



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

ISADORA BOSCO

**Sistemática do gênero *Acanthodasys* Remane, 1927 na costa brasileira
(Gastrotricha, Macrodasysida, Thaumastodermatidae)**

**Systematics of the genus *Acanthodasys* Remane, 1927 from Brazilian coast
(Gastrotricha, Macrodasysida, Thaumastodermatidae)**

CAMPINAS

2019

ISADORA BOSCO

**Sistemática do gênero *Acanthodasys* Remane, 1927 na costa brasileira
(Gastrotricha, Macrodasysida, Thaumastodermatidae)**

**Systematics of the genus *Acanthodasys* Remane, 1927 from Brazilian coast
(Gastrotricha, Macrodasysida, Thaumastodermatidae)**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual de
Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Mestra
em Biologia Animal, na Área de
Biodiversidade Animal.*

*Dissertation presented to the Institute of
Biology of the University of Campinas in
partial fulfillment of the requirements for the
degree of Master in Animal Biology, in the
area of Animal Biodiversity.*

Orientador: Prof. Dr. André Rinaldo Senna Garraffoni

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA
ISADORA BOSCO E ORIENTADA PELO PROF. DR.
ANDRÉ R. S. GARRAFFONI

CAMPINAS

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira – CRB 8/6972

Bosco, Isadora, 1993 –

B651s Sistemática do gênero *Acanthodasys* Remane, 1927 na costa brasileira (Gastrotricha, Macrodasyida, Thaumastodermatidae) / Isadora Bosco. – Campinas, SP: [s.n.], 2019.

Orientador: André Rinaldo Senna Garraffoni.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Nova espécie. 2. Gastrotricha – Classificação. 3. Meiofauna. 4. Invertebrado marinho. I. Garraffoni, André Rinaldo Senna, 1977 –. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Systematics of the genus *Acanthodasys* Remane, 1927 from Brazilian coast (Gastrotricha, Macrodasyida, Thaumastodermatidae)

Palavras-chave em inglês: New species, Gastrotricha - Classification, Meiofauna, Marine invertebrates

Área de concentração: Biodiversidade Animal

Titulação: Mestra em Biologia Animal

Banca examinadora:

André R. S. Garraffoni [Orientador]

Tatiana Menchini Steiner

José Paulo Leite Guadanucci

Data de defesa: 03-07-2019

Programa de Pós-graduação: Biologia Animal

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-4857-3353>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/4768524913025813>

Campinas, 03 de Julho de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. André Rinaldo Senna Garraffoni

Profa. Dra. Tatiana Menchini Steiner

Prof. Dr. José Paulo Leite Guadanucci

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, família e namorado por serem os maiores incentivadores do meu estudo e que, pacientemente, me compreenderam e contribuíram para a conclusão desta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) pela infraestrutura oferecida durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UNICAMP, por colaborar com a minha qualificação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro ao projeto.

Ao Prof. Dr. André R. S. Garraffoni pela orientação, apoio, confiança, paciência e todo o conhecimento passado para que eu pudesse realizar o meu projeto.

Aos meus pais, Silvia H. Moreira e Celso H. Bosco, irmã, Isabela Bosco, e namorado, Gustavo M. Rodrigues, que sempre me apoiaram e tiveram muita paciência em ouvir sobre os Gastrotricha durante esses anos de trabalho.

Ao meu pai, Celso H. Bosco, que me ajudou muito com os programas de computador para as fotos e desenhos do meu projeto.

Aos amigos do LEOM (Laboratório de Evolução de Organismos Meiofaunais) pela experiência de laboratório dividida, cafézinhos da tarde, desabafos e companheirismo.

Ao amigo Thiago Araújo pela ajuda com a técnica e interpretações de confocal, pela paciência em tirar minhas dúvidas, brincadeiras e conversas jogadas fora.

À amiga Ariane Campos pela ajuda com os procedimentos de Microscopia Eletrônica de Varredura, com o desenho científico dos Gastrotricha, os bate-papos durante o dia e companheirismo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“O maior inimigo do conhecimento não é a ignorância, mas a ilusão do conhecimento.”

(Stephen Hawking)

“A paixão, a beleza e a alegria da ciência é que nós humanos inventamos um processo para entender o universo de uma maneira que seja verdadeira para todos. Estamos encontrando verdades universais.”

(Bill Nye)

“Quando investigamos cientificamente o mundo natural, a única coisa pior do que um crente cego é um negador que vê.”

(Neil deGrasse Tyson)

RESUMO

Gastrotricha é um filo de animais microinvertebrados encontrados no interstício de ambientes dulcícolas e marinhos. O táxon é tradicionalmente dividido em duas ordens: Macrodasyida e Chaetonotida. A ordem Macrodasyida é composta por cerca de 350 espécies de aparência vermiforme, que habitam majoritariamente o ambiente marinho e, nela está contido o gênero protagonista deste estudo, *Acanthodasys* Remane, 1927. Devido ao seu diminuto tamanho e fragilidade do corpo, o estudo dos gastrótricos torna-se difícil e por isso é um grupo pouco conhecido. Além disso, existe um pequeno número de especialistas taxonômicos no grupo e um grande número de espécies a serem descritas e identificadas (um problema chamado de “impedimento taxonômico”), portanto, não é de se estranhar que a fauna brasileira de Gastrotricha em habitats marinhos era desconhecida até poucos anos atrás. No entanto, estudos mais recentes revelaram uma nova diversidade de gastrótricos ao longo das costas do norte do estado de São Paulo e na região sul do estado do Rio de Janeiro. Dessa forma, este trabalho tem a finalidade de descrever duas espécies novas de *Acanthodasys* encontradas no litoral Norte do Estado de São Paulo, sendo estas as primeiras descrições de espécies pertencentes à esse gênero no Hemisfério Sul. Para realizar tais descrições foram usados o maior número de técnicas morfológicas (microscopia eletrônica de varredura e transmissão - MEV e MET, microscopia de varredura laser confocal) e técnicas moleculares visando uma análise detalhada e comparativa das estruturas morfológicas externas e internas. Assim, espera-se contribuir efetivamente para a expansão do conhecimento do grupo Gastrotricha na costa brasileira.

ABSTRACT

Gastrotricha is a phylum of microinvertebrates found in the interstice of freshwater and marine environments. They are traditionally divided into two orders: Macrodasysida and Chaetonotida. The order Macrodasysida is composed approximately of 350 species of worm-like animals, that inhabit majority the marine environment and contains the genus *Acanthodasys* Remane, 1927, the focus of this study. Due to their diminutive size and fragility of the body, the study of gastrotrichs is difficult being one of the lesser-known taxa. In addition, just a small number of taxonomic specialists in face of a large number of species to be described and identified depicts a problem called "taxonomic impediment". Therefore, it is not surprising that the Brazilian gastrotrich fauna in marine habitats was completely unknown until a few years ago. However, recent studies have revealed a hidden diversity of gastrotrichs along the coasts of the northern state of São Paulo and the southern state of Rio de Janeiro. Thus, this work aims to describe two new species of *Acanthodasys* found in the northern coast of São Paulo State, which are the first descriptions of species belonging to this genus in the Southern Hemisphere. To perform such descriptions, the largest number of morphological techniques (scanning and transmission electron microscopy - SEM and MET, confocal laser scanning microscopy) and molecular techniques were used aiming at a detailed and comparative analysis of the external and internal morphological structures. Thus, it is expected to contribute effectively to the expansion of knowledge of the group Gastrotricha in the Brazilian coast.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	11
II. OBJETIVOS	15
III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
IV. CAPÍTULO I	21
When more is better: description of a new species of <i>Acanthodasys</i> Remane, 1927 (Gastrotricha, Macrotrichida, Thaumastodermatidae) based on four distinct morphological techniques and molecular data	21
V. CAPÍTULO II	52
<i>Acanthodasys</i> sp2 nov., uma nova espécie de Thaumastodermatidae (Gastrotricha, Macrotrichida) da costa norte do Estado de São Paulo, Brasil.....	52
VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
VIII. ANEXOS	84
Anexo I	84
Anexo II	85

I. INTRODUÇÃO

O Filo Gastrotricha é composto por microinvertebrados aquáticos, geralmente entre 200 e 500 μm de comprimento (mas podendo ter representantes de 80 a 3500 μm), considerados componentes importantes e constantes da região bentônica, em habitats marinhos e de água doce (Cerca *et al.*, 2018). São considerados animais meiofaunais (organismos que podem passar por uma peneira de 0,5 mm a 1 mm, mas são retidos por peneiras de 0,044 - 0,063 mm), mas não exclusivamente pois vários representantes, quando adultos (principalmente os representantes marinhos), podem chegar à um tamanho maior (Giere, 2009).

Os membros do Filo Gastrotricha são hipotetizados como um importante elo entre a fauna microbiana e os invertebrados maiores de habitats aquáticos. Alimentam-se de bactérias, algas, protozoários, detritos e pequenas partículas orgânicas, que são sugadas pela boca por meio de contrações da faringe (Kånnby & Hochberg, 2015). A meiofauna está presente não apenas entre os grãos de areia, mas também nos sedimentos de fundo macio como, por exemplo, fundos lamaçados de rios. Mesmo que a maior parte dos animais se concentre no centímetro superior dos extratos do sedimento, a meiofauna pode penetrar bem abaixo, especialmente na areia (Gerlach, 1971). São características da meiofauna apresentar muitos descendentes, ter um curto ciclo de vida, ausência de estágios de dispersão e possuir uma limitada capacidade de natação (Todaro *et al.*, 2003; Garraffoni *et al.*, 2016).

O grupo dos Gastrotricha ainda é pouco conhecido, possivelmente devido ao seu diminuto tamanho e fragilidade do corpo, o que torna difícil o seu estudo (Balsamo *et al.*, 2008). O estudo taxonômico desse grupo teve início há pouco menos de 250 anos, por Müller (1773). Porém, o conhecimento atual provém de uma das maiores contribuições para o grupo, que é derivado principalmente do trabalho de Remane, que em 1936 realizou um estudo com todo o conhecimento sobre a sistemática do grupo. O táxon foi classificado como um grupo à parte, pertencente ao grupo “Aschelminthes”, ainda não sendo considerado um Filo propriamente dito na época (Boaden, 1963).

Atualmente, o Filo Gastrotricha contém cerca de 850 espécies descritas no mundo, com representantes dulcícolas, marinhos e estuarinos (Balsamo *et al.*,

2015; Todaro, 2019). Tradicionalmente, o táxon é dividido em duas ordens: Macrodasysida e Chaetonotida. A ordem Macrodasysida é composta por cerca de 350 espécies, que vivem intersticialmente na areia de ecossistemas marinhos (exceto por quatro espécies de água doce - Ruttner-Kolisko, 1955; Kisielowski, 1987; Garraffoni *et al.*, 2010; 2019; Todaro *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2013; Kåneby & Wicksten, 2014; Kåneby & Kirk, 2017). Por outro lado, a ordem Chaetonotida possui mais de 450 espécies com uma forma geral de corpo chamada de “pino de boliche”, habitam em sua maioria a água doce (apenas um terço das espécies são marinhas), sendo um componente comum do bentos, do perifíton e, em menor grau, do intersticial. A ordem Macrodasysida é composta atualmente por 365 espécies descritas, que estão classificadas em 35 gêneros e 10 famílias (Todaro, 2019). Entre as 10 famílias pertencentes a esta ordem, Thaumastodermatidae se destaca como a família mais especiosa (Todaro *et al.*, 2011b). Tal família é dividida em duas subfamílias: Thaumastodermatinae - a qual é formada pelos gêneros *Hemidasys*, *Oregodasys*, *Pseudostomella*, *Ptychostomella*, *Tetranchyroderma* e *Thaumastoderma*, e Diplodasyinae – na qual se encontra *Acanthodasys* e *Diplodasys* (Hummon & Todaro, 2010; Todaro *et al.*, 2011b).

Os membros da subfamília Diplodasyinae podem ser distinguidos, principalmente, por apresentarem testículos pareados e órgão frontal e caudal anatomicamente e funcionalmente disjuntos (Todaro & Hummon, 2008). Com base nisso, dentro desta subfamília, o gênero *Acanthodasys*, Remane 1927 é caracterizado por apresentar o corpo coberto por uma cutícula composta de escamas com espinhos (chamados de “*uniancres*”), presença de poros faríngeos e, geralmente, vários tubos adesivos presentes nas partes anterior, lateral e posterior do corpo (Todaro & Hummon, 2008; Balsamo *et al.*, 2015).

Em geral os gastrótricos são incolores, via de regra os representantes da ordem Macrodasysida são maiores (200–3000 µm de comprimento) e mais volumosos do que os da ordem Chaetonotida, e ambos possuem o lado ventral do corpo composto por cílios locomotores (o que dá o nome ao grupo: do grego *gaster*, estômago; *trichos*, pêlo). Os macrodasídeos apresentam um poro faríngeo de cada lado situados na parte posterior da faringe (que permitem que o excesso de água seja drenado durante a alimentação), tubos adesivos distribuídos ao longo do corpo, na região anterior, lateral, dorsal, ventrolateral e posterior do corpo (para se aderirem ao sedimento) (Yamauchi & Kajihara, 2018; Garraffoni *et al.*, 2016). Os

representantes da ordem Macrotrachida também possuem a aparência “vermiforme”, o lúmen da faringe na forma de “Y” invertido e são hermafroditas (Hummon & Todaro, 2010; Kienke & Schmidt-Rhaesa, 2014; Todaro & Hummon, 2008).

Já os quetodontídeos são caracterizados por apresentarem uma constrição no pescoço que separa a cabeça da região do tronco, placas cuticulares na região da cabeça, tufo cefálico sensitivo (em alguns casos) e, na maioria das espécies, uma furca de tubos adesivos na extremidade da região posterior (Kanneby & Hochberg, 2015). Os quetodontídeos são pequenos (60-770 µm de comprimento) e possuem poucos tubos adesivos (apenas na extremidade posterior). Possuem o lúmen da faringe na forma de “Y” e se reproduzem majoritariamente por partenogênese (quando a reprodução ocorre sem a fertilização por parte do macho) (Balsamo *et al.*, 2008; 2014; Kanneby & Hochberg, 2015). Estruturas cuticulares são extremamente importantes na identificação de espécies, são encontradas nos representantes das duas ordens e consistem em escamas e espinhos de diferentes formas e tamanhos (Kanneby & Hochberg, 2015).

No decorrer das pesquisas dos gastrótricos, devido à presença de especialistas alocados principalmente em universidades europeias, foi natural que os organismos marinhos e dulcícolas fossem mais conhecidos nesse continente (Balsamo *et al.* 2008, 2014; Garraffoni & Balsamo, 2017). Alguns países, principalmente no Hemisfério Sul, com a presença de uma área substancial de terra, como o Brasil, receberam atenção significativa, enquanto outros, como Argentina (e.g. Grosso & Draht, 1984; 1986; 1991), Austrália (e.g. Hochberg, 2003; 2009), Índia (e.g. Chatterjee *et al.*, 2019) e a maior parte da África (e.g. Todaro *et al.*, 2011a; 2013), receberam apenas estudos superficiais. O grupo possui uma distribuição geográfica considerada cosmopolita, onde este tem sido relatado em todos os principais continentes (Kanneby & Hochberg, 2015).

Há pouco mais de uma década, os habitats marinhos do Brasil eram desconhecidos para a fauna de Gastrotricha. No entanto, estudos mais recentes revelaram uma diversidade ainda não conhecida do grupo ao longo das costas do norte do estado de São Paulo, ao sul do estado do Rio de Janeiro (Todaro & Rocha, 2004, 2005; Hochberg, 2014; Garraffoni *et al.*, 2016, 2017) e no litoral sul do Estado da Bahia e Espírito Santo, respectivamente, amostrado e estudado por Araújo *et al.*

(2014, 2016). Contudo, apesar da intensificação dos estudos no grupo, mais de 95% da costa brasileira nunca foi amostrada (Garraffoni *et al.*, 2016).

Existem alguns parâmetros que influenciam na composição e distribuição dos gastrótricos brasileiros. No trabalho de Garraffoni *et al.* (2016), pode-se observar que a composição das espécies marinhas de Gastrotricha e a sua diversidade estão correlacionadas com a localização, área de maré e tamanho médio dos grãos no sedimento em que se encontram. Diferentes espécies são adaptadas a tamanhos específicos de grãos devido a pressões seletivas associadas com certas características morfológicas (por exemplo, número e posição de tubos adesivos e forma do corpo).

A descrição da variabilidade morfológica é essencial para garantir uma delimitação morfológica confiável das espécies, principalmente para Gastrotricha como, por exemplo, a descrição e representação de estruturas superficiais presentes no dorso e no ventre do corpo (diferenciações cuticulares, cílios e tubos adesivos) e da anatomia interna (vista sob o microscópio de luz). Alguns métodos mais sofisticados disponíveis atualmente nos permitem realizar investigações estruturais mais detalhadas (por exemplo, técnicas microscópicas avançadas como, contraste diferencial de interferência - DIC, e microscopia eletrônica de varredura – MEV), sendo possível descrever espécies utilizando-se métodos integrativos (Kieneke & Nikoukar, 2017).

Existe um problema, especialmente grande para a meiofauna, chamado de “impedimento taxonômico”, que se reflete no pequeno número de taxonomistas do grupo diante do grande número de espécies a serem descritas e identificadas. Essa escassez de conhecimentos taxonômicos disponíveis é uma das razões para a grande diversidade não descrita, que é característica da maioria dos táxons meiofaunais (Fontaneto *et al.*, 2015). A necessidade de se conhecer as inúmeras espécies ainda desconhecidas tem feito com que novas tecnologias (como por exemplo técnicas com o uso do DNA), tenham surgido como propostas para revitalização da taxonomia e da descrição de novas espécies. Por isso, para um maior entendimento, contamos também com a Taxonomia Integrativa (Dayrat, 2005; Pires & Marinoni, 2010).

Visto isso, com a finalidade de expandir o conhecimento taxonômico sobre o grupo Gastrotricha, neste trabalho foram utilizadas técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura e Transmissão (MEV e MET), Microscopia de Varredura Laser Confocal e técnicas moleculares, que possibilitaram uma análise detalhada e comparativa das estruturas morfológicas externas e internas das espécies, para a realização da descrição de duas espécies novas de *Acanthodasys* encontradas na região de Ilhabela/SP, que estão apresentadas em dois artigos separados nesta dissertação (Capítulo I e Capítulo II).

II. OBJETIVOS

Realizar a descrição detalhada de duas espécies novas de Gastrotricha, do gênero *Acanthodasys*, encontradas na região de Ilhabela – costa Norte do Estado de São Paulo – na Praia da Fome, usando as seguintes técnicas: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia de Varredura Laser Confocal, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e técnicas moleculares para contribuir com o conhecimento do gênero estudado no banco de dados moleculares GenBank.

III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, T. Q., Alcantara, F. C. & Garraffoni, A. R. S. (2013) New records of Gastrotricha from Minas Gerais, Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 48: 68-75
- Araújo, T. Q., Balsamo, M., Garraffoni, A. R. S. (2014) A new species of *Pseudostomodella* (Gastrotricha, Thaumastodermatidae) from Brazil. *Marine Biodiversity* 44: 243–248.
- Araújo, T. Q., Wieloch, A. H., Vidigal, T. H. D., Hochberg, R., & Garraffoni, A. R. S. (2016) *Pseudostomella dolichopoda* Todaro, 2012 and *P. cataphracta* Ruppert, 1970 (Gastrotricha: Thaumastodermatidae): new records from Brazil and USA and an updated key to the genus. *Check List*, 12(6), 1986.

- Balsamo, M., d'Hondt, J., Kisielewski, J., Pierboni, L. (2008) Global diversity of gastrotrichs (Gastrotricha) in fresh waters. *Hydrobiologia* 595:85–91
- Balsamo, M., Grilli, P., Guidi, L., & d'Hondt, J. (2014) Gastrotricha: Biology, Ecology and Systematics: Families Dasydytidae, Dichaeturidae, Neogosseidae, Proichthyidiidae. Identification Guides to the Plankton and Benthos of Inland Waters, 24: 1–188.
- Balsamo, M., d'Hondt, J., Kisielewski, J., Todaro, M., Tongiorgi, P., Guidi, L., & Y. de Jong. (2015) Fauna Europaea: Gastrotricha. *Biodiversity Data Journal*, vol.3, e5800.
- Boaden, P. J. S. (1963) Marine gastrotricha from the interstitial fauna of some north wales beaches. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, Vol. 43: 79-96.
- Cerca, J., Purschke, G., Struck, T. H. (2018) Marine connectivity dynamics: clarifying cosmopolitan distributions of marine interstitial invertebrates and the meiofauna paradox. *Marine Biology* 165:123, pp 21
- Chatterjee T., Priyalakshmi G., Todaro M. A. (2019) An annotated checklist of the macrodasyidan Gastrotricha from India. *Zootaxa*, 4545 (4): 495–510.
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, Vol 85:407-415.
- Fontaneto, D., François Flot, J., Tang, C. Q. (2015) Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. *Marine Biodiversity*, 45:433–451.
- Garraffoni, A. R. S., Araújo, T. Q., Lourenço, A. P. & Balsamo, M. (2010) New data on freshwater psammic Gastrotricha from Brazil. *Zookeys* 60: 1–12, doi: 10.3897/zookeys.60.495
- Garraffoni, A. R. S., Di Domenico, M. & Amaral, A. C. Z. (2016) Patterns of diversity in marine Gastrotricha from Southeastern Brazilian Coast is predicted by sediment textures. *Hydrobiologia* 773: 105-116.

- Garraffoni, A. R. S. & Balsamo, M. (2017) Is the ubiquitous distribution real for marine gastrotrichs? Detection of areas of endemism using Parsimony Analysis of Endemicity (PAE). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 130:198-211.
- Garraffoni, A.R.S., Di Domenico, M. & Hochberg, R. (2017) New records of marine Gastrotricha from São Sebastião Island (Brazil) and the description of a new species. *Marine Biodiversity* 47: 451-459.
- Garraffoni, A. R. S., Araújo, T. Q., Lourenço, A. P., Guidi, L., & Balsamo, M. (2019) Integrative taxonomy of a new *Redudasys* species (Gastrotricha: Macrodasyida) sheds light on the invasion of fresh water habitats by macrodasyids. *Scientific reports*, 9 (1), 2067.
- Gerlach, S. A. (1971) On the importance of marine meiofauna for benthos communities. *Oecologia (Berl.)* 6, 176-190.
- Giere, O. (2009) *Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments*, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- Grosso, L. E., & Drahg, F. (1984) Gastrotricos dulceacuicolas de la provincia de Tucuman II. *Chaetonotus majestuosus* n. sp. *Acta Zoologica Lilloana*, 37, 227–230.
- Grosso, L. E., & Drahg, F. (1986) Gastrotricos dulceacuicolas de la provincia de Tucuman III. *Acta Zoologica Lilloana*, 38, 139–149.
- Grosso, L. E., & Drahg, F. (1991) Gastrotricos dulceacuicolas de la provincia de Tucuman IV. *Acta Zoologica Lilloana*, 40, 47–51.
- Hochberg, R. (2003) Two new species of *Dactylopodola* (Gastrotricha, Macrodasyida) from islands off the Queensland coast, Australia. *Meiofauna Marina*, 12, 37–45.
- Hochberg, R. (2009) Ultrastructure of feathered triancre in the Thaumastodermatidae and the description of a new species of

- Tetranchyroderma* (Gastrotricha: Macrodasysida) from Australia. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 88, 729–737.
- Hochberg, R. (2014) *Crasiella fonseci*, a new species of Gastrotricha (Macrodasysida, Planodasyidae) from São Paulo, Brazil. Marine Biodiversity 44: 237–242.
- Hummon, W., Todaro, M. (2010) Analytic taxonomy and notes on marine, brackish water and estuarine Gastrotricha. Zootaxa, 2392:1-32.
- Kåneby, T. & Wicksten, M. K. (2014) First record of the enigmatic genus *Redudasys* Kisielowski, 1987 (Gastrotricha: Macrodasysida) from the Northern hemisphere. Zoosystema, 36 (4), 723–734
- Kåneby, T., Hochberg, R. (2015) Phylum Gastrotricha. In: Thorp, J., Rogers, D.C. (Eds.), Ecology and General Biology: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Academic Press, 211–223.
- Kåneby, T., & Kirk, J. J. (2017) A new species of *Redudasys* (Gastrotricha: Macrodasysida: Redudasysidae) from the United States. Proceedings of the Biological society of Washington, 130(1), 128-139.
- Kieneke, A., Schmidt-Rhaesa, A. (2014) Gastrotricha. In: Schmidt-Rhaesa A. editor. Handbook of Zoology. Vol. 3 Gastrotricha and Gnathifera. De Gruyter, Berlin, Boston. pp 1–134.
- Kieneke A., Nikoukar, H. (2017) Integrative morphological and molecular investigation of *Turbanella hyalina* Schultze, 1853 (Gastrotricha: Macrodasysida), including a redescription of the species. Zoologischer Anzeiger, 267:168–186.
- Kisielowski, J. (1987) Two new interesting genera of Gastrotricha (Macrodasysida and Chaetonotida) from the Brazilian freshwater psammon. Hydrobiologia, 153: 23–30
- Müller, O. F. (1773) Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum et testaceorum, non marinarum, succincta historia.

- Pires, A. C. & Marinoni, L. (2010) DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotropica*, Vol. 10, No. 2.
- Remane, A. (1936) Gastrotricha. In: H.G. Bronn's Klassen und Ordnung des Tierreichs. 4, II, 1, 2. 1-242.
- Ruttner-Kolisko, A. (1955) *Rheomorpha neiswestnovae* und *Marinellina flagellata*, zwei phylogenetisch interessante Wurmtypen aus dem Süßwasserpsammon. *Österreichische, Zoologische Zeitschrift* 6: 55–69.
- Todaro, M., Matinato, L., Balsamo, M., Tongiorgi, P. (2003) Faunistics and zoogeographical overview of the Mediterranean and Black Sea marine Gastrotricha. *Biogeographia*, 24: 131–160.
- Todaro, M., Rocha, C. (2004) Diversity and distribution of marine Gastrotricha along the northern beaches of the State of São Paulo (Brazil), with description of a new species of *Macrodasy* (Macrodasyida, Macrodasyidae). *Journal of Natural History*, 38:1605–1634.
- Todaro, M., Rocha, C. (2005) Further data on marine gastrotrichs from the State of São Paulo and the first records from the State of Rio de Janeiro (Brazil). *Meiofauna Marina*, 14:27–31.
- Todaro, M., Hummon, W. (2008) An overview and a dichotomous key to genera of the phylum Gastrotricha. *Meiofauna Marina*, 16:3–20.
- Todaro, M. A., Dal Zotto, M., Perissinotto, R. & Bownes, S. J. (2011a) First records of Gastrotricha from South Africa, with description of a new species of *Halichaetonotus* (Chaetonotida, Chaetonotidae). *ZooKeys* 142, 1–13.
- Todaro, M., Kanneby, T., Dal Zotto, M., Jondelius, U. (2011b) Phylogeny of Thaumastodermatidae (Gastrotricha: Macrodasyida) inferred from nuclear and mitochondrial sequence data. *PLoS ONE*, 6, e17892.

- Todaro, M. A., Dal Zotto, M., Jondelius, U., Hochberg, R., Hummon, W. D., K  nneby, T. & Rocha, C. E. F. (2012) Gastrotricha: a marine sister for a freshwater puzzle. PLoS ONE 7: e31740
- Todaro, M. A., Perissinotto, R. & Bownes, S. J. (2013) *Neogosseidae* (Gastrotricha, Chaetonotida) from the iSimangaliso Wetland Park, KwaZulu-Natal, South Africa. ZooKeys 315, 77–94.
- Todaro, M. A. (2019) Gastrotricha World Portal. Todaro, M. A. (ed.) [available on internet at <http://www.gastrotricha.unimore.it/marine.htm>]. Acesso em 12 março 2019.
- Yamauchi, S., Kajihara, H. (2018) Marine Macrodasyida (Gastrotricha) from Hokkaido, Northern Japan. Species Diversity 23: 183–192.

IV. CAPÍTULO I

When more is better: description of a new species of *Acanthodasys* Remane, 1927 (Gastrotricha, Macrodasysida, Thaumastodermatidae) based on four distinct morphological techniques and molecular data¹

Isadora Bosco¹, Anete P. Lourenço², Loretta Guidi³, Maria Balsamo³, Rick Hochberg⁴, André R. S. Garraffoni¹

¹Department of Animal Biology, Institute of Biology, State University of Campinas, R. Monteiro Lobato, 255, 13083-970, Campinas, SP, Brazil.

²Department of Biological Science, Federal University of Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Rod. BR-367, 39100-000, Diamantina, MG, Brazil.

³Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino, Campus Scientifico, Via Ca' le Suore, 2, 61049, Urbino, PU, Italy.

⁴Department of Biology, University of Massachusetts Lowell, Lowell, MA 01854, USA.

Correspondence: arsg@unicamp.br

Abstract

The number of undescribed animal species is still very high, in particular among the marine meiofaunal taxa. For these invertebrates, external and internal morphological information are often scarce and species delimitation and identification is a real problem. As a contribution to this shortfall, we describe a new gastrotrich species of the genus *Acanthodasys* (Macrodasysida, Thaumastodermatidae) from sublittoral sediments of the Brazilian southeastern coast based on four distinct morphological techniques (optical microscopy - DIC, CLSM, SEM, TEM) and molecular data. *Acanthodasys australis* sp. nov. is characterized by spined scales (unian cres) of different sizes and densities on the dorsal and ventral body sides, two types of spineless scales scattered among the spined scales, and 6 TbA per side forming two distinct groups (2+4) each arranged

¹ Artigo submetido para a revista Hydrobiologia - <https://link.springer.com/journal/10750>

in two transverse rows. A molecular phylogeny of the family Thaumastodermatidae using a multigene approach found *Acanthodasys* to be monophyletic. This is the first record of a species belonging to the genus *Acanthodasys* from the South Hemisphere.

Keywords Brazil, Gastrotricha, Macrodasysida, taxonomy, meiofauna, *Acanthodasys australis* sp. nov., Thaumastodermatidae

Introduction

Many meiofaunal taxa - an operational definition of organisms based on their retention in a mesh width of sieves between 500 and 44 μm (Giere 2009) - are considered “lesser known taxa” (Garey 2002). This poor knowledge is related to the small size and fragility of their bodies and the consequent difficulty in obtaining high-quality information about morphological diversity of external and internal structures (Artois *et al.* 2011) leading to a “Linnean” shortfall (*sensu* Fonseca *et al.* 2014). To make the study of meiofauna even more difficult, some meiofaunal organisms are frequently destroyed and/or lost during handling processes or deteriorate relatively quickly after preparation (Balsamo *et al.* 2014; Garraffoni & Freitas 2017). Consequently, without proper anatomical data, a large number of meiofauna species remains poorly described or even unknown (Appeltans *et al.* 2012), and our knowledge of homology among anatomical structures remains poor (Ramirez 2007; Vogt *et al.* 2010; Borkent 2018).

Phylum Gastrotricha contains soft-bodied animals commonly present in the meiofauna of marine and freshwater environments, where they glide by ciliary action between the sand grains. The taxon consists of more than 860 species, traditionally divided into two orders: Chaetonotida and Macrodasyida. Within the Macrodasyida, Thaumastodermatidae is the most speciose family, with more than 170 species (Todaro 2018) and contains eight genera divided into two subfamilies: Thaumastodermatinae with the genera *Hemidasys* Claparède, 1867 (considered extinct by Hummon & Todaro, 2010), *Oregodasys* Hummon, 2008, *Pseudostomella* Swedmark, 1956, *Ptychostomella* Remane, 1926, *Tetranchyroderma* Remane, 1926, *Thaumastoderma* Remane, 1926; and Diplodasyinae, which includes *Acanthodasys* Remane, 1927 and *Diplodasys* Remane, 1927.

Currently, the genus *Acanthodasys* includes 12 valid species (Garraffoni & Balsamo 2017; Todaro 2018) and is characterized by a cuticular armature with unispined scales (“uniancres”) (Todaro & Hummon 2008). To date, *Acanthodasys* species have been described from Europe (Germany, France, Norway, Italy and Portugal), United States, Caribbean Sea and Korea; none is currently known from the Southern Hemisphere (Garraffoni & Balsamo 2017).

The marine gastrotrich fauna of Brazil was virtually unknown until about 15 years ago (Todaro & Rocha 2004, 2005); however, recent studies have revealed a hidden gastrotrich diversity along the Brazilian coast (Todaro 2012, 2013; Araújo *et al.* 2014, 2016; Hochberg 2014; Garraffoni *et al.* 2016, 2017). Considering the length of the Brazilian coastline, approximately 7500 kilometers, we expect the biodiversity of the meiofauna to be equal to that of the Northern Hemisphere, and perhaps even to exceed it.

Here, we formally describe a new species of *Acanthodasys* from Brazil, previously reported by Garraffoni *et al.* (2017) as *Acanthodasys* sp. 1. We used four morphological techniques to provide valuable taxonomic information on external and internal morphology: 1) differential interference contrast microscopy - DIC, optical microscopy - (e.g., cuticle structure, reproductive organ systems); 2) confocal laser scanning microscopy - CLSM - (muscle orientation and distribution); 3) scanning electron microscopy - SEM - (cuticle ultrastructure); and 4) transmission electron microscopy - TEM - (sperm ultrastructure). We also applied nuclear ribosomal DNA (rDNA; 18S and 28S) sequencing for examining the affinity of the new *Acanthodasys* species with the other Thaumastodermatidae on a multigene approach basis.

Materials and Methods

Taxonomic sampling

The sampled site (23°44'27" S; 45°16'01" W) is located on the Northern coast of the State of São Paulo, at Ilhabela Island. A general account on the visited location, the sampling techniques and the granulometric characteristics were reported in Garraffoni *et al.* (2017).

Morphological analyses

Differential interference contrast microscopy (DIC). Sediment screening for meiofauna was performed in the laboratory and gastrotrichs extraction followed the protocol reported by Hochberg & Atherton (2010). Small amounts of sediment at a time were observed in a Petri dish under a stereomicroscope Zeiss Stemi 2000. Live specimens were isolated on glass slides and observed using a Differential Interference Contrast (DIC) light microscope equipped with an AxioCam MRC5 digital video camera.

Thirty one of the thirty four live specimens were recovered and were subsequently fixed for further morphological analyses (SEM, TEM and CLSM) and three of thirty four were used for extraction of genomic DNA.

Scanning electron microscopy (SEM). Organisms were fixed in glutaraldehyde and submitted to dehydration through a series of ethanol solutions with increasing concentration (20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 95%, 100%), then they were dried through a passage in a Hexamethyldisilazane - HMDS solution (Hochberg & Litvaitis 2000), mounted on aluminium stubs, sputter coated with gold palladium and finally observed with a JSM 5800LV scanning electron microscope.

Transmission electron microscopy (TEM). Specimens were fixed in 2% glutaraldehyde in a 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4), post-fixed in 1% osmium tetroxide in the same buffer, washed in a clean 0.1 M sodium cacodylate buffer, dehydrated in a graded ethanol series and embedded in Araldite. Ultra-thin sections were cut with a LKB Ultratome 2088 V microtome and were contrasted with a saturated solution of 3% uranyl acetate in ethanol 50% and lead citrate. The ultra-thin sections (70–80 nm) were observed under a Philips CM10 transmission electron microscope at the University of Urbino (Italy).

Confocal laser scanning microscopy (CLSM). Organisms were fixed in paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer saline (pH 7.2) for at least one week, then they were rinsed in PBS and stained with Alexa Fluor 488 phalloidin (Life Technologies) to document the musculature morphology. Stained specimens were briefly rinsed in PBS before mounting in Fluoromount G (Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AL) on glass slides. Confocal z-stacks were collected and processed in as TIF files and MOV video files. Files were further processed with the software Volocity (Perkin Elmer) to generate z-projections.

Molecular analyses

DNA extraction and amplification.

DNA extraction, amplification of nuclear 18S and 28S rDNA genes fragments and sequencing followed the protocols presented in Garraffoni *et al.* (2019a). Sequences of *Acanthodasys australis* sp. nov. were deposited in GenBank.

Phylogenetic analysis

Data analyses

The ingroup and outgroup database for this study was basically the same combined dataset of 18S and 28S rDNA and COI used by Todaro *et al.* (2011) with 22 species belonging to taxon Thaumastodermatidae plus the 18S and 28S rDNA sequences of *Acanthodasys australis* sp. nov. As outgroups we chose: *Dactylopodola mesotyphle* (GenBank accession numbers, 18S rDNA: JF357651; 28S rDNA: JF357699; COI mtDNA: JF432036), *Mesodasys littoralis* (GenBank accession numbers, 18S rDNA: JF35765; 28S rDNA: JF357706; COI mtDNA: JF432043) and *Macrodasys* sp. 1 (GenBank accession numbers, 18S rDNA: JF357654; 28S rDNA: JF357702; COI mtDNA: JF432039).

Each gene dataset was aligned separately using Mafft v.7.402 (L-INS-I approach) (Kato & Standley 2013) and the concatenated database was analyzed using maximum likelihood (Stamatakis *et al.* 2008), and GTRGAMMA model with 1000 bootstrap replicates. This last analyses were performed using the CIPRES Science Gateway, San Diego Supercomputer Center (Miller *et al.* 2010).

Abbreviations: *a* – anus, *ac* – acrosome, *at* - adhesive tubes, *c* – cilia, *cb* - cellular band, *cm* - circular muscles, *co* – caudal organ, *d/m* – dorsal medial longitudinal muscles, *ep* – epidermal glands, *es* – eye-shaped scales, *f* – flagellum, *fo* – frontal organ, *gc* – gland cells, *hm* – helicoidal muscles, *i* – intestine, *lm* - longitudinal musculature, *ls* - lanceolate scales, *m* – mouth, *mt* – mitochondrion, *mo* – mature oocyte, *n* – nucleus, *p* - pharynx, *ph* - perinuclear helix, *pp* – pharyngeal pores, *r* – releasing gland, *ro* – Rosette organ, *s* – spermatozoa, *se* - secretory epithelium, *sc* - scales, *sm* – sphincter muscles, *TbA* - anterior adhesive tubes, *TbVL* - ventrolateral adhesive tubes, *TbL* - lateral adhesive tubes, *TbP* - posterior adhesive tubes, *te* - testes, *u* – uniancres, *v* – viscid gland, *v/m* – ventrolateral longitudinal muscles.

Results

Taxonomy

Order Macrodasyida Remane, 1925 [Rao & Clausen, 1970]

Family Thaumastodermatidae Remane, 1927

Subfamily Diplodasyinae Ruppert, 1978

Genus *Acanthodasys* Remane, 1927

***Acanthodasys* sp1 nov.**

(Figs. 1-7, Table 1)

Material examined

Holotype. Photographs of an adult specimen, collected from São Sebastião Island (municipality of Ilhabela), Fome Beach, State of São Paulo, Brazil (23°44'27''S; 45°16'01''W) at 8-10 m depth, on 16/07/2015. The specimen was examined alive with a compound microscope, but due to the fragility of the body, it was destroyed and is no longer available (Garraffoni *et al.* 2019b). The holotype is illustrated in Fig. 2a (International Code of Zoological Nomenclature, 2017: Articles 73, Recommendation 73G, in Declaration 45), and photos are available at the Museum of Zoology, University of Campinas, Brazil, under accession number ZUEC GCH 36.

Paratypes. Photographs of 10 (adults) specimens collected from São Sebastião Island (municipality of Ilhabela), Fome Beach, State of São Paulo, Brazil (23°44'27"S; 45°16'01"W) at 8-10 m depth, on 16/07/2015; and photographs of 4 (adult) specimens collected at the same place on 21/02/2018. All of them were examined alive with a compound microscope, but due to the fragility of the body, they were destroyed and are no longer available (Garraffoni *et al.* 2019b). Photos of paratypes (International Code of Zoological Nomenclature, 2017: Articles 73, Recommendation 73G, in Declaration 45) are available at the Museum of Zoology, University of Campinas, Brazil, under accession numbers ZUEC GCH 37 to 50.

Additional material

Eight specimens were mounted for SEM and four specimens were mounted in slides for confocal analysis, all of them are kept at the State University of Campinas; three specimens were prepared for DNA sequencing and no longer extant. All of them were adult specimens, collected on 07/07/2015 in São Sebastião Island (municipality of Ilhabela), Fome Beach, State of São Paulo, Brazil.

Species-specific characters

Two types of spineless scales: 1) eye-shaped scales with a central depression, a slightly thickened rim and often a small central oval bump; 2) lanceolate scale present on ventral side with a honeycomb arrangement; 6 TbA per side arranged into two series, 2+4.

Diagnosis

Acanthodasys with an adult body length of 643 µm. Maximum body width at mouth/pharyngeointestinal junction (PIJ)/midpoint of body is 68/93/85 µm, respectively. Pharynx to 190 µm long. Cuticle with spined scales (unian cres) and small spineless scales of two morphological types: eye-shaped scales with a central depression, a slightly thickened rim and often a small central oval bump, and very elongate lanceolate scales with only a central depression. Unian cres cover both the dorsal and ventral body sides, being much larger dorsally, 4.6 – 6.2 µm in length, and 1.7 – 2.8 µm in length ventrally. At least 50-55 epidermal glands per side, distributed along the whole body. On the head six TbA per side, forming two distinct groups (2+4), each one arranged into two transversal rows. Six elongate TbL per side, present only in the trunk region. Twenty TbVL per side from the PIJ up to the

outer edge of the caudal lobes. Three TbP per side, 2 terminal and 1 medial on each caudal lobe. Hermaphroditic, with paired testes and a single ovary anterior to the caudal organ and dorsal to the posterior intestine. Caudal organ located ventrally to the terminal gut. Rosette organ dorsolateral on the left body side. Frontal organ located dorsally and anterior to the mature oocyte, in continuity with a compact band of large Y-shaped cells containing myofilaments and hemoglobin.

Description

The description is based on the holotype. Body is mostly strap-shaped, 643 μm long (Fig. 1c-d, 2a) and entirely covered with spined scales and spineless scales except for the hood-like region around the mouth (approximately 8 μm long). Body inflates at U17, narrows at U30, and slightly narrows again until the caudal base. Body widths are: at the level of mouth (U03) 57 μm , PIJ (U30) 80 μm , maximum trunk width (U42) 88 μm , at the caudal base (U89) 30 μm . Pharynx 190 μm long, with pharyngeal pores at U33 (observed only in the confocal micrographs, Fig. 6e). Mouth fringed with numerous sensory hairs (4 – 4.5 μm long) and on either side of the head with longer cilia (27 μm long) (Figs. 2d, 3a). Numerous epidermal glands of various size (5-11 μm diameter) (Fig. 2a, 4a), arranged into two longitudinal columns of about 50-55 per side. Ventral locomotory cilia as a complete field beginning at ca. U06 and extending to the base of the caudal appendages (Fig. 1d).

Cuticular armature. Both uniancres and spineless scales cover the whole surface of the body. Evident uniancres are arranged around the head edge, along the dorsal and ventrolateral sides of the trunk and on the caudal lobes (Fig. 2b, c, e; 3b, c, d). Other smaller uniancres uniformly cover the dorsal and ventral body sides. Approximately 25 uniancres, each about 6 μm long, extend transversely across the dorsal side of the head just behind the cilia of the spineless oral hood, whereas uniancres in ventral outline of the mouth are absent (Figs. 2b, 3a). The number of uniancres is much higher on the body dorsal side than on the ventrolateral ones, approximately 200 dorsal uniancres vs. 60-75 ventrolateral uniancres from U01 to U14. Uniancres increase in size from the dorsal side (4.6 – 6.2 μm long) to the lateral sides (7 – 7.6 μm long) and decrease in size from ventrolateral sides (2.8 - 4 μm long) to the ventral side (1.7 – 2.8 μm long) (Fig. 3e). Each uniancre arises from a quadrangular shaped base, is cross-shaped in transverse section and shows a tapering apex: a small opening is visible at the base of each spine longitudinal

groove (Fig. 1f, 3c, d) - it is not a dehydration artifact since the spineless scales do not look curled.

Two types of small spineless scales are interposed between the uniancres: eye-shaped scales, with a central depression, a slightly thickened rim and often a small central oval bump, and very elongate, lanceolate scales with only a central depression (Fig. 1e, 3b, c). Eye-shaped scales are basically distributed on the dorsal and ventrolateral body sides, whereas lanceolate scales are present only on the ventral side with a honeycomb-like arrangement (Fig. 2e).

Eye-shaped scales are ca. 1.2 – 2.6 μm long and 0.6 – 1.0 μm wide, with a central depression 1.4 – 1.9 μm long and 0.3 – 0.6 μm wide (Fig. 1e). Lanceolate scales ca. 2.0 – 3.5 μm long and 0.8 – 1.3 μm wide, central depression in scales with 1.3 – 2.8 μm long and 0.4 – 0.7 μm wide (Fig. 1e). All the spineless scales are arranged in several different orientations (longitudinal, transverse and oblique) both dorsally and ventrally.

Adhesive tubes. TbA: a group of 6 per side, 4 - 5.5 μm long, arranged into two transverse series, the anterior series consists of 2 and the posterior series consists of 4 tubes (Fig. 1c, d; 2d; 3a). TbL: 6 per side, 13 μm long, only present in the trunk region (U55, U62, U70, U77, U80 and U90). TbVL: 20 per side, 10-11 μm long, arranged in a column from the PIJ to the lateral edge of the caudal lobe (Fig. 1d; 3e). TbP: 3 per side, grouped on each caudal lobe as 2 terminal tubes, 15 μm long, and one medial tube 9 μm long (Fig. 1d; 2f; 3f). Tubes in TEM sections show duo-gland cells, *sensu* Tyler & Rieger (1980): one gland presumably produces the adhesive secretion ('viscid gland cell') and the other produces a releaser material ('releasing gland cell') (Fig. 4b, c).

Digestive tract. Mouth terminal and circular, 57 μm wide, surrounded by an area of naked cuticle that forms an oral hood with a rim 8 μm thick (Fig. 3a). Pharynx 190 μm long, cylindrical, with pharyngeal pores at the base (U33) (only observed in the confocal micrographs, Fig. 7e). Intestine narrow and tapering toward the posterior body end. Anus at U93.

Reproductive system. The genital system is composed of two testes lateral to the intestine, starting at the level of PIJ (U35) and extending posteriorly into two sperm ducts that flow into the glando-muscular caudal organ. The latter is ovoid, 60

μm long, and lies at U80-U90, opening into a ventral pore anterior to the anus (Fig. 1b; 5d, e). The internal lumen of the caudal organ was often found with numerous mature spermatozoa (Fig. 5e, f).

A single ovary lies dorsally to the middle intestine, from U70 to U80. Oogenesis proceeds in a caudo-cephalic direction: numerous oocytes at various stages of maturation were observed (Fig. 5c). The 'rosette' opening (Fig. 5a, b) is well developed ($6.5 \mu\text{m}$ in diameter) and is dorsolateral on the left body side (U40). A compact band of large cells runs from the rosette to a cellular sac, the frontal organ (from U62 to U70), that is in contact with the full-grown oocyte (Fig. 5a, c).

Mature spermatozoa are filiform cells up to $150 \mu\text{m}$ long, composed of a cork-screw-shaped acrosome ($30 \mu\text{m}$ long), a nuclear-mitochondrial region ($40 \mu\text{m}$ long) with a large mitochondrion surrounded by a helical nucleus and a perinuclear helix, and a posterior long flagellum ($80 \mu\text{m}$ long) (Fig. 5f).

Muscular system. Splanchnic Circular Muscles: Circular muscles are present as individual rings that wrap around the pharynx and intestine (Fig. 6a, b). They are evenly spaced along the entire digestive tract, but form a thickened sphincter at the anterior end where they form the oral ring. The circular muscles appear to enclose all longitudinal muscles except the thick ventrolateral longitudinal muscles. The helicoidal muscles (below) are external to the circular muscles.

Splanchnic Longitudinal Muscles: Two pairs of ventral longitudinal muscles extend along the ventral side of the pharynx and are wrapped by circular muscles and helical muscles. The longitudinal muscles extend from the oral ring to the caudal end, splitting in two insertions just anteriorly to a distinct sphincter in the fringe of the oral hood and mouth (Fig. 6a, c). There is at least one pair of dorsal medial longitudinal muscles.

Splanchnic Helicoidal Muscles: These are the thinnest muscles of the body. They are located in the pharyngeal region (up to the PIJ junction) and consist of at least two distinct muscle bands intersecting with each other in a double-helix fashion, appearing to cover circular muscle bands (Fig. 6a).

Somatic Longitudinal Muscles: The ventrolateral longitudinal muscles are the thickest muscles in the body, and appear to consist of several closely-aligned muscle

fibers. They extend over the length of the body, from the lateral margin of the mouth rim where they form anterior, bifurcating insertions, to the posterior body end where they appear to supply the caudal lobes.

Remarks

The defining morphological features of species of the subfamily Diplodasyinae are the presence of paired testes and a set of a frontal and a caudal organ that are anatomically and functionally disjoint (Todaro & Hummon 2008). Species of the genus *Acanthodasys* are characterized by cuticular spines called uniancres, that are hooks with a single point, with a cruciform cross-section, arising from a quadrangular base (Todaro & Hummon 2008; Todaro *et al.* 2011).

Currently there are twelve valid species described and recognized in the genus *Acanthodasys*: *Acanthodasys aculeatus* Remane, 1927, *A. algarvense* Hummon, 2008, *A. arcassonensis* Kisielewski, 1987, *A. caribbeanensis* Hochberg & Atherton, 2010, *A. carolinensis* Hummon, 2008, *A. comtus* Lee, 2012, *A. ericinus* Lee, 2012, *A. fibrosus* Clausen, 2004, *A. flabellicaudus* Hummon & Todaro, 2009, *A. lineatus* Clausen, 2000, *A. paurocactus* Atherton & Hochberg, 2012, and *A. silvulus* Evans, 1992 (Table 1).

The new species appears close to the four species that possess both spined and spineless scales: *A. aculeatus*, *A. arcassonensis*, *A. caribbeanensis*, and *A. paurocactus*. However, there are several differences worth noting.

1) The scales of the new species are dorsally smaller (2-3 μm) than in *A. aculeatus* (4-5.5 μm), show a central depression absent in the latter species, and also the ventral scales differ in shape. Lastly, the new species appears to lack helicoidal muscles in the intestinal region, which are known to be present in *A. aculeatus* (Hochberg & Litvaitis 2001). Whether the presence or absence of this character has taxonomic implications remains to be determined since it was examined in very few species so far.

2) The new species has a different scale pattern than *A. arcassonensis*: *A. australis* sp. nov. has simple lanceolate scales on its ventral side and simple eye-shaped scales on the dorsal and lateral sides, while *A. arcassonensis* has only eye-shaped scales on both dorsal and ventral sides.

3) The new species has smaller uniancres (8 μm) than *A. caribbeanensis* (50 μm) - the largest uniancres known in *Acanthodasys* - and the scales are cruciform straight and lacking the curved tip and posterior curvature present in the spines of *A. caribbeanensis*. Also, in *A. caribbeanensis*, the simple scales are not elliptical, as they are in other species of the genus, but are more similar to the scales of the species of the genus *Diplodasys*.

4) The new species differs from *A. paurocactus* which also has uniancres 15 μm long and two types of scales, lanceolate and eye-shaped, but the eye-shaped scales have a much larger central depression than those of *A. australis* sp. nov. that shows a thicker scale edge. The eye-shaped and lanceolate scales of *A. paurocactus* have central ornaments, like an oval bump at the center of the depression or a raised, bar-shaped ridge that is parallel or perpendicular to the long axis of the scale. That differs in *A. australis* sp. nov. who shows eye-shaped scales, with a central depression, a slightly thickened rim and often a small central oval bump.

Phylogenetic analysis

The phylogenetic reconstruction based on a multigene analysis reported the taxon Thaumastodermatidae as monophyletic and within this taxon, the Diplodasyinae clade appears as a sister-group of the Thaumastodermatinae clade (all three clades emerge as highly supported groups). Within the Diplodasyinae clade, the three nominal *Acanthodasys* species analyzed in the present study nested together in a monophyletic group (with high bootstrap value) (Fig. 7).

Discussion

It is well known that achievement of good morphological data for meiofauna taxa is a hard task due to their microscopic size and body fragility (Giere 2009; Balsamo *et al.* 2014; Fonseca *et al.* 2017). Consequently, species description, morphological traits, and understanding the evolution of shape can be inaccurate in these organisms (Fonseca *et al.* 2017). Thus, it is clear the requirement of a theoretical framework to obtain high quality data in a morphology-based taxonomy of meiofaunal taxa.

For this reason, taxonomists often need to resort to several optical techniques (e.g. DIC, SEM, TEM and confocal microscopy) to obtain a sufficient number of morphological characters of high quality that can resolve the situation of closely-related species. Here, we chose to use a number of microscopical techniques to explore the new species morphology: although all of them provide potentially useful data, the best morphological information still comes from two "traditional" techniques: DIC and SEM. Gastrotrich taxonomy is founded on bright field microscopy (e.g., Remane 1927a, b), and even if recent studies have shown the utility of other optical techniques (e.g., CLSM *sensu* Leasi & Todaro 2009), these are really useful when comparable data are also available from closely-related species. The same is also true for molecular data, which are still very few for the species of *Acanthodasys*. The good news is that more integrative investigations are becoming commonplace (e.g. Todaro *et al.* 2015; Kieneke & Nikoukar 2017; Garraffoni *et al.* 2019), and so the expectation is that our knowledge of gastrotrich taxonomy and evolution will be more precise and begin to move at a faster pace.

As our practices for describing gastrotrichs improves, so does our geographic sampling. The first observations of marine gastrotrichs in Brazil were made in the last half of the 20th century (du Bois-Raymond Marcus 1952; Forneris 1985), but since then, new surveys have revealed more diversity along this extensive coastline (e.g., Todaro & Rocha 2004, 2005; Todaro 2012, 2013; Araújo *et al.* 2014, 2016; Hochberg 2014; Garraffoni *et al.* 2016, 2017). Today, the marine Gastrotricha fauna of Brazil is known to comprise 22 species. Most of them, 16, have broad geographic ranges and can also be found along the coastlines of North America, Europe, and Asia, while the remaining 6 species appear to be endemic to the Brazilian coast (*Macrodasys fornerise* Todaro & Rocha, 2004; *Pseudostomella dolichopoda* Todaro,

2012; *Ptychostomella lamelliphora* Todaro, 2013; *Pseudostomella squamalongispinosa* Araújo, Balsamo & Garraffoni, 2014; *Crasiella fonseci* Hochberg, 2014; *Dactylopodola todaroi* Garraffoni, Di Domenico & Hochberg, 2017).

Despite our growing efforts to characterize marine gastrotrichs from across the globe, we are still far away from truly appreciating the full extent of this phylum diversity. Brazil has approximately 7.500 km of coastline, and only a small fraction of this has been explored in detail. It is clear that new techniques will improve our understanding of this diversity, as will do wider sampling regimes and a new and larger generation of taxonomists.

Acknowledgments

We would like to thank Maikon di Domenico for the assistance with the scuba diving, Thiago Araújo for the confocal analysis, Ariane Campos and Maria Muollo for the schematic drawing, the staffs of the Life Sciences Core Facility (LaCTAD) and Laboratory of Electron Microscopy of Biological Institute at the State University of Campinas (UNICAMP), respectively, for DNA sequencing and scanning electron microscopy images.

Funding

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. We also express our gratitude to Conselho Nacional de Pesquisa – CNPQ (478825/2013-7), CAPES, CNPq/MCTI/FAP/PROTAX Nº 001/2015, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (2011/50317-5; 2014/23856-0), and FAEPEX-UNICAMP (2031/15) for financial support.

References

- Appeltans, W., Ahyong, S. T., Anderson, G., Angel, M. V., Artois, T., Bailly, N., Bamber, R., Barber, A., Bartsch, I., Berta, A., *et al.*, 2012. The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology* 22: 2189–2202.
- Araújo, T. Q., Balsamo M. & Garraffoni, A.R.S., 2014. A new species of *Pseudostomella* (Gastrotricha, Thaumastodermatidae) from Brazil. *Marine Biodiversity* 44:243–248.
- Araújo, T. Q., Wieloch, A. H., Vidigal, T. H. D., Hochberg, R. & Garraffoni, A. R. S., 2016. *Pseudostomella dolichopoda* Todaro, 2012 and *P. cataphracta* Ruppert, 1970 (Gastrotricha: Thaumastodermatidae): new records from Brazil and USA and an updated key to the genus. *CheckList* 12: 1986.
- Artois, T., Fontaneto, D., Hummon, W.D., McInnes, S.J., Todaro, M.A., Sørensen, M.V. & Zullini, A., 2011. Ubiquity of microscopic animals? Evidence from the morphological approach in species identification. In: Fontaneto D. (Ed.) *Biogeography of microscopic organisms: Is everything small everywhere?* New York: Cambridge University Press, 244–283.
- Balsamo, M., D'Hondt, J.K., Kisielewski, J. & Pierboni, L., 2008. Global diversity of gastrotrichs (Gastrotricha) in fresh waters. *Hydrobiologia* 595:85-91.
- Balsamo, M., Grilli, P., Guidi, L. & d'Hondt, J. L. 2014. Gastrotricha - Biology, ecology and systematics Families Dasydytidae, Dichaeturidae, Neogosseidae, Proichthyidiidae. In: Dumont H.J.F., *Identification guides to the plankton and benthos of inland waters*. Vol. 24: 1-187. Backhuys Publishers, Margraf Publishers.
- Borkent, A., 2018. The state of phylogenetic analysis: narrow visions and simple answers - examples from the Diptera (flies). *Zootaxa* 4374: 107–143.
- du Bois-Raymond Marcus E., 1952. On South American Malacopoda. *Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Sér. Zool.* 17:189–209.
- Fonseca, G.; Norenburg, J. & Di Domenico, M., 2014. Diversity of marine meiofauna on the coast of Brazil. *Marine Biodiversity* 44: 459-462.

- Forneris, L., 1985. Gastrotricha, in Manual de Técnicas para a Preparação de Coleções Zoológicas, No.11 (São Paulo: Sociedade Brasileira de Zoologia), 1-14.
- Garey, J. R., 2002. The Lesser-Known Protostome Taxa: An Introduction and a Tribute to Robert P. Higgins. Integrative and Comparative Biology 42: 611-618.
- Garraffoni, A. R. S. & Balsamo, M., 2017. Is the ubiquitous distribution real for marine gastrotrichs? Detection of areas of endemism using Parsimony Analysis of Endemicity (PAE). Proceedings of the Biological Society of Washington 130:198-211.
- Garraffoni, A. R. S. & Freitas, A. V. L., 2017. Photos belong in the taxonomic Code. Science 355 (6327): 805.
- Garraffoni, A. R. S., Araújo, T. Q., Lourenço, A. P., Guidi, L. & Balsamo, M., 2019a. Integrative taxonomy of a new *Redudasys* species (Gastrotricha: Macrodasyida) sheds light on the invasion of fresh water habitats by macrodasyids. Scientific Reports, 9:2067.
- Garraffoni, A. R. S., Di Domenico, M. & Amaral, A. C. Z., 2016. Patterns of diversity in marine Gastrotricha from Southeastern Brazilian Coast is predicted by sediment textures. Hydrobiologia 773: 105-116.
- Garraffoni, A. R. S., Di Domenico, M. & Hochberg, R., 2017. New records of marine Gastrotricha from São Sebastião Island (Brazil) and the description of a new species. Marine Biodiversity 47: 451-459.
- Garraffoni, A. R. S., Kieneke, A., Kolicka, M., Corgosinho, P. H., Prado, J., Nihei, S. S., & Freitas, A. V. 2019b. ICZN Declaration 45: a remedy for the nomenclatural and typification dilemma regarding soft-bodied meiofaunal organisms? Marine Biodiversity 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12526-019-00983-7>
- Giere, O., 2009. The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments. Meiobenthology, 2nd ed. Springer, Berlin.
- Hochberg, R., 2014. *Crasiella fonseci*, a new species of Gastrotricha (Macrodasyida, Planodasyidae) from São Paulo, Brazil. Marine Biodiversity 44: 237–242.

- Hochberg, R. & Litvaitis, M. K., 2000. Hexamethyldisilazane for Scanning Electron Microscopy of Gastrotricha. *Biotechnic and Histochemistry*, 75: 41-44.
- Hochberg, R. & Litvaitis, M. K., 2001. A muscular double helix in Gastrotricha. *Zoologischer Anzeiger* 240: 61-68.
- Hummon, W.D. & Todaro, M.A., 2010. Analytic taxonomy and notes on marine, brackish-water and estuarine Gastrotricha. *Zootaxa* 2392: 1–32.
- Katoh, K. & Standley, D. M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30:772-780.
- Kieneke, A. & Nikoukar, H., 2017. Integrative morphological and molecular investigation of *Turbanella hyalina* Schultze, 1853 (Gastrotricha: Macrodasyida), including a redescription of the species. *Zoologischer Anzeiger* 267:168-186.
- Leasi, F. & Todaro, M.A., 2009. Meiofaunal cryptic species revealed by confocal microscopy: the case of *Xenotrichula intermedia* (Gastrotricha). *Marine Biology* 156: 1335-1346.
- Miller, M., Pfeiffer, W. & Schwartz, T., 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Gateway Computing Environments Workshop*, 1–8.
- Ramírez, M. J., 2007. Homology as a parsimony problem: a dynamic homology approach for morphological data. *Cladistics* 23: 588-612.
- Remane, A., 1927a. Neue Gastrotricha Macrodasyoidea. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere* 54: 203-242.
- Remane, A., 1927b. Gastrotricha, In: Grimpe G. & Wagler E. (Eds.) *Die Tierwelt der Nord- und Ostsee. Lieferung X, VII: 1-56*. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- Stamatakis A., Hoover P. & Rougemont J., 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. *Systematic Biology* 57:758–771.

- Todaro, M., Kanneby, T., Dal Zotto, M. & Jondelius, U., 2011. Phylogeny of Thaumastodermatidae (Gastrotricha: Macrodasyida) inferred from nuclear and mitochondrial sequence data. PLoS ONE 6: e17892.
- Todaro, M. & Hummon, W., 2008. An overview and a dichotomous key to genera of the phylum Gastrotricha. Meiofauna Marina 16:3–20.
- Todaro, M. & Rocha, C., 2004. Diversity and distribution of marine Gastrotricha along the northern beaches of the State of São Paulo (Brazil), with description of a new species of *Macrodasys* (Macrodasyida, Macrodasyidae). Journal of Natural History 38: 605–1634.
- Todaro, M. & Rocha, C., 2005. Further data on marine gastrotrichs from the State of São Paulo and the first records from the State of Rio de Janeiro (Brazil). Meiofauna Marina 14:27–31.
- Todaro, M.A., 2012. A new marine gastrotrich from the State of São Paulo (Brazil), with a key to species of *Pseudostomella* (Gastrotricha, Thaumastodermatidae). ZooKeys, 223: 39–51.
- Todaro, M. A., 2013. A new non-naked species of *Ptychostomella* (Gastrotricha) from Brazil. ZooKeys 289: 13–24.
- Todaro, M. A., 2018. Marine Gastrotricha in Todaro, M. A. (Ed.), Gastrotricha World Portal. Available on <http://www.gastrotricha.unimore.it/marine.htm>. Accessed 13 July 2018.
- Todaro, M. A., Dal Zotto, M., & Leasi, F., 2015. An integrated morphological and molecular approach to the description and systematisation of a novel genus and species of Macrodasyida (Gastrotricha). PLoS One 10: e0130278.
- Tyler, S. & Rieger, G.E., 1980. Adhesive organs of the Gastrotricha. Zoomorphologie 95: 1-15.
- Vogt, L., Bartolomaeus, T. & Giribet, G., 2010. The linguistic problem of morphology: structure versus homology and the standardization of morphological data. Cladistics 26: 301-325.

Table

Table 1. Characteristics of all species of the genus *Acanthodasys*. *D* – dorsal, *V* – ventral, *D* ≠ *V* – dorsal side different from ventral side of the body, *TbA* – anterior adhesive tubes, *TbD* – dorsal adhesives tubes, *TbL* – lateral adhesive tubes, *TbVL* – ventrolateral adhesive tubes, *TbP* – posterior adhesive tubes, *L spines D* – length of the spines in the dorsal side, *L spines V* – length of the spines in the ventral side, *Ep. Gl.* – epidermal glands, *X* – presence, *Ø* – absence, *p/s* – per side, */* - no information or not seen.

Species	Length (µm)	D – V Scales	D ≠ V	TbA	TbD	TbL	TbVL	TbP	Spineless Scales	L spines D (µm)	L spines V (µm)	Ep. Gl.	Cilia
<i>A. aculeatus</i>	500 - 800	X	X	4 p/s	/	10 -12 p/s	8 -12 p/s	3 p/s	X	4 -5	5	/	2 columns
<i>A. algarvense</i>	700 - 800	X	X	1 p/s	Ø	Ø	14 p/s	5 p/s	Ø	8	6	35 – 40 p/s	Patches
<i>A. arcassonensis</i>	560 - 740	X	X	7 -9	Ø	15 – 18 p/s	/	3 p/s	X	8 - 11	2,5 – 2,8	27 - 50 p/s	5 – 7 irregular columns
<i>A. caribbeanensis</i>	375 - 625	X	X	8 p/s	Ø	Ø	43 p/s	4 p/s	X	17 - 50	Ø	10 p/s	Complete field
<i>A. carolinensis</i>	1200	Ø	X	5 p/s	Ø	Ø	10 – 11 p/s	3 p/s	Ø	12	10	20 p/s	Patches
<i>A. comtus</i>	500 - 600	X	X	10 – 12 p/s	Ø	4 p/s	62 – 69 p/s	20 - 30	X	4 - 54	Ø	/	Complete field
<i>A. ericinus</i>	550 - 750	X	X	2 – 4 p/s	3 – 7 medial	7 – 11 p/s	6 – 9 p/s	3 – 4 p/s	X	2 – 6	/	22 – 29 p/s	1 column medioventral
<i>A. fibrosus</i>	635	X	X	8 p/s	Ø	15	Ø	7 p/s	Ø	5 - 20	4 - 10	15 p/s	2 columns
<i>A. flabellicaudus</i>	592	X	Ø	5 p/s	3 p/s	Ø	12 p/s	3 p/s	Ø	8	8	30 – 32 p/s	Patches
<i>A. lineatus</i>	600 - 750	X	X	4 p/s	11 – 16 p/s	Ø	16 p/s	4 p/s	Ø	4 - 11	2 - 4	/	/
<i>A. paurocactus</i>	300 - 450	X	X	5 p/s	Ø	4 p/s	20 p/s	4 p/s	X	4 - 15	2 - 4	15 – 20 p/s	Series of continuous rows
<i>A. silvulus</i>	345 - 430	D and L	Ø	2 p/s	Ø	8 p/s	Ø	2 p/s	Ø	5	Ø	10 – 12 p/s	2 columns
<i>A. sp.1. nov</i>	643	X	X	6 p/s	Ø	6 p/s	20 p/s	3 p/s	X	4,6 – 6,2	1,7 – 2,8	50 – 55 p/s	Complete field

Figure captions

Fig 1. Schematic drawing of *Acanthodasys australis* n.sp. **a.** Dorsal view of the anterior body region showing the covering of uniancres; **b.** Ventral view of the anterior body region, showing the lanceolate scales with a honeycomb arrangement; **c.** Composite sketch showing the internal of the body; **d.** Composite sketch showing the ventral body side with ventrolateral adhesive tubes and ventral locomotory cilia; **e.** Sketches of the two types of scales (eye-shaped and lanceolate scales) based on SEM photographs; **f.** Sketch of the spined scales (uniancre) based on SEM micrographs. Scale bar: a, b, c, d: 50 μ m.

Fig 2. *Acanthodasys australis* n. sp. DIC optics. **a.** Holotype, ventral view; **b.** Dorsal view: closeup of the mouth; **c.** Dorsal view of the trunk, showing the uniancres; **d.** Ventral view of the head with the TbA; **e.** Ventral view of the trunk, showing the honeycomb arrangement of the lanceolate scales; **f.** Ventral view of the posterior trunk, with TbL and TbP. Scale bars: 50 μ m.

Fig 3. *Acanthodasys australis* n. sp. SEM photos. **a.** Ventral view, closeup of mouth, anterior adhesive tubes **b.** Uniancres in different sizes – smaller in ventral side and bigger on dorsal, lanceolate scales in ventral side of the body **c.** Cuticle, ventral and ventrolaterally side, uniancres and scales (eye-shaped and lanceolate scales) **d.** Cuticle, dorsal side, cruciform uniancres **e.** Ventral side, posterior end, ventrolateral adhesive tubes **f.** Closeup of posterior end, posterior adhesive tubes. Scale bars: a, b, e: 10 μ m; c: 2 μ m; d, f: 5 μ m.

Fig 4. *Acanthodasys australis* n. sp. TEM photos. **a, b.** Longitudinal sections of the body wall, showing the uniancres, the spineless scales, the epidermal glands and an adhesive tube **c.** Transverse section of an adhesive tube showing viscid glands and realizing gland. Scale bars: a: 5 μ m, b: 1 μ m, c: 0,5 μ m.

Fig 5. Reproductive system of *Acanthodasys australis* n.sp **a.** Anterior trunk with the 'rosette organ': the central pore is surrounded by gland cells full of secretory vesicles arranged in a radial pattern; the frontal organ is also visible (DIC); **b.** Ventral view of a whole specimen showing the rosette pore in the dorsolateral on the left body side (arrow) (SEM); **c.** Posterior trunk showing oocytes in different maturative stages (DIC); **d.** Posterior trunk showing the caudal organ (DIC); **e.** Section of the

caudal organ with secretory cells and circular and longitudinal musculature (TEM); **f.** Sections of mature spermatozoa, with a cork-screw-shaped acrosome, a nuclear-mitochondrial region, a perinuclear helix and a flagellum. Scale bars: a, c: 25 μm , b: 35 μm , d: 50 μm , e: 2 μm , f: 0.5 μm .

Fig 6. *Acanthodasys australis* n. sp. CLSM photos. **a.** Ventral view: circular muscles of the mouth, circular muscles and helicoidal muscles along the pharyngeal region; **b.** Ventral view: circular muscles in the posterior trunk; **c.** Ventral view: ventrolateral longitudinal muscles and medial longitudinal muscles extending over the entire length of the body; **d.** Dorsal view: ventrolateral longitudinal muscles and medial longitudinal muscles; **e.** Section of pharynx: pharyngeal pore.

Fig 7. Phylogenetic relationships of Thaumastodermatidae, inferred from Bayesian analysis of 18S, 28S rDNA and COI mtDNA. The outgroup is represented by *Dactylopodola mesotyphle* (Macrodasysida, Dactylopodolidae), *Mesodasys littoralis* (Macrodasysida, Cephalodasysidae), *Macrodasys sp. 1* (Macrodasysida, Macrodasysidae) and *Xenotrichula intermedia* (Chaetonotida, Xenotrichulidae). Number at nodes represent bootstrap support values. For bootstrap support only nodes with ≥ 70 value are shown.

Figure 1

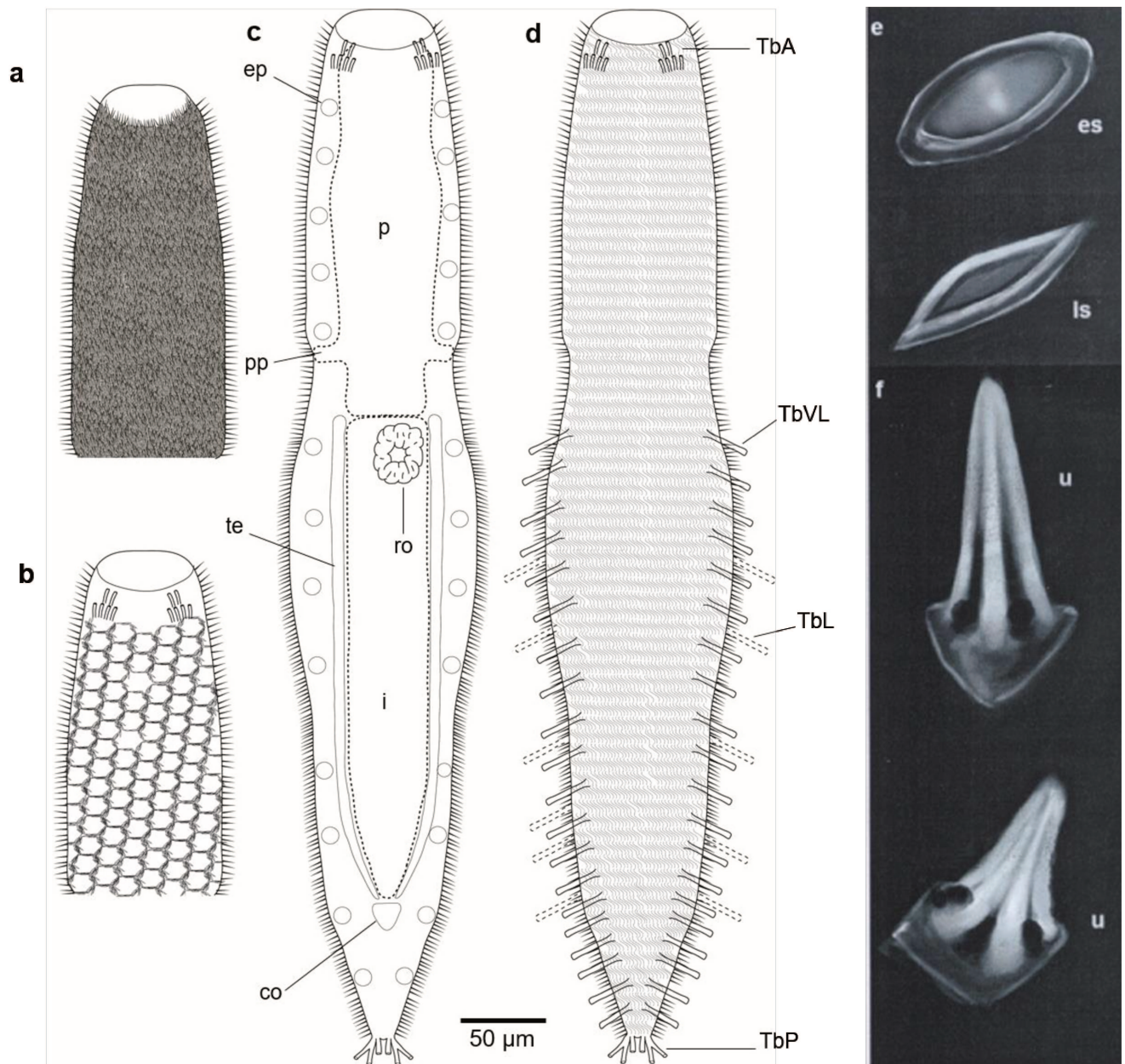


Figure 2

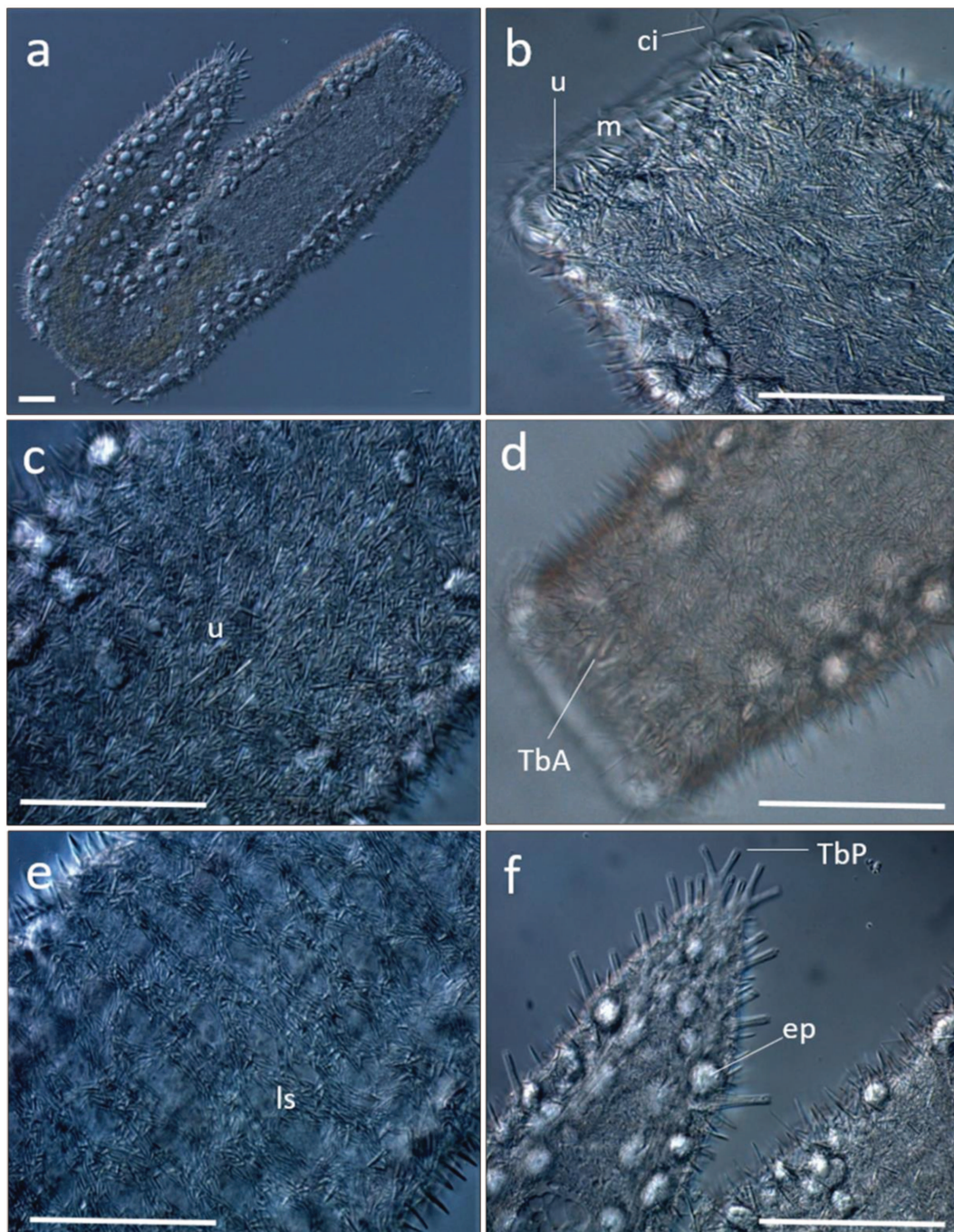


Figure 3

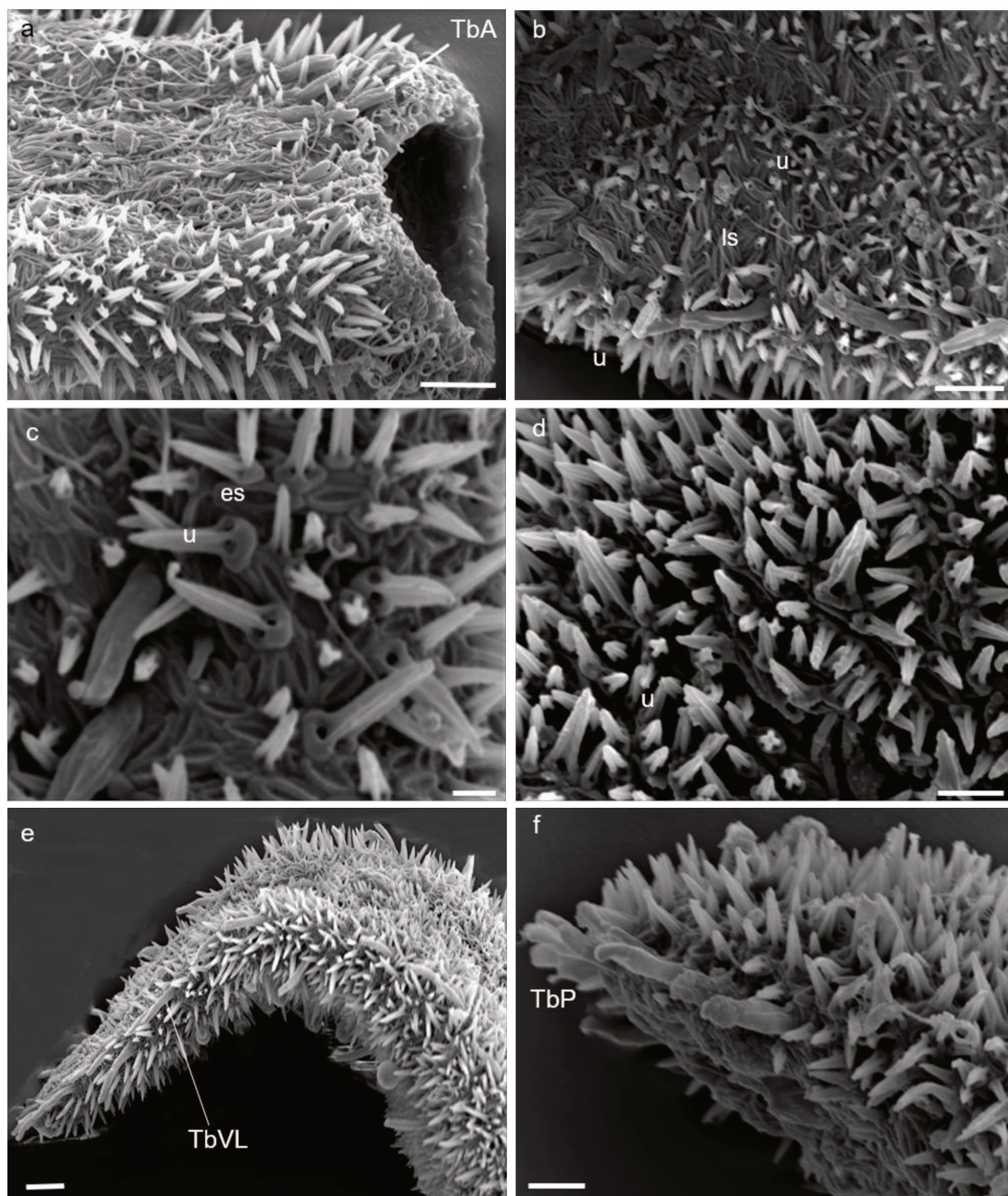


Figure 4

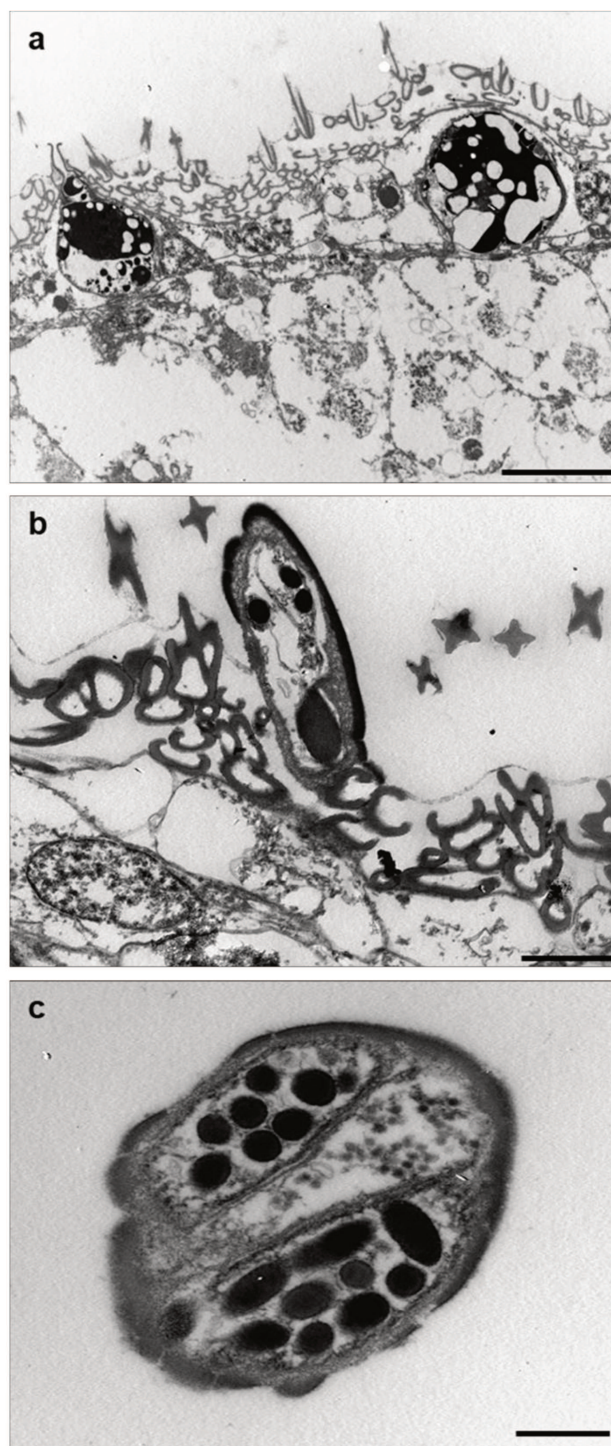


Figure 5

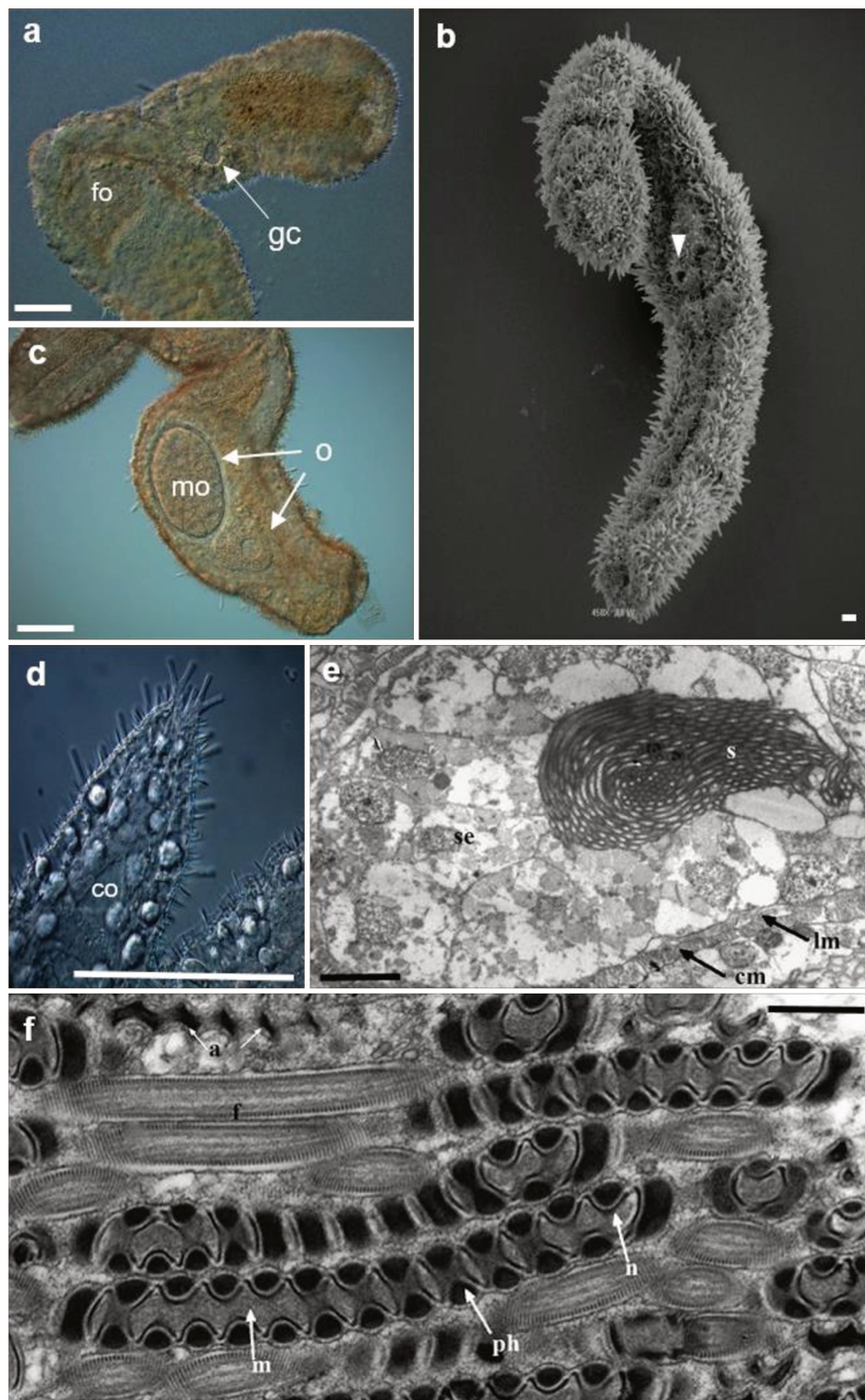


Figure 6

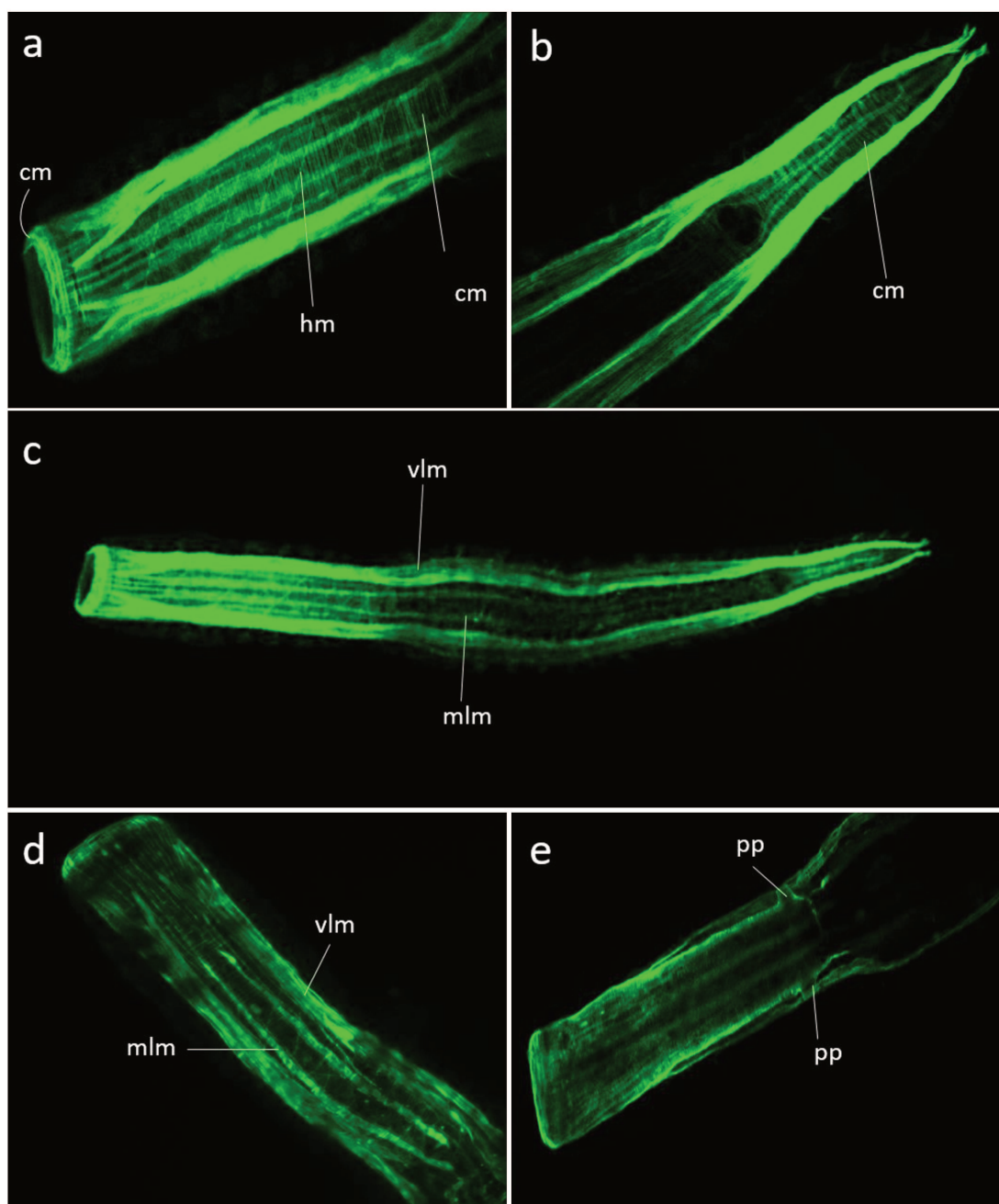
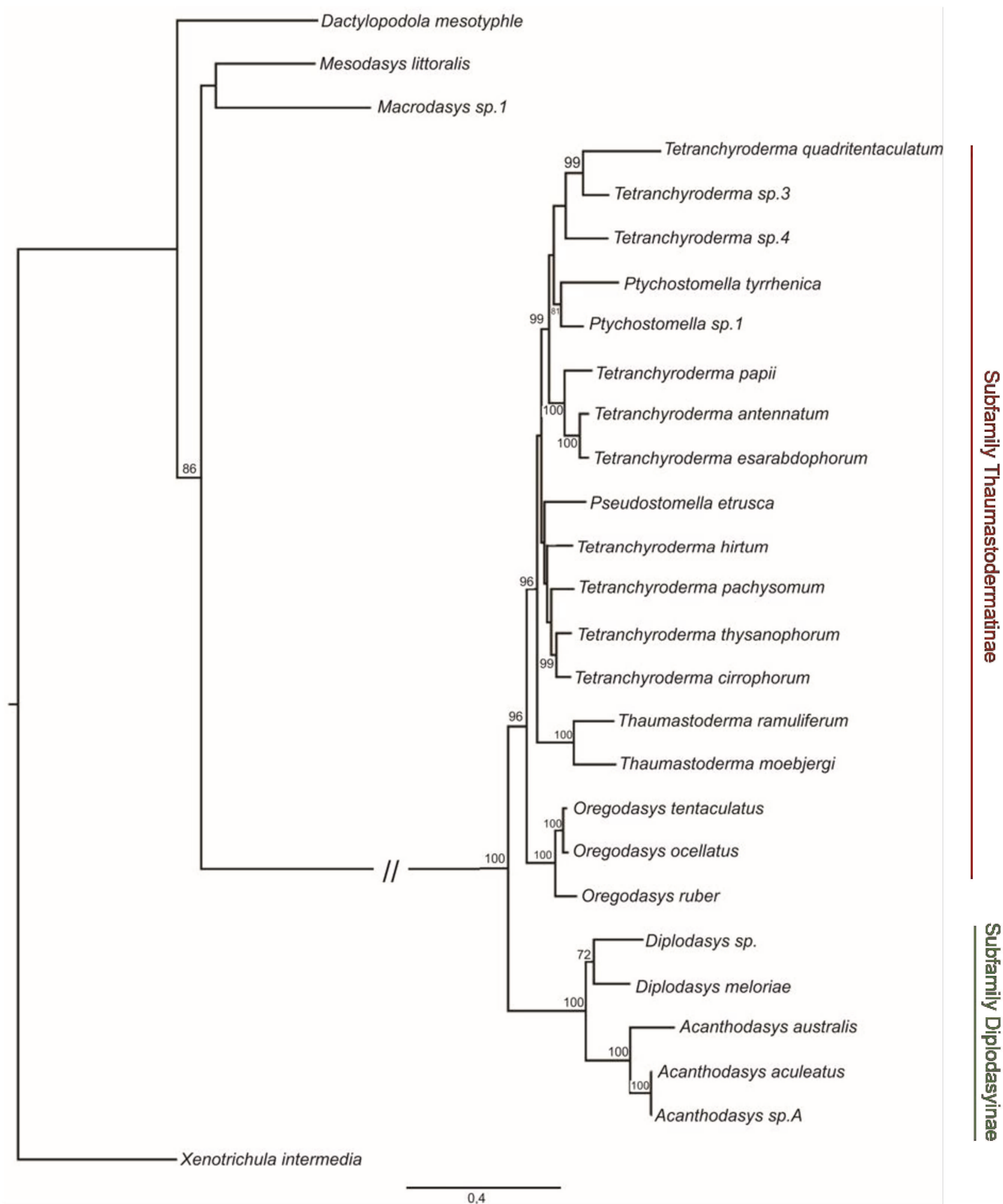


Figure 7



V. CAPÍTULO II

***Acanthodasys* sp2 nov., uma nova espécie de Thaumastodermatidae (Gastrotricha, Macrodasyida) da costa norte do Estado de São Paulo, Brasil**

Isadora Bosco¹, André R. S. Garraffoni¹

¹Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, R. Monteiro Lobato, 255, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Correspondência: arsg@unicamp.br

Resumo

Gastrotricha são microinvertebrados aquáticos encontrados na meiofauna marinha e de água doce. O táxon é comumente dividido em duas ordens, sendo a ordem Macrodasyida formada majoritariamente por representantes marinhos que apresentam o corpo vermiforme, com grande quantidades de tubos adesivos. Esta possui dez famílias, sendo Thaumastodermatidae a mais especiosa delas. Os taumastodermatídeos podem ser facilmente identificados devido à presença de uma boca relativamente grande, dois pedículos adesivos posteriores e, principalmente, por sua cutícula ornamentada. O gênero *Acanthodasys* possui atualmente treze espécies válidas encontradas principalmente na Europa, América do Norte e Central, e apenas recentemente teve a primeira espécie descrita para o hemisfério Sul. Aqui descrevemos uma nova espécie de *Acanthodasys* coletada na Praia da Fome, Ilhabela, Brasil. A nova espécie é caracterizada por ter um comprimento de corpo de 409.3 a 606.3 µm, cutícula com presença de escamas com espinhos (*uniancres*) e escamas simples (sem espinhos), na forma lanceolada, com uma depressão central e uma pequena ornamentação oval no centro apresentada de três tipos: com um, dois ou três ornamentações ovais centrais.

Palavras-chave Taxonomia, Meiofauna, Hemisfério Sul, Gastrotricha, *Acanthodasys* sp2 nov.

Introdução

O estudo de organismos meiofaunais (organismos que podem passar por uma peneira de 0,5 mm a 1 mm, mas é retida por peneiras de 0,044 - 0,063 mm - Giere, 2009) marinhos originou-se nas primeiras décadas do século XX na Europa, começando com trabalhos taxonômicos e, posteriormente, ecológicos (Higgins & Thiel, 1998). As razões para o começo relativamente tardio da pesquisa sobre a meiofauna podem incluir o pequeno tamanho dos organismos meiobênticos e seus habitats pouco explorados para estudo (Giere, 2009). Contudo, apesar deste conhecimento ainda incipiente, em ambientes marinhos, o Filo Gastrotricha representa um componente sempre presente da comunidade meiobêntica dos substratos arenosos, muitas vezes em terceiro lugar em abundância, ficando atrás de Nematoda e Copepoda (Hochberg, 2014).

Apesar da existência de poucos estudos que almejam desvendar a diversidade da fauna de Gastrotricha no Brasil (Todaro & Rocha, 2004, 2005; Araújo *et al.* 2014, 2016; Hochberg, 2014; Garraffoni *et al.* 2016, 2017; Capítulo 1) e o litoral brasileiro ser extremamente heterogêneo e amplo, já começa a se perceber os padrões de composição e distribuição do grupo ao longo da costa sudeste brasileira, que estão correlacionados com a zona de maré, localização e tamanho médio dos grãos (Garraffoni *et al.* 2016).

No intuito de cada vez mais desvendarmos a diversidade dos Gastrotricha, pertencente aos chamados “taxóons protostomados menos conhecidos” (Garey, 2002), descrevemos uma nova espécie de *Acanthodasys* (Macrodasyida, Thaumastodermatidae) coletada em Ilhabela (estado de São Paulo) - Brasil. Para isso, foram utilizadas técnicas de microscopia óptica com DIC (contraste diferencial de interferência) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para obter informações detalhadas sobre as morfologias externas e internas. Vale ressaltar que essa nova espécie vive em simpatria com a espécie *Acanthodasys* sp1 (Capítulo 1), contudo possui uma densidade populacional muito inferior à primeira. Além disso, essa nova espécie foi anteriormente relatada por Garraffoni *et al.* (2017) como *Acanthodasys* sp.2, mas sem apresentar uma descrição formal da mesma.

Material e Métodos

Amostragem taxonômica

Os indivíduos foram coletados no litoral norte do Estado de São Paulo, na Praia da Fome, Ilhabela, Brasil (23°44'27 " S; 45°16'01"W). Para maiores detalhes sobre o local e os procedimentos de coleta, ver Garraffoni *et al.* (2017)

Análises morfológicas

A triagem do sedimento foi realizada em laboratório. Para a anestesia dos indivíduos foi utilizado cloreto de magnésio (MgCl₂) e, para o preparo em placa de Petri, foi utilizado uma peneira de náilon (43 µm) para separar uma pequena parte do sedimento para análise em microscópio estereoscópico Zeiss Stemi 2000. As amostras anestesiadas, isoladas em lâminas de vidro, foram observadas utilizando um microscópio óptico de contraste de interferência diferencial (DIC) equipado com uma câmara de vídeo digital AxioCam MRC5. Também foram utilizadas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), onde os organismos foram fixados e submetidos a uma série de desidratação etanólica com concentrações crescentes (20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 95%, 100 %), secagem do espécime pelo uso da técnica do ponto crítico (CPD) (Hochberg & Litvaitis, 2000) e finalização com a metalização para observação em microscópio eletrônico de varredura JSM 5800LV.

Abreviações: *b* - boca, *b* - base do TbP, *ci* – cílios, *e* – escamas, *f* – faringe, *ge* – glândula epidérmica, *i* – intestino, *pf* - poros faríngeos, *TbA* - tubos adesivos anteriores, *TbL* - tubos adesivos laterais, *TbVL* - tubos adesivos ventrolaterais, *TbP* - tubos adesivos posteriores, *u* – uniancres, *v* – ventre.

Resultados

Taxonomia

Ordem Macrodasysida Remane, 1925 [Rao & Clausen, 1970]

Família Thaumastodermatidae Remane, 1927

Subfamília Diplodasyinae Ruppert, 1978

Gênero *Acanthodasys* Remane, 1927

***Acanthodasys* sp2 nov.**

(Figs. 1-3, Tabela 1)

Material examinado

Holótipo. Fotos do espécime adulto, coletado na Praia da Fome, município de Ilhabela, Estado de São Paulo, Brasil (23°44'27'S; 45°16'01'W). O holótipo está ilustrado na Fig. 1a (Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, 2017: Artigos 73, Recomendação 73G, na Declaração 45), e fotos do holótipo estão disponíveis no Museu de Zoologia da Universidade de Campinas, Brasil.

Parátipos. Fotos de 3 espécimes (adultos) coletados na Praia da Fome, no município de Ilhabela, Estado de São Paulo, Brasil (23°44'27'S; 45°16'01'W) à 8-10 m de profundidade, em 16/07/2015; e foto de 1 espécime (adulto) coletado no mesmo local em 13/08/2018. Todos eles foram examinados vivos com um microscópio composto, mas devido à fragilidade do corpo, eles foram destruídos e não estão mais disponíveis. Fotos dos parátipos (Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, 2017: Artigos 73, Recomendação 73G, na Declaração 45) estão disponíveis no Museu de Zoologia da Universidade de Campinas, Brasil.

Material adicional

Quatro espécimes adultos, coletados em 13 de agosto de 2018 na Ilha de São Sebastião (município de Ilhabela), na Praia da Fome, Estado de São Paulo, Brasil, foram montados para MEV e mantidos na Universidade Estadual de Campinas.

Diagnose

Acanthodasys com comprimento de corpo de 409.3 – 606.3 μm . A largura máxima do corpo na boca / JFI (junção da faringe com o intestino) / ponto médio do tronco do corpo é de 66 / 67.6 / 103.6 μm . Faringe com 153.2 – 247.7 μm de comprimento, presença de poros da faringe em U36. Cutícula (nos lados dorsal e ventral) com presença de escamas com espinhos (uniancres) e escamas simples, na forma lanceolada com depressão central e pequena ornamentação oval central, de três tipos: uma, duas ou três ornamentações ovais centrais. As escamas e os espinhos (uniancres) podem ser vistos com baixa ampliação na óptica do DIC (Fig. 2c, d). Uniancres cobrem ambos os lados do corpo - dorsal e ventral, apresentando no lado dorsal uniancres muito maiores. Eles medem entre 9 – 18.4 μm de comprimento no lado dorsal e 3.6 - 6 μm de comprimento no lado ventral. Pelo menos 15 - 23 glândulas epidérmicas de cada lado, distribuídas ao longo de todo o corpo. 6 TbA de cada lado e distribuídos ao longo da margem da boca em uma única fileira (Fig. 1b, c). 7 TbVL de cada lado, iniciando no meio do tronco (Fig. 3a). 10 TbL de cada lado, presentes apenas na região do tronco (Fig. 3a). 3 TbP de cada lado, 2 terminais e 1 medial, saindo de uma base em cada lobo caudal. Hermafrodita, com testículos pareados.

Descrição

A descrição baseia-se nos espécimes adultos que foram estudados *in vivo* e documentados digitalmente. *Acanthodasys* com corpo majoritariamente em forma de cinta e com 409.3 – 606.3 μm de comprimento. As larguras corporais são: boca 40.5 - 66 μm , região da faringe 35 – 59.5 μm , JFI 32.4 – 67.6 μm , ponto médio do tronco 70.5 – 103.6 μm , base caudal 12.5 - 19 μm . Faringe com 153.2 – 247.7 μm

de comprimento, com poros faríngeos em U36 (Fig. 2b). Boca com numerosos cílios sensoriais (9 – 16.5 μm de comprimento, Fig. 2b). Numerosas glândulas epidérmicas de vários tamanhos (5 - 11 μm de diâmetro), dispostas em colunas longitudinais com cerca de 15 - 23 de cada lado. Cílios locomotores ventrais presentes como um campo completo.

Armadura cuticular. Uniancres e escamas simples são vistas em toda a superfície do corpo. Evidentes uniancres estão organizados ao longo dos lados dorsal e ventrolateral do corpo, presentes no tronco até os lobos caudais e uniancres menores cobrem o lado ventral do corpo (Figs. 2c, d; 3a). Os uniancres mostram um ápice afilado e são em forma de cruz na seção transversal. Cada uniancre surge do centro de uma base de forma quadrangular e uma abertura é visível na base de cada sulco longitudinal da coluna (Fig. 3d, f).

Todas as escamas simples possuem uma ornamentação central oval e estão na forma lanceolada, existem três tipos de escamas lanceoladas interpostas entre os uniancres: com depressão central e contendo uma, duas ou três pequenas ornamentações ovais centrais, distribuídas nas regiões dorsal e ventrolaterais (Fig. 3c). Todas as escamas simples estão dispostas em várias orientações diferentes (longitudinal, transversal, oblíqua) em toda a superfície do corpo.

Escamas em forma lanceolada medindo 2.1 – 8.6 μm de comprimento e 0.8 - 3 μm de largura; depressão central em escamas com 1 - 2 μm de comprimento e 0.5 – 0.86 μm de largura e ornamentação oval central 0.25 – 0.54 μm de largura.

Tubos adesivos. TbA: grupo de 6 tubos de cada lado, 7.5 - 9 μm de comprimento, distribuídos ao longo da margem da boca em uma única fileira (Fig. 1b, c). TbL: 10 de cada lado, 9 – 14.5 μm de comprimento, presentes apenas na região do tronco (Fig. 3a). TbVL: 7 de cada lado, 14 – 17 μm de comprimento, dispostos em uma coluna do meio do tronco até a borda lateral do lobo caudal (Fig. 3a). TbP: 3 de cada lado, agrupados em cada lobo caudal como 2 tubos terminais – 11.5 – 13.5 μm de comprimento, e um tubo medial – 5.7 - 8 μm de comprimento, saindo de uma base em cada lobo caudal (Fig. 1d, e).

Trato digestivo. Boca terminal, máximo de 66 μm de largura. Faringe com 153.2 – 247.7 μm de comprimento, com poros faríngeos na base U36 - não observado em todos os espécimes (Fig. 2b). Ânus não observado.

Sistema reprodutivo. Hermafrodita, com testículos bilaterais pareados ao nível da JFI e estendendo-se posteriormente em dois ductos espermáticos que fluem até o final do intestino. Órgão caudal, órgão frontal e órgão Rosette não observados.

Observações

Até o momento, existem treze espécies válidas e reconhecidas para o gênero *Acanthodasys* : *Acanthodasys aculeatus* Remane, 1927, *A. algarvense* Hummon, 2008, *A. arcassonensis* Kisielewski, 1987, *A. caribbeanensis* Hochberg & Atherton, 2010, *A. carolinensis* Hummon, 2008 , *A. comtus* Lee, 2012, *A. ericinus* Lee, 2012, *A. fibrosus* Clausen, 2004, *A. flabellicaudus* Hummon e Todaro, 2009, *A. lineatus* Clausen, 2000, *A. paurocactus* Atherton e Hochberg, 2012, *A. silvulus* Evans, 1992, *A. sp1* Capítulo 1.

Comparando com *Acanthodasys algarvense*, *A. carolinensis*, *A. paurocactus*, *A. aculeatus*, *A. arcassonensis*, *A. fibrosus*, *A. lineatus*, *A. ericinus* e *A. sp1*, em que todos possuem espinhos com a forma chamada de “uniancres” (ganchos com uma única extremidade, onde na maioria das vezes são cruciformes) nos lados dorsal e ventral do corpo e em tamanhos diferentes (maiores no dorso e menores no ventre), apenas *A. paurocactus*, *A. arcassonensis*, *A. comtus* e *A. sp1* também tem a presença de escamas de dois tipos morfológicos, como observado em *Acanthodasys sp2 nov.*

Neste último grupo, *A. paurocactus*, *A. comtus* e *A. sp1* mostram a presença de escamas com depressão central, mas somente *A. paurocactus* e *A. sp1* possuem escamas em forma de olho e lanceoladas com depressão central, encontrado também em *Acanthodasys sp2 nov.*

Uma característica que diferencia a espécie *Acanthodasys sp2 nov.* dos demais é a presença de escamas lanceoladas e com ornamentações ovais centrais de três tipos. *Acanthodasys paurocactus* e *A. sp1* são as espécies mais semelhantes a *A. sp2 nov.*, pois também possuem essas escamas na forma lanceolada, em forma de olho e com depressão central, porém *Acanthodasys sp2 nov.* tem escamas lanceoladas com uma, duas ou três ornamentações ovais

centrais. Em *A. paurocactus* as escamas lanceoladas têm duas ornamentações centrais ovais ou uma barra paralela no meio. Já *A. sp1* possui escamas lanceoladas apenas com depressão central, diferente de *A. sp2* nov. que não possui escamas sem ornamentação central.

Discussão

O Filo Gastrotricha possui distribuição geográfica cosmopolita, mas em contrapartida a maioria das espécies é descrita da Europa e da América do Norte, pois a maior parte dos especialistas deste grupo está alocada em instituições desses dois continentes, sendo os locais mais amostrados para os estudos (Kisielewski, 1991; Todaro & Rocha, 2004, 2005; Balsamo *et al.*, 2008; Garraffoni & Balsamo, 2017). Isto pode ser observado no estudo de Garraffoni & Balsamo (2017), onde mostram que a distribuição de Gastrotricha é mais ampla para o número de espécies (mais de 43) em províncias que encontravam-se no Hemisfério Norte e, a maioria das províncias que apresentavam um baixo número de espécies (0 a 3) encontrava-se no Hemisfério Sul.

O gênero *Acanthodasys* pertence à família Thaumastodermatidae, uma família geralmente conhecida por ser ricamente encontrada nas regiões costeiras (Clausen, 2004). O conhecimento dentro deste gênero provém de estudos e descrições realizadas na Alemanha, França, Noruega, Estados Unidos, Itália, Portugal, Caribe e Coréia (Garraffoni & Balsamo, 2017). Por exemplo, para a Europa, existem seis espécies descritas (*Acanthodasys aculeatus* – primeiro relato na Alemanha, *A. algarvense* – encontrada em Portugal, *A. arcassonensis* - França, *A. fibrosus* - Noruega, *A. flabellicaudus* - Itália e *A. lineatus* - Noruega). O segundo continente com maior registro de espécies de *Acanthodasys* foi América do Norte, com as descrições do *Acanthodasys carolinensis* (encontrada na Carolina do Sul – Hummon, 2008), *A. silvulus* e *A. paurocactus*, sendo as duas últimas descritas da Flórida, no entanto encontradas em praia diferentes e distantes (Seagull Beach VS Capron Shoal, Flórida – Evans, 1992; Atherton & Hochberg, 2012). Por outro lado, no Hemisfério Sul o gênero não era conhecido até pouco tempo atrás, no entanto há agora a primeira descrição de uma nova espécie de *Acanthodasys* (Capítulo 1), no litoral norte do Estado de São Paulo, além da segunda espécie agora descrita aqui para o gênero no Brasil, *Acanthodasys* sp2 nov.

Entre as espécies descritas para o gênero, *Acanthodasys aculeatus* é a que possui distribuição geográfica mais ampla, com registros para a costa da Europa (Kisielewski, 1987), do Mediterrâneo, Mar Negro (Todaro *et al.*, 2003) até o sul da costa da Índia (Naidu & Rao, 2004), Ilhas Maldivas (Gerlach, 1961) e Estados

Unidos da América - EUA (Evans, 1992) (Hochberg & Atherton, 2010; Atherton & Hochberg, 2012), seguido por *A. arcassonensis* que foi encontrada em dois pontos da França (Petit-Nice e Banc d'Arguin, em Arcachon - Kisielowski, 1987) e *Acanthodasys caribbeanensis*, encontrada em duas praias na região do Caribe (Carrie Bow Cay, Belize e Isla Colón no arquipélago de Bocas del Toro - Hochberg & Atherton, 2010). Em contra partida, a maioria das demais espécies de *Acanthodasys* apresenta uma distribuição bastante limitada, muitas vezes conhecidas apenas para o local tipo e praias muito próximas (Garraffoni & Balsamo, 2017).

A ocorrência de espécies de *Acanthodasys* em sedimentos mais grossos corrobora com outros registros publicados (Clausen, 2000). Segundo os estudos de Garraffoni *et al.* (2016, 2017), a Praia da Fome localizada em Ilhabela (região de São Sebastião - SP) possui água limpa, clara, com presença de pouca matéria suspensa na coluna d'água e sedimentos de grão médio, sendo um ótimo habitat para a meiofauna. Além disso, Garraffoni *et al.* (2017) também observou uma meiofauna em geral altamente diversificada e abundante, onde identificaram os grupos de Cephalochordata, Acoelomorpha, Cnidaria, Platyhelminthes, Nematoda, Polychaeta, Rotifera, Kinorhyncha e Nemertea, além dos Gastrotricha, confirmando a ocorrência descrita acima com a descrição de duas espécies de *Acanthodasys* para o local com sedimentos grossos.

A descoberta de duas espécies de *Acanthodasys* (*Acanthodasys* sp1 - Capítulo 1 e *Acanthodasys* sp2 - presente estudo) no mesmo ponto de coleta da Praia da Fome, no Hemisfério Sul nos remete ao padrão de distribuição por simpatria, onde esta é caracterizada pela existência de duas ou mais espécies filogeneticamente relacionadas ocupando o mesmo nicho ecológico (a mesma área mas não necessariamente na mesma amostra – Ruppert, 1977; Machado, 2012). Essas espécies frequentemente se diferem em características morfológicas e tais diferenças têm sido, geralmente, interpretadas no sentido de que as espécies evoluíram para reduzir a competição interespecífica (Futuyma, 1998). Esse tipo de distribuição é uma novidade para os representantes do gênero *Acanthodasys*, uma vez que nunca antes havia sido relatada a presença de diferentes espécies no mesmo local e na mesma amostra. Até o presente estudo, diferentes espécies poderiam estar presentes no mesmo continente, ou até mesmo no mesmo país,

mas nunca foram relatadas no mesmo local de coleta e, muito menos, presentes na mesma amostra estudada.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer a Maikon di Domenico pela assistência com o mergulho autônomo e à equipe do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Biológico na Universidade de Campinas (UNICAMP) pelo auxílio na microscopia eletrônica de varredura.

Financiamento

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código Financeiro 001. Também expressamos nossa gratidão ao Conselho Nacional de Pesquisa - CNPQ (478825 / 2013-7), CAPES, CNPq / MCTI / FAP / PROTAX Nº 001/2015, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (2011 / 50317-5; 2014 / 23856-0), e FAEPEX-UNICAMP (2031/15) pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- Araújo, T. Q., Balsamo, M., Garraffoni, A. R. S. (2014) A new species of *Pseudostomodella* (Gastrotricha, Thaumastodermatidae) from Brazil. *Marine Biodiversity* 44: 243–248.
- Araújo, T. Q., Wieloch, A. H., Vidigal, T. H. D., Hochberg, R., & Garraffoni, A. R. S. (2016) *Pseudostomella dolichopoda* Todaro, 2012 and *P. cataphracta* Ruppert, 1970 (Gastrotricha: Thaumastodermatidae): new records from Brazil and USA and an updated key to the genus. *Check List*, 12(6), 1986.
- Atherton, S. & Hochberg, R. (2012) *Acanthodasys paurocactus* sp. n., a new species of Thaumastodermatidae (Gastrotricha, Macrodasyida) with multiple scale types from Capron Shoal, Florida. *ZooKeys* 190: 81–94 doi: 10.3897/zookeys.190.2975
- Balsamo, M., d'Hondt, J., Kisielewski, J., Pierboni, L. (2008) Global diversity of gastrotrichs (Gastrotricha) in fresh waters. *Hydrobiologia* 595:85–91
- Clausen, C. (2000) Gastrotricha Macrodasyida from the Tromsø region, northern Norway. *Sarsia* 85:357- 384.
- Clausen, C. (2004) A new species of *Acanthodasys* (Gastrotricha: Thaumastodermatidae) from the west coast of Norway. *Sarsia* 89:137–141.
- Evans, W. A. (1992) Five new species of marine Gastrotricha from the Atlantic coast of Florida. *Bulletin of Marine Science* 51: 315–328.
- Futuyma, D. (1998) *Biologia evolutiva*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética – SBG, 3 ed. 832 p.
- Garey, J. R. (2002) The lesser-known protostome taxa: An introduction and a tribute to Robert P. Higgins. *Integrative and Comparative Biology* 42: 611-618.
- Garraffoni, A. R. S., Di Domenico, M. & Amaral, A. C. Z. (2016) Patterns of diversity in marine Gastrotricha from Southeastern Brazilian Coast is predicted by sediment textures. *Hydrobiologia* 773: 105-116.

- Garraffoni, A. R. S & Balsamo, M. (2017) Is the ubiquitous distribution real for marine gastrotrichs? Detection of areas of endemism using Parsimony Analysis of Endemicity (PAE). Biological Society of Washington, Proceedings of the Biological Society of Washington, 130 (1): 198-211
- Garraffoni, A. R. S., Di Domenico, M., Hochberg, R. (2017) New records of marine Gastrotricha from São Sebastião Island (Brazil) and the description of a new species. Marine Biodiversity, doi: 10.1007/s12526-016-0486-1.
- Gerlach, S. A. (1961) Über Gastrotrichen aus dem Meeressand der Malediven (Indischer Ozean). Zoologischer Anzeiger 167: 471–475.
- Giere, O. (2009) Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- Higgins R. P., Thiel, H. (1988) Introduction to the study of meio-fauna. Smithsonian Institution Press, London.
- Hochberg, R., Litvaitis, M. K. (2000) Hexamethyldisilazane for Scanning Electron Microscopy of Gastrotricha. Biotechnic and Histochemistry, 75: 41-44.
- Hochberg, R. & Atherton, S. (2010) *Acanthodasys caribbeanensis* sp. n., a new species of Thaumastodermatidae (Gastrotricha, Macrodasysida) from Belize and Panama. ZooKeys 61: 1–10
- Hochberg, R. (2014) *Crasiella fonseci*, a new species of Gastrotricha (Macrodasysida, Planodasyidae) from São Paulo, Brazil. Marine Biodiversity 44: 237–242.
- Hummon, W. D. (2008) Gastrotricha of the North Atlantic Ocean: 1. Twenty four new and two redescribed species of Macrodasysida. Meiofauna Marina, Vol. 16, pp. 117-174.
- Kisielewski, J. (1987) Two new interesting genera of Gastrotricha (Macrodasysida and Chaetonotida) from the Brazilian freshwater psammon. Hydrobiologia 153:23–30. doi:10.1007/BF00005502
- Kisielewski, J. (1991) Inland-water Gastrotricha from Brazil. Annales Musei Zoologici, 43: 1–168.

- Machado, J. V. V. (2012) Effect of sympatry on the genetic diversity of *Aegla platensis* (Crustacea, Decapoda). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - 74 f.
- Naidu, K.V., Rao, G.C. (2004) The Fauna of India and the Adjacent Countries Gastrotricha. Director, Zoological Survey of India, Kolkata, 169 pp.
- Ruppert, E. E. (1977) Zoogeography and speciation in marine Gastrotricha. *Mikrofauna Meeresbod*, 61: 231–251.
- Todaro, M., Matinato, L., Balsamo, M., Tongiorgi, P. (2003) Faunistics and zoogeographical overview of the Mediterranean and Black Sea marine Gastrotricha. *Biogeographia* 24: 131–160.
- Todaro, M. & Rocha, C. (2004) Diversity and distribution of marine Gastrotricha along the northern beaches of the State of São Paulo (Brazil), with description of a new species of *Macrodasys* (Macrodasysida, Macrodasysidae). *Journal of Natural History*, 38:1605–1634.
- Todaro, M. & Rocha, C. (2005) Further data on marine gastrotrichs from the State of São Paulo and the first records from the State of Rio de Janeiro (Brazil). *Meiofauna*, 14:27–31.

Tabelas

Tabela 1. Medidas de diversas partes do corpo do holótipo e dos parátipos. *Comp.* - comprimento; *Glând. Epidérm.* - glândulas epidérmicas; *JFI* - junção da faringe com o intestino.

Legendas de figuras

Fig. 1 *Acanthodasys* sp2. nov. Fotos de DIC. **a.** Holótipo **b.** Vista ventral da cabeça, mostrando o TbA e as escamas ventrais **c.** Zoom da cabeça mostrando o TbA **d.** Região posterior, mostrando o TbP e a base de onde sai o TbP **e.** Região posterior, mostrando o TbP. Escala: a: 74 μ m, b, c, d, e: 50 μ m.

Fig. 2 *Acanthodasys* sp2. nov. Fotos de DIC. **a.** Vista ventral da região anterior, mostrando a boca e os uniancres **b.** Visão interna da região anterior do corpo, cílios da boca, faringe, poros da faringe e intestino **c.** Vista dorsal do tronco, mostrando os grandes uniancres e escamas **d.** Vista ventral do tronco, uniancres e escalas menores. Escala: 50 μ m.

Fig. 3 *Acanthodasys* sp2. nov. Fotos de MEV **a.** Vista lateral do tronco, lado dorsal do corpo em cima e lado ventral embaixo **b.** Vista dorsal do tronco, uniancres e escamas **c.** Escamas lanceoladas no lado dorsal da parte posterior do corpo, no quadrado um zoom dos três tipos de escamas lanceoladas **d.** Zoom dos uniancres dorsais, mostrando a base em forma quadrangular e uma abertura na base de cada sulco longitudinal da coluna **e.** Uniancres e escamas vistas de baixo **f.** Uniancres com as escamas de base. Escala: a, c, e: 10 μ m, b, f: 1 μ m, d: 2 μ m.

Figura 1

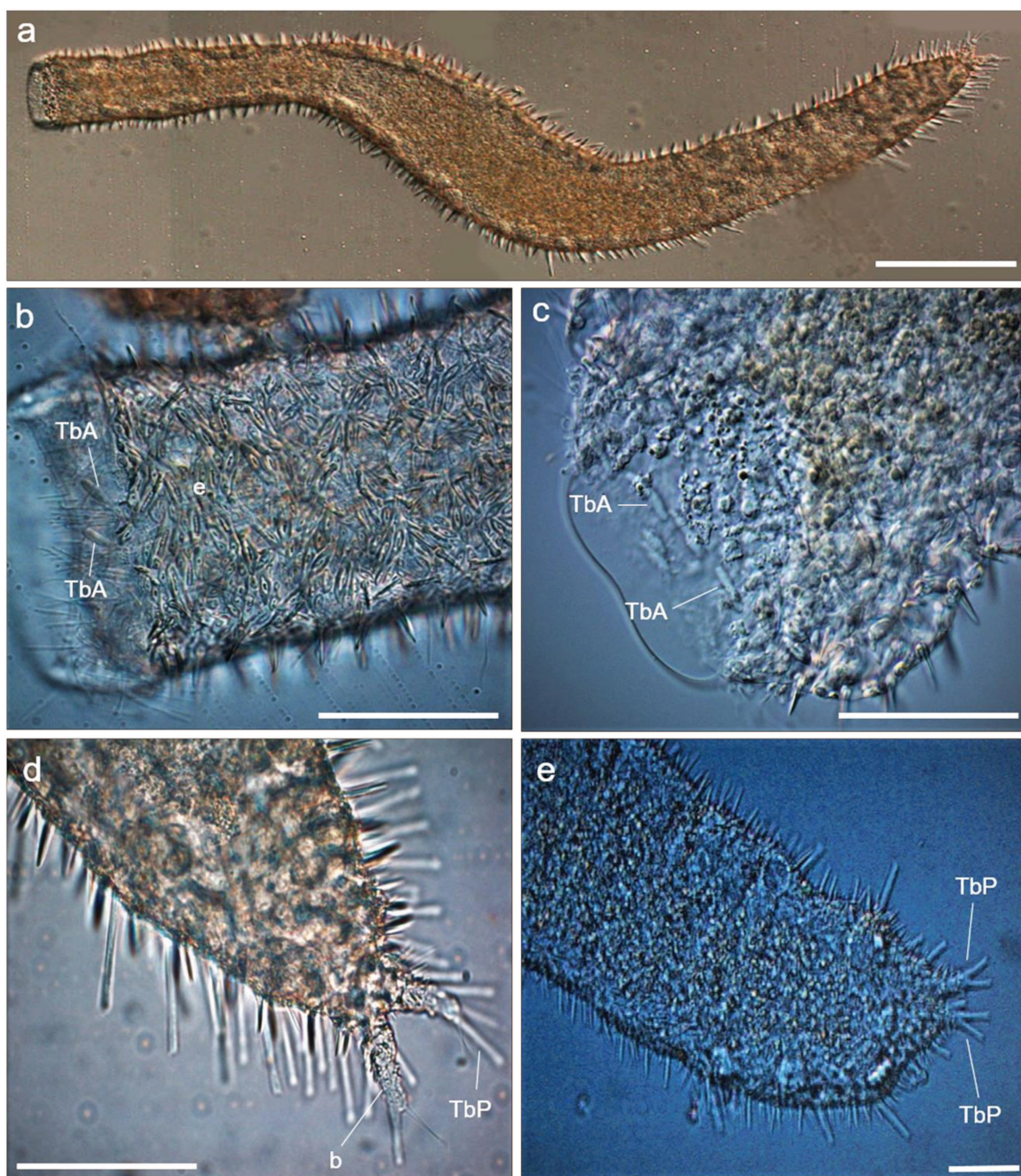


Figura 2

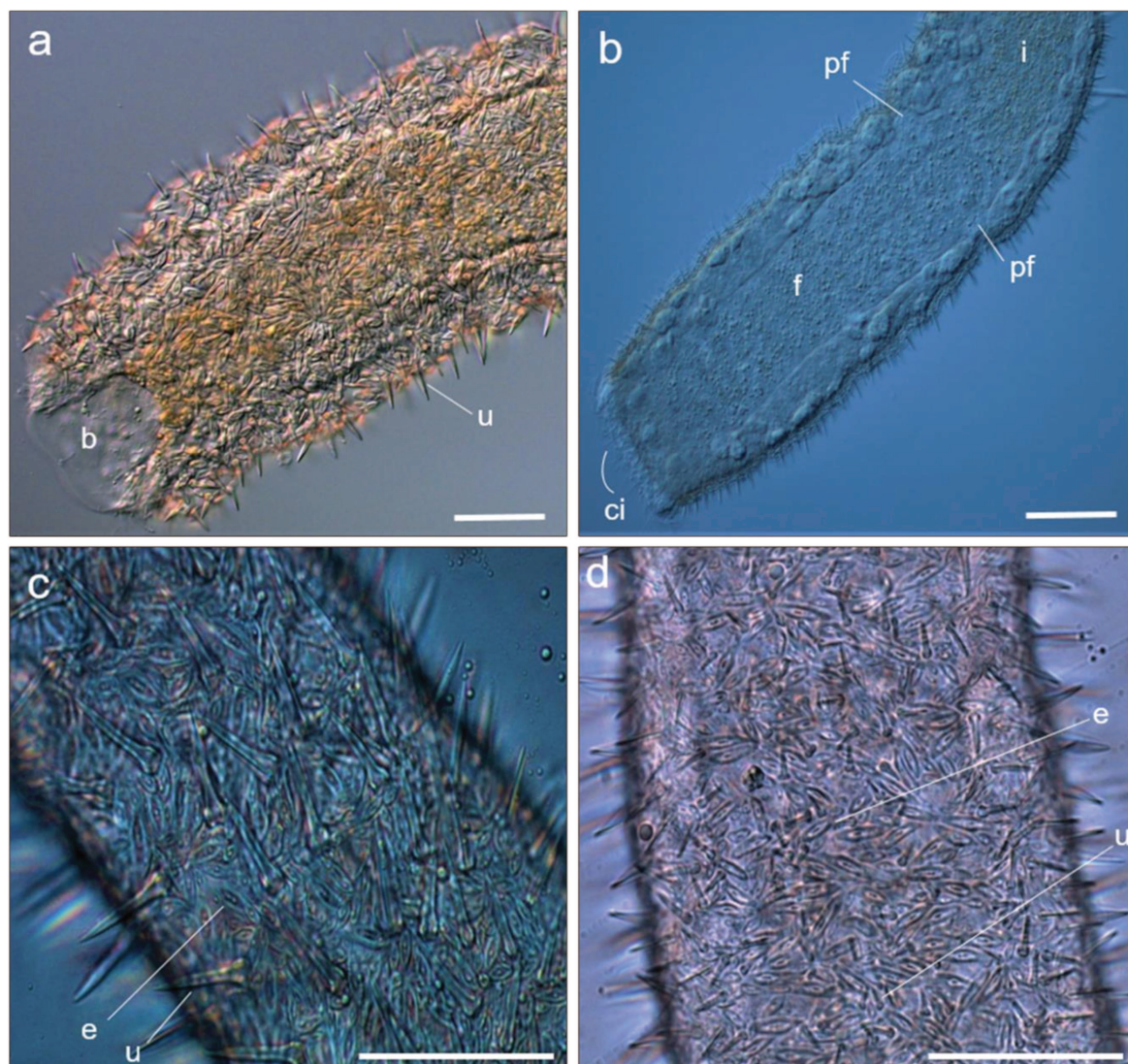
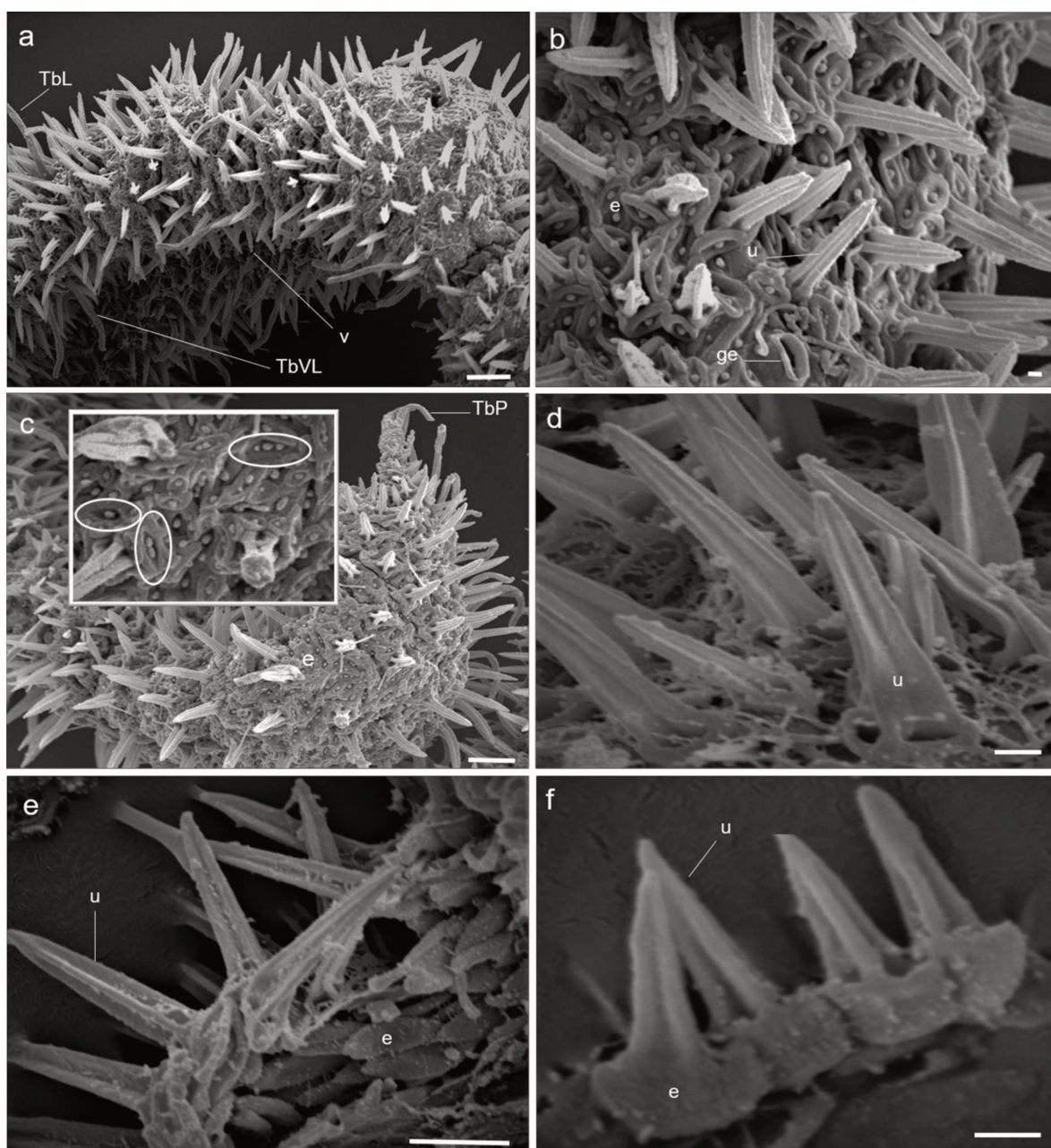


Figura 3



VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos são de grande importância para o aumento do conhecimento do grupo Gastrotricha, principalmente para o Hemisfério Sul onde este foi o primeiro relato do gênero *Acanthodasys*, com descrição de duas novas espécies para o mesmo local, resultando num padrão de distribuição por simpatria.

A simpatria (presença de duas ou mais espécies relacionadas no mesmo nicho ecológico) pode ser observada em grupos de espécies de Gastrotricha e, neste caso especificamente de espécies marinhas. Contudo, a novidade observada aqui é a total superposição da distribuição das espécies *Acanthodasys* sp1 (Capítulo 1) e *Acanthodasys* sp2 (Capítulo 2) acontecer em apenas uma praia. Apesar do baixo conhecimento sobre a distribuição dos gastrótricos brasileiros, o litoral norte do estado de São Paulo pode ser considerado a região mais bem amostrada no país (Todaro & Rocha, 2004, 2005; Hochberg, 2014; Garraffoni *et al.* 2016; 2017) e em nenhum outro local foram encontradas espécies desse gênero.

Apesar de *Acanthodasys* sp1 (Capítulo 1) e *Acanthodasys* sp2 (Capítulo 2) serem bastante semelhantes quando vistos sob microscópio estereoscópico, ambas apresentam diferenças morfológicas claras e constantes quando observadas em ampliações maiores (como por exemplo em microscópio óptico de contraste de interferência diferencial - DIC e microscopia eletrônica de varredura). As diferenças mais visíveis ocorrem no tamanho do corpo (643 μm VS 409.3 – 606.3 μm), nos tipos de escamas (lanceoladas e eye-shaped com depressão central VS lanceolada com depressão central e pequena ornamentação oval central, de três tipos: uma, duas ou três ornamentações ovais centrais), no tamanho dos espinhos “*uniancres*” (4.6 – 6.2 μm de comprimento no dorso, 1.7 – 2.8 μm de comprimento no ventre VS 9 – 18.4 μm de comprimento no dorso, 3.6 – 6 μm de comprimento no ventre) além da quantidade claramente visível de espinhos presentes na cutícula corporal de uma espécie e outra e, apesar do número de tubos adesivos anteriores (TbA) serem iguais para ambas as espécies (presença de 6 TbA) a distribuição destes se diferem (uma única fileira VS duas linhas transversais com o arranjo dos TbA de 2+4).

Por fim, conclui-se que o uso de métodos integrativos é uma valiosa ferramenta para investigações sistemáticas dos espécimes desse táxon, visto que

fornece excelentes resoluções das várias estruturas presentes tanto na superfície externa quanto interna, com o uso de diversas tecnologias como: Microscopia Óptica de Contraste de Interferência Diferencial (DIC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia de Varredura Laser Confocal, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e análises moleculares. Essas diferentes técnicas são de suma importância para um melhor detalhamento estrutural e confiabilidade em descrições de novas espécies, principalmente no estudo de organismos microscópicos e de corpo mole onde na maioria das vezes não é possível o armazenamento do mesmo para estudos posteriores.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Appeltans, W., Ahyong, S. T., Anderson, G., Angel, M. V., Artois, T., Bailly, N., Bamber, R., Barber, A., Bartsch, I., Berta, A., *et al.* (2012) The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology* 22: 2189–2202.
- Araújo, T. Q., Alcantara, F. C. & Garraffoni, A. R. S. (2013) New records of Gastrotricha from Minas Gerais, Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 48: 68-75
- Araújo, T. Q., Balsamo, M., Garraffoni, A. R. S. (2014) A new species of *Pseudostomodella* (Gastrotricha, Thaumastodermatidae) from Brazil. *Marine Biodiversity* 44: 243–248.
- Araújo, T. Q., Wieloch, A. H., Vidigal, T. H. D., Hochberg, R., & Garraffoni, A. R. S. (2016) *Pseudostomodella dolichopoda* Todaro, 2012 and *P. cataphracta* Ruppert, 1970 (Gastrotricha: Thaumastodermatidae): new records from Brazil and USA and an updated key to the genus. *Check List*, 12(6), 1986.
- Artois, T., Fontaneto, D., Hummon, W.D., McInnes, S.J., Todaro, M.A., Sørensen, M.V. & Zullini, A. (2011) Ubiquity of microscopic animals? Evidence from the morphological approach in species identification. In: Fontaneto D. (Ed.) *Biogeography of microscopic organisms: Is everything small everywhere?* New York: Cambridge University Press, 244–283.
- Atherton, S. & Hochberg, R. (2012) *Acanthodasys paurocactus sp. n.*, a new species of Thaumastodermatidae (Gastrotricha, Macrodasyida) with multiple scale types from Capron Shoal, Florida. *ZooKeys* 190: 81–94 doi: 10.3897/zookeys.190.2975
- Balsamo, M., d'Hondt, J., Kisielewski, J., Pierboni, L. (2008) Global diversity of gastrotrichs (Gastrotricha) in fresh waters. *Hydrobiologia* 595:85–91
- Balsamo, M., Grilli, P., Guidi, L., & d'Hondt, J. (2014) Gastrotricha: Biology, Ecology and Systematics: Families Dasydytidae, Dichaeturidae, Neogosseidae, Proichthyidiidae. *Identification Guides to the Plankton and Benthos of Inland Waters*, 24: 1–188.

- Balsamo, M., d'Hondt, J., Kisielewski, J., Todaro, M., Tongiorgi, P., Guidi, L., & Y. de Jong. (2015) Fauna Europaea: Gastrotricha. Biodiversity Data Journal, vol.3, e5800.
- Boaden, P. J. S. (1963) Marine gastrotricha from the interstitial fauna of some north wales beaches. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Vol. 43: 79-96.
- du Bois-Raymond Marcus E. (1952) On South American Malacopoda. Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Sér. Zool.17:189–209.
- Borkent, A. (2018) The state of phylogenetic analysis: narrow visions and simple answers - examples from the Diptera (flies). Zootaxa 4374: 107–143.
- Cerca, J., Purschke, G., Struck, T. H. (2018) Marine connectivity dynamics: clarifying cosmopolitan distributions of marine interstitial invertebrates and the meiofauna paradox. Marine Biology 165:123, pp 21
- Chatterjee T., Priyalakshmi G., Todaro M. A. (2019) An annotated checklist of the macrodasyidan Gastrotricha from India. Zootaxa, 4545 (4): 495–510.
- Clausen, C. (2000) Gastrotricha Macrotrichida from the Tromsø region, northern Norway. Sarsia 85:357- 384.
- Clausen, C. (2004) A new species of *Acanthodasys* (Gastrotricha: Thaumastodermatidae) from the west coast of Norway. Sarsia 89:137–141.
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. Biological Journal of the Linnean Society, Vol 85:407-415.
- Evans, W. A. (1992) Five new species of marine Gastrotricha from the Atlantic coast of Florida. Bulletin of Marine Science 51: 315–328.
- Fonseca, G.; Norenburg, J. & Di Domenico, M. (2014) Diversity of marine meiofauna on the coast of Brazil. Marine Biodiversity 44: 459-462.
- Fontaneto, D., François Flot, J., Tang, C. Q. (2015) Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. Marine Biodiversity, 45:433–451.

- Forneris, L. (1985) Gastrotricha, in Manual de Técnicas para a Preparação de Coleções Zoológicas, No.11 (São Paulo: Sociedade Brasileira de Zoologia), 1-14.
- Futuyma, D. (1998) Biologia evolutiva. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética – SBG, 3 ed. 832 p.
- Garey, J. R. (2002) The Lesser-Known Protostome Taxa: An Introduction and a Tribute to Robert P. Higgins. Integrative and Comparative Biology 42: 611-618.
- Garraffoni, A. R. S., Araújo, T. Q., Lourenço, A. P. & Balsamo, M. (2010) New data on freshwater psammic Gastrotricha from Brazil. Zookeys 60: 1–12, doi: 10.3897/zookeys.60.495.
- Garraffoni, A. R. S., Di Domenico, M. & Amaral, A. C. Z. (2016) Patterns of diversity in marine Gastrotricha from Southeastern Brazilian Coast is predicted by sediment textures. Hydrobiologia 773: 105-116.
- Garraffoni, A. R. S. & Balsamo, M. (2017) Is the ubiquitous distribution real for marine gastrotrichs? Detection of areas of endemism using Parsimony Analysis of Endemicity (PAE). Proceedings of the Biological Society of Washington, 130:198-211.
- Garraffoni, A.R.S., Di Domenico, M. & Hochberg, R. (2017) New records of marine Gastrotricha from São Sebastião Island (Brazil) and the description of a new species. Marine Biodiversity 47: 451-459.
- Garraffoni, A. R. S. & Freitas, A. V. L. (2017) Photos belong in the taxonomic Code. Science 355 (6327): 805.
- Garraffoni, A. R. S., Araújo, T. Q., Lourenço, A. P., Guidi, L., & Balsamo, M. (2019) Integrative taxonomy of a new *Redudasys* species (Gastrotricha: Macrodasysida) sheds light on the invasion of fresh water habitats by macrodasysids. Scientific reports, 9 (1), 2067.

- Garraffoni, A. R. S., Kieneke, A., Kolicka, M., Corgosinho, P. H., Prado, J., Nihei, S. S., & Freitas, A. V. (2019b) ICZN Declaration 45: a remedy for the nomenclatural and typification dilemma regarding soft-bodied meiofaunal organisms? *Marine Biodiversity* 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12526-019-00983-7>
- Gerlach, S. A. (1961) Über Gastrotrichen aus dem Meeressand der Malediven (Indischer Ozean). *Zoologischer Anzeiger* 167: 471–475.
- Gerlach, S. A. (1971) On the importance of marine meiofauna for benthos communities. *Oecologia (Berlin)* 6, 176-190.
- Giere, O. (2009) *Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments*, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- Grosso, L. E., & Drahg, F. (1984) Gastrotricos dulceacuicolas de la provincia de Tucuman II. *Chaetonotus majestuosus* n. sp. *Acta Zoologica Lilloana*, 37, 227–230.
- Grosso, L. E., & Drahg, F. (1986) Gastrotricos dulceacuicolas de la provincia de Tucuman III. *Acta Zoologica Lilloana*, 38, 139–149.
- Grosso, L. E., & Drahg, F. (1991) Gastrotricos dulceacuicolas de la provincia de Tucuman IV. *Acta Zoologica Lilloana*, 40, 47–51.
- Higgins R. P., Thiel, H. (1988) *Introduction to the study of meio-fauna*. Smithsonian Institution Press, London.
- Hochberg, R. & Litvaitis, M. K. (2000) Hexamethyldisilazane for Scanning Electron Microscopy of Gastrotricha. *Biotechnic and Histochemistry*, 75: 41-44.
- Hochberg, R. & Litvaitis, M. K. (2001) A muscular double helix in Gastrotricha. *Zoologischer Anzeiger* 240: 61-68.
- Hochberg, R. (2003) Two new species of *Dactylopodola* (Gastrotricha, Macrodsyida) from islands off the Queensland coast, Australia. *Meiofauna Marina*, 12, 37–45.

- Hochberg, R. (2009) Ultrastructure of feathered triancre in the Thaumastodermatidae and the description of a new species of *Tetranchyroderma* (Gastrotricha: Macrodasysida) from Australia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88, 729–737.
- Hochberg, R. & Atherton, S. (2010) *Acanthodasys caribbeanensis* sp. n., a new species of Thaumastodermatidae (Gastrotricha, Macrodasysida) from Belize and Panama. *ZooKeys* 61: 1–10
- Hochberg, R. (2014) *Crasiella fonseci*, a new species of Gastrotricha (Macrodasysida, Planodasysidae) from São Paulo, Brazil. *Marine Biodiversity* 44: 237–242.
- Hummon, W. D. (2008) Gastrotricha of the North Atlantic Ocean: 1. Twenty four new and two redescribed species of Macrodasysida. *Meiofauna Marina*, Vol. 16, pp. 117-174.
- Hummon, W., Todaro, M. (2010) Analytic taxonomy and notes on marine, brackish water and estuarine Gastrotricha. *Zootaxa*, 2392:1-32.
- Kårneby, T. & Wicksten, M. K. (2014) First record of the enigmatic genus *Redudasys* Kisielewski, 1987 (Gastrotricha: Macrodasysida) from the Northern hemisphere. *Zoosystema*, 36 (4), 723–734
- Kårneby, T., Hochberg, R. (2015) Phylum Gastrotricha. In: Thorp, J., Rogers, D.C. (Eds.), *Ecology and General Biology: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates*, Academic Press, 211–223.
- Kårneby, T., & Kirk, J. J. (2017) A new species of *Redudasys* (Gastrotricha: Macrodasysida: Redudasysidae) from the United States. *Proceedings of the Biological society of Washington*, 130(1), 128-139.
- Katoh, K. & Standley, D. M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30:772-780.
- Kieneke, A., Schmidt-Rhaesa, A. (2014) Gastrotricha. In: Schmidt-Rhaesa A. editor. *Handbook of Zoology*. Vol. 3 Gastrotricha and Gnathifera. De Gruyter, Berlin, Boston. pp 1–134.

- Kieneke A., Nikoukar, H. (2017) Integrative morphological and molecular investigation of *Turbanella hyalina* Schultze, 1853 (Gastrotricha: Macrotrichida), including a redescription of the species. *Zoologischer Anzeiger*, 267:168–186.
- Kisielewski, J. (1987) Two new interesting genera of Gastrotricha (Macrotrichida and Chaetonotida) from the Brazilian freshwater psammon. *Hydrobiologia*, 153: 23–30.
- Kisielewski, J. (1991) Inland-water Gastrotricha from Brazil. *Annales Musei Zoologici*, 43: 1–168.
- Leasi, F. & Todaro, M.A. (2009) Meiofaunal cryptic species revealed by confocal microscopy: the case of *Xenotrichula intermedia* (Gastrotricha). *Marine Biology* 156: 1335-1346.
- Machado, J. V. V. (2012) Effect of sympatry on the genetic diversity of *Aegla platensis* (Crustacea, Decapoda). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - 74 f.
- Miller, M., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Gateway Computing Environments Workshop*, 1–8.
- Müller, O. F. (1773) *Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum et testaceorum, non marinorum, succincta historia*.
- Naidu, K.V., Rao, G.C. (2004) The Fauna of India and the Adjacent Countries Gastrotricha. Director, Zoological Survey of India, Kolkata, 169 pp.
- Pires, A. C. & Marinoni, L. (2010) DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotropica*, Vol. 10, No. 2.
- Ramírez, M. J. (2007) Homology as a parsimony problem: a dynamic homology approach for morphological data. *Cladistics* 23: 588-612.
- Remane, A. (1927a) Neue Gastrotricha Macrotrichida. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere* 54: 203-242.

- Remane, A. (1927b) Gastrotricha, In: Grimpe G. & Wagler E. (Eds.) Die Tierwelt der Nord- und Ostsee. Lieferung X, VII: 1-56. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- Remane, A. (1936) Gastrotricha. In: H.G. Bronn's Klassen und Ordnung des Tierreichs. 4, II, 1, 2. 1-242.
- Ruppert, E. E. (1977) Zoogeography and speciation in marine Gastrotricha. *Mikrofauna Meeresbod*, 61: 231–251.
- Ruttner-Kolisko, A. (1955) *Rheomorpha neiswestnovae* und *Marinellina flagellata*, zwei phylogenetisch interessante Wurmtypen aus dem Süßwasserpsammon. *Österreichische, Zoologische Zeitschrift* 6: 55–69.
- Stamatakis A., Hoover P. & Rougemont J. (2008) A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. *Systematic Biology* 57:758–771.
- Todaro, M., Matinato, L., Balsamo, M., Tongiorgi, P. (2003) Faunistics and zoogeographical overview of the Mediterranean and Black Sea marine Gastrotricha. *Biogeographia*, 24: 131–160.
- Todaro, M., Rocha, C. (2004) Diversity and distribution of marine Gastrotricha along the northern beaches of the State of São Paulo (Brazil), with description of a new species of *Macrodasys* (Macrodasysida, Macrodasysidae). *Journal of Natural History*, 38:1605–1634.
- Todaro, M., Rocha, C. (2005) Further data on marine gastrotrichs from the State of São Paulo and the first records from the State of Rio de Janeiro (Brazil). *Meiofauna Marina*, 14:27–31.
- Todaro, M., Hummon, W. (2008) An overview and a dichotomous key to genera of the phylum Gastrotricha. *Meiofauna Marina*, 16:3–20.
- Todaro, M. A., Dal Zotto, M., Perissinotto, R. & Bownes, S. J. (2011a) First records of Gastrotricha from South Africa, with description of a new species of *Halichaetonotus* (Chaetonotida, Chaetonotidae). *ZooKeys* 142, 1–13.

- Todaro, M., Kanneby, T., Dal Zotto, M., Jondelius, U. (2011b) Phylogeny of Thaumastodermatidae (Gastrotricha: Macrodasyida) inferred from nuclear and mitochondrial sequence data. PLoS ONE, 6, e17892.
- Todaro, M.A. (2012) A new marine gastrotrich from the State of São Paulo (Brazil), with a key to species of *Pseudostomella* (Gastrotricha, Thaumastodermatidae). ZooKeys, 223: 39–51.
- Todaro, M. A., Dal Zotto, M., Jondelius, U., Hochberg, R., Hummon, W. D., Kanneby, T. & Rocha, C. E. F. (2012) Gastrotricha: a marine sister for a freshwater puzzle. PLoS ONE 7: e31740
- Todaro, M. A., Perissinotto, R. & Bownes, S. J. (2013) *Neogosseidae* (Gastrotricha, Chaetonotida) from the iSimangaliso Wetland Park, KwaZulu-Natal, South Africa. ZooKeys 315, 77–94.
- Todaro, M. A. (2013) A new non-naked species of *Ptychostomella* (Gastrotricha) from Brazil. ZooKeys 289: 13–24.
- Todaro, M. A., Dal Zotto, M., & Leasi, F. (2015) An integrated morphological and molecular approach to the description and systematisation of a novel genus and species of Macrodasyida (Gastrotricha). PLoS One 10: e0130278.
- Todaro, M. A. (2018) Marine Gastrotricha in Todaro, M. A. (Ed.), Gastrotricha World Portal. Available on <http://www.gastrotricha.unimore.it/marine.htm>. Accessed 13 July 2018.
- Tyler, S. & Rieger, G.E. (1980) Adhesive organs of the Gastrotricha. Zoomorphologie 95: 1-15.
- Vogt, L., Bartolomaeus, T. & Giribet, G. (2010) The linguistic problem of morphology: structure versus homology and the standardization of morphological data. Cladistics 26: 301-325.
- Todaro, M. A. (2019) Gastrotricha World Portal. Todaro, M. A. (ed.) [available on internet at <http://www.gastrotricha.unimore.it/marine.htm>]. Acesso em 12 março 2019.

Yamauchi, S., Kajihara, H. (2018) Marine Macrodasyida (Gastrotricha) from Hokkaido, Northern Japan. *Species Diversity* 23: 183–192.

VIII. ANEXOS

Anexo I



COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Universidade Estadual de Campinas
Caixa Postal 6109. 13083-970, Campinas, SP, Brasil
Fone (19) 3521-6378. email: cpgib@unicamp.br



DECLARAÇÃO

Em observância ao §5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Dissertação de Mestrado, intitulada "*Sistemática do gênero Acanthodasys Remane, 1927 e filogenia da subfamília Diplodasyinae (Macrodasyida, Thaumastodermatidae)*", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: _____

Nome do(a) aluno(a): Isadora Bosco

Assinatura: _____

Nome do(a) orientador(a): André Rinaldo Senna Garraffoni

Data: 28/05/2018

Anexo II

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congresso sujeitos a arbitragem que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Sistemática do gênero Acanthodasys Remane, 1927 na costa brasileira (Gastrotricha, Macrodasysida, Thaumastodermatidae)**, não infringem os dispositivos da Lei nº 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

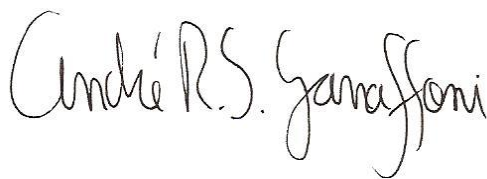
Campinas, 03 de Julho de 2019



Assinatura :

Nome do(a) autor(a): **Isadora Bosco**

RG nº. 49.681.958-6



Assinatura :

Nome do(a) orientador(a): **André Rinaldo Senna Garraffoni**

RG nº: 24.707.631-4