol Phylogenet Evol* 62(1):329–345
- Perkins HF (1908) Notes on medusae of the western Atlantic. *Pap Tortugas Lab Carnegie Inst Wash* 1:135–149
- Péron F, Lesueur CA (1810) Tableau des caractères génériques et spécifiques de toutes les espèces de Méduses connues jusqu'à ce jour. *Ann Mus Nat d'Hist Nat Paris* 14:325–366
- Purcell J, Uye S, Lo W (2007) Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Mar Ecol Prog Ser* 350:153–174
- Radwan FFY, Román LG, Baksi K, Burnett JW (2005) Toxicity and mAChRs binding activity of *Cassiopea xamachana* venom from Puerto Rican coasts. *Toxicon* 45:107–12
- Rao H (1931) Notes on scyphomedusae in the Indian museum. *Rec Indian Mus* 33:25–62
- Sars M (1841) Ueber die Entwicklung der *Medusa aurita* und der *Cyanea capillata*. *Arch für Naturgeschichte* 7:9–34
- Schiariti A, Morandini A, Jarms G, Glehn Paes R von, Franke S, Mianzan H (2014) Asexual reproduction strategies and blooming potential in Scyphozoa. *Mar Ecol Prog Ser* 510:241–253
- Schroth W, Jarms G, Streit B, Schierwater B (2002) Speciation and phylogeography in the cosmopolitan marine moon jelly, *Aurelia* sp. *BMC Evol Biol* 2:1–10
- Schultze LS (1898) Rhizostomen von Ambon. *Denkschr Med Naturwiss Gesellsch Jena* 8:443–466
- Siokou I, Ateş AS, Ayas D, Souissi J Ben, Chatterjee T, Dimiza M, Durgham H, Dogrammatzi K, Erguden D, Gerakaris V, Grego M, Issaris Y, Kadis K, Katağan T, Kapiris K, Katsanevakis S, Kerkhof F, Papastergiadou E, Pešić V, Polychronidis L, Rifi M, Salomidi M, Sezgin M, Triantaphyllou M, Tsiamis K, Turan C, Tziortzis I, D'acoz C, D'udekem, Yaglioglu D, Zaouali J, Zenetos A (2013) New Mediterranean Marine biodiversity records. *Mediterr Mar Sci* 14:238–249
- Smith HG (1936) Contribution to the Anatomy and Physiology of *Cassiopea Frondosa*. *Pap Tortugas Lab Carnegie Inst* 31:19–52
- Stiasny G (1921) Studien über Rhizostomeen mit besonderer berücksichtigung der Fauna des Malaiischen Archipels nebst einer revision des Systems. *Capita Zool* 1:1–179
- Stiasny G (1923) Ergebnisse der Nachuntersuchung einiger Rhizostomeen-typen Ehrenberg's, Haeckel's und Vanhöffen's aus den Zoologischen Museen im Berlin und Königsberg. *Zool Meded* 7:225–242

- Stiasny G (1924) Ueber einige von Dr. C. J. van der Horst bei Curaçao gesammelte Medusen. *Bijdr tot Dierkd* 23:83–92
- Stiasny G (1926) Über einige Scyphomedusen von Puerto Galera, Mindoro (Philippinen). *Zool Meded* 9:239–248
- Stiasny G (1933) Ueber *Cassiopea ndrosia* Ag + May aus den australischen Gewässern. *Proc R Acad Sci Amsterdam* 36:913–922
- Stockard C (1908) Studies of tissue growth I. An experimental study of the rate of regeneration in *Cassiopea xamachana*. *Pap Tortugas Lab Carnegie Inst Wash* 2:61–102
- Stoner EW, Layman CA, Yeager LA, Hassett HM (2011) Effects of anthropogenic disturbance on the abundance and size of epibenthic jellyfish *Cassiopea* spp. *Mar Pollut Bull* 62:1109–1114
- Stoner EW, Yeager LA, Sweatman JL, Sebilian SS, Layman CA (2014) Modification of a seagrass community by benthic jellyfish blooms and nutrient enrichment. *J Exp Mar Bio Ecol* 461:185–192
- Straehler-Pohl I (2009) Die Phylogenie der Rhopaliophora und die Paraphylie der ‘Rhizostomeae.’ Universität Hamburg
- Straehler-Pohl I (2017) Cubozoa and Scyphozoa: The results of 20 years of scyphozoan life cycle research with new results on cubozoan life cycles to suggest a new nomenclature referring to both classes. In: Toyokawa M, Miyake H, Nishikawa J (eds) *Frontiers in ecological studies of jellyfish*. Seibutsu Kenkyu Sha Co. Ltd. (Organisms Research Co. Ltd.), Tokyo, p 17–29
- Templeman MA, Kingsford MJ (2012) Variation in soft tissue chemistry among scyphozoan and cubozoan jellyfishes from the Great Barrier Reef, Australia. *Hydrobiologia* 690:279–290
- Templeman MA, Kingsford MJ (2015) Predicting aqueous copper and zinc accumulation in the upside-down jellyfish *Cassiopea maremetens* through the use of biokinetic models. *Environ Monit Assess* 187:416
- Thiel H (1966) The evolution of the Scyphozoa, a review. In: Rees WJ (ed) *Cnidaria and Their Evolution*. Academic Press, London, p 77–117
- Thiel ME (1970) Über den zweifachen stammesgeschichtlichen (“biphyletischen”) Ursprung der Rhizostomae (Scyphomedusae) und ihre Aufteilung in die zwei neuen Ordnungen Cepheida und Rhizostomida. *Abh Verh Naturwiss Vereins Hamb* 14:145–168
- Thiel ME (1975) Bemerkungen zur Systematik der Gattung *Cassiopea*. *Mitt Hamb Zool Mus Inst* 72:25–46
- Tilesius WG (1831) Beiträge zur Naturgeschichte der Medusen. I. Cassiopeae. *Nova Acta Physico-Medica Acad Caesareae Leopoldino-Carolinae Naturae Curiosorum* 15:247–288
- Todd BD, Thornhill DJ, Fitt WK (2006) Patterns of inorganic phosphate uptake in *Cassiopea xamachana*: a bioindicator species. *Mar Pollut Bull* 52:515–21
- Torres M, Aguilar MB, Falcón A, Sánchez L, Radwan FFY, Burnett JW, Heimer-de la Coteria EP, Arellano RO (2001) Electrophysiological and hemolytic activity elicited by the venom of the jellyfish *Cassiopea xamachana*. *Toxicon* 39:1297–1307
- Uchida T (1926) The anatomy and development of Rhizostome Medusa, *Mastigias papua* L. Agassiz, with observations on the phylogeny of Rhizostomae. *J Fac Sci Univ Tokyo* 4:45–95
- Vanhöffen E (1888) Untersuchungen über semäostome und rhizostome Medusen. *Bibl Zool* 1:5–52
- Van Iten H, Marques AC, Leme J de M, Pacheco MLAF, Simões MG (2014) Origin and early diversification of the phylum Cnidaria Verrill: major developments in the analysis of the taxon’s Proterozoic-Cambrian history (A Smith, Ed.). *Palaeontology* 57:677–690
- Van Iten H, Moraes Leme J de, Simões MG, Marques AC, Collins AG (2006) Reassessment of the phylogenetic position of conulariids (?Ediacaran-Triassic) within the subphylum medusozoa (phylum Cnidaria). *J Syst Palaeontol* 4:109–118

- Verde EA, McCloskey LR (1998) Production, respiration, and photophysiology of the mangrove jellyfish *Cassiopea xamachana* symbiotic with zooxanthellae: Effect of jellyfish size and season. *Mar Ecol Prog Ser* 168:147–162
- von Lendenfeld R (1888) Über Coelenteraten der Südsee. VII. Die australischen rhizostomen Medusen. *Zeit für Wiss Zool* 47:201–324
- Wagner R (1841) *Icones Zootomicae: Handatlas zur vergleichenden Anatomie nach fremden und eigenen Untersuchungen*. Leopold Voss, Leipzig
- Weeks C, Meagher S, Willink P, McCravy KW (2019) Does seawater acidification affect zooxanthellae density and health in the invasive upside-down jellyfish, *Cassiopea* spp.? *Invert Biol* 138
- Werner B (1973) New investigations on systematics and evolution of the class Scyphozoa and the phylum Cnidaria. *Publ Seto Mar Biol Lab* 20:35–61
- Zeleny C (1907) The effect of degree of injury, successive injury and functional activity upon regeneration in the scyphomedusan, *Cassiopea xamachana*. *J Exp Zool* 5:265–274
- Zenetos A, Katsanevakis S, Poursanidis D, Crocetta F, Damalas D, Apostolopoulos G, Gravili C, Vardala-Theodorou E, Malaquias M (2011) Marine alien species in Greek Seas: Additions and amendments by 2010. *Mediterr Mar Sci* 12:95–120

Capítulo 5

Discussão Geral e Conclusões

O uso de dados de moleculares tem sido um elemento chave para o reconhecimento e identificação de espécies em cifozoários (Gómez-Daglio & Dawson 2017), como em muitos outros taxa. Seu uso começou no início do século XX (Dawson & Jacobs 2001) e tem se expandido notoriamente nos últimos anos, isso dada à crescente acessibilidade a serviços de sequenciamento e também pelo contínuo reconhecimento de dificuldades associadas ao uso de outras abordagens. Por exemplo, o estabelecimento de limites, entre espécies de cifozoários, mediante morfologia é dificultado, e até impossibilitado, pela (1) ampla variação fenotípica, (2) presença de complexos de espécies e (3) escassez de características diagnósticas (Souza & Dawson 2018). Do mesmo modo, análises baseadas em caracteres morfológicos contínuos e merísticos têm mostrado resultados às vezes pouco úteis para a delimitação de espécies de cifozoários (Lawley 2018).

A família monotípica Cassiopeidae inclui medusas nas quais diferentes autores comentam que a distinção específica é uma tarefa complicada (Browne 1905, Mayer 1910, Stiasny 1921, Holland et al. 2004, Morandini et al. 2017). Seguindo um abordagem filogenética e filogeográfica para o gênero baseada em dados moleculares do gene Citocromo c oxidase I, Holland et al. (2004) reconheceram seis clados no grupo interno. Três deles foram atribuídos a morfoespécies já descritas na literatura (*Cassiopea andromeda*, *C. frondosa*, *C. ornata*). Enquanto que os outros três, considerados espécies não descritas, foram identificados como *Cassiopea* sp. 1, *Cassiopea* sp. 2 e *Cassiopea* sp. 3. Do mesmo modo, subsequentemente outras três espécies, não formalmente descritas, foram reconhecidas e propostas: *Cassiopea* sp. 4, *Cassiopea* sp. 5 e *Cassiopea* sp. 6 (Arai et al. 2017). A espécie *C. xamachana* foi atribuída ao clado grupo irmão de *C. andromeda* (Gamero-Mora et al. 2019).

A análise filogenética baseada em uma matriz concatenada de 5 genes para espécimes de *Cassiopea* das três bacias oceânicas, permitiu-nos delimitar 17 clados, o que quer dizer que acrescentamos 47% à diversidade de clados de *Cassiopea* anteriormente reconhecidos e recuperados (Holland et al. 2004, Arai et al. 2017). A maioria das novas hipóteses de espécies aqui propostas, estão distribuídas no *East Indies Triangle*, o qual abriga uma grande diversidade de metazoários incluindo corais, moluscos, equinodermos, peixes, etc., (Briggs 2005). Além disso, encontramos a maior diversidade haplotípica na mesma área, e dado que a maioria dos taxa irmãos de *Cassiopea* (o quais definimos em uma análise filogenética feita para avaliar a posição de Cassiopeidae dentro de

Rhizostomeae) se encontram distribuídos na mesma área, foi possível fornecer evidências que suportam uma origem Indo-Pacífica para Cassiopeidae, e de discutir alguns padrões biogeográficos do grupo.

Uma das problemáticas associada com a delimitação de espécies baseada em dados moleculares (seja baseada na topologia da árvore e comprimento dos ramos, em métodos de delimitação de espécies baseados em distâncias ou em árvores, etc.), incluindo nosso trabalho, é que normalmente são propostas “espécies” que não são descritas formalmente. Infelizmente isso significa que não existe uma transição entre delimitação e descrição de espécies, criando-se assim mundos paralelos povoados por espécies não nomeadas mas apenas numeradas (Jörger & Schrödl 2013).

Nosso ponto de vista, no caso de cifozoários e particularmente de *Cassiopea*, esta problemática está relacionada com a carência de espécimes *vouchers* (ou de metadados que permitam determinar a sua existência) que possam servir como material tipo ou outros que permitam sua descrição de acordo com as regras do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN 1999). Como parte das considerações finais recomendamos primordialmente que sejam armazenados espécimes a partir dos quais o DNA é extraído, ou que sejam consideradas, a critério dos autores, outras alternativas para a descrição de espécies. Por exemplo, Lawley (2018) basearam a descrição de espécies em extrações de DNA e tecidos como material tipo, e nucleotídeos como caracteres diagnósticos.

Como mencionado anteriormente, o estudo da morfologia *per se* de *Cassiopea* tem sido definido como problemático para a delimitação de espécies. Abordagens consideradas para o estudo da variação morfológica entre espécies crípticas de outros cifozoários tem se baseado na identificação das espécies *a priori* usando critérios moleculares (Dawson 2003). Assim, paralelamente dados do **Capítulo 2** permitiram sustentar ou guiar algumas das decisões taxonômicas encontradas no **Capítulo 3**.

Das 11 espécies nominais de *Cassiopea* (Jarms & Morandini 2019): oito são consideradas válidas: *C. frondosa*, *C. andromeda*, *C. mertensi*, *C. ornata*, *C. picta*, *C. xamachana*, *C. ndrosia*, *C. maremetens*; e foram designados neótipos para seis delas. Uma sinonímia é proposta: *C. vanderhorsti* é considerada sinônimo de *C. xamachana*. *Cassiopea depressa* é considerada *species inquirenda*. *Cassiopea medusa* é considerada *nomen dubium*. Duas espécies novas são propostas e descritas: *C. appendicula* [Localidade-tipo: Subic Bay, Luzon Island, Filipinas] e *C. ongaeli* [Ongaël Lake, Palau, Oceania].

Durante a análise e coleta de amostras para as análises morfológicas e molecular, tivemos a oportunidade de acompanhar um evento de regeneração bastante particular em dois espécimes de *C. xamachana*, que não tinha sido registrado anteriormente em cifomedusas. Tal evento foi descrito no **Capítulo 4** e esteve baseado no uso de aspectos morfológicos e moleculares, e nos permitiu apresentar um outro aspecto além da sistemática de *Cassiopea* foco desta tese.

Em conjunto, os dados levantados permitiram um estudo integrado da sistemática de *Cassiopea*. A integração dos dados foi de certa forma limitada, uma vez que os dados não foram analisados em conjunto em uma análise de evidência total. Isso não foi possível pois não existem dados moleculares para a grande maioria dos exemplares depositados em museus, e por não termos *vouchers* morfológicos para todos os espécimes representados molecularmente; tal abordagem de nossa parte teria resultado em uma matriz de dados com elevado índice de *missing data*. Reconhecemos a importância de estudos integrativos, mas é evidente que deve existir um equilíbrio entre as observações realizada para cada um dos indivíduos considerados nas análises.

Dentro da ordem Rhizostomeae não existem tradicionalmente revisões sistemáticas abordando gêneros (van der Maaden 1935). E é curioso que nos últimos 50 anos apenas foram descritas 7 novas espécies de Rhizostomeae (*Rhopilema nomadica* Galil et al., 1990, *Eupilema inexpectata* Pages, Gili & Bouillon, 1992; *Netrostoma nuda* Gershwin & Zeidler, 2008; *Cassiopea maremetens* Gershwin, Zeidler & Davie, 2010; *Marivagia stellata* Galil & Gershwin 2010; *Bazinga rieki* Gershwin & Davie, 2013; *Crambionella helmbiru* Nishikawa, Mulyadi & Ohtsuka, 2014). Assim, ainda com os desafios anteriormente mencionados, de forma geral, podemos concluir que o conjunto de resultados desta tese contribui para o entendimento da sistemática e biogeografia do gênero *Cassiopea*. O qual, esperamos seja de utilidade para fortalecer o componente sistemático de futuros estudos que envolvam estas medusas, que são reconhecidas como organismos modelo e também pela sua importância ecológica. Igualmente, esperamos que este trabalho promova estudos futuros que possam fortalecer o conhecimento do grupo, implementando novas técnicas de análises e integração de outras evidências que permitam responder não só novas perguntas, mas também questões históricas que não foram resolvidas ainda.

Referências

- Arai Y, Gotoh RO, Yokoyama J, Sato C, Okuizumi K, Hanzawa N .2017. Phylogenetic relationships and morphological variations of upside-down jellyfishes, *Cassiopea* spp. inhabiting Palau Islands. *Biogeography* 19:133–141.
- Briggs JC .2005. The marine East Indies: diversity and speciation. *J Biogeogr* 32:1517–1522.
- Browne .1905. Scyphomedusae. *Fauna Geogr Maldive Laccadive Arch* 2:958–971.
- Dawson MN. 2003. Macro-morphological variation among cryptic species of the moon jellyfish, *Aurelia* (Cnidaria: Scyphozoa). *Mar Biol* 143:369–379.
- Dawson MN, Jacobs DK .2001. Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa). *Biol Bull* 200:92–96.
- Dawson MN, de Souza MR .2018. Redescription of *Mastigias papua* (Scyphozoa, Rhizostomeae) with designation of a neotype and recognition of two additional species. *Zootaxa* 4457:520–536.
- Gamero-Mora E, Halbauer R, Bartsch V, Stampar SN, Morandini AC .2019. Regenerative Capacity of the Upside-down Jellyfish *Cassiopea xamachana*. *Zool Stud* 58:37.
- Gómez-Daglio L, Dawson MN .2017. Species richness of jellyfishes (Scyphozoa : Discomedusae) in the Tropical Eastern Pacific: missed taxa, molecules, and morphology match in a biodiversity hotspot. *Invertebr Syst* 31:635–663.
- Holland BS, Dawson MN, Crow GL, Hofmann DK. 2004. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands. *Mar Biol* 145:1119–1128.
- ICZN.1999. International code of zoological nomenclature (4th ed.). London: ITZN.
- Jarms G, Morandini AC. 2019. *World Atlas of Jellyfish* (1st ed.). Hamburg: Dölling und Galitz Verlag.
- Jörger KM, Schrödl M. 2013. How to describe a cryptic species? Practical challenges of molecular taxonomy. *Front Zool* 10:59.
- Lawley JW .2018. Delimitation and description of cryptic species: lessons from the systematics of *Aurelia* (Cnidaria, Scyphozoa). Universidade de São Paulo. MSc dissertation.
- van der Maaden H. 1935. Kritische bemerkungen über die beschriebenen Arten der rhizostomeengattung *Acromitus*. *Zool Meded* 18:228–236.
- Mayer AG .1910. *Medusae of the World Volume III. The Scyphomedusae*. Carnegie Institution of Washington, Washington.
- Morandini AC, Stampar SN, Maronna MM, Da Silveira FL .2017. All non-indigenous species were introduced recently? The case study of *Cassiopea* (Cnidaria: Scyphozoa) in Brazilian waters. *J Mar Biol Assoc UK* 97:321–328.
- Stiasny G .1921. Studien über Rhizostomeen mit besonderer berücksichtigung der Fauna des Malaiischen Archipels nebst einer revision des Systems. *Capita Zool* 1:1–179.