

# Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia Centro de Ciências Exatas e da Natureza – CCEN Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Fábio Lucas de Oliveira Barros

ESTUDO TAXONÔMICO E MORFOMÉTRICO DOS GÊNEROS Terschellingia E Pseudolella (NEMATODA) EM ESTUÁRIOS TROPICAIS NO BRASIL (7°S) Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Centro de Ciências Exatas e da Natureza – CCEN

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia

Fábio Lucas de Oliveira Barros

ESTUDO TAXONÔMICO E MORFOMÉTRICO DOS GÊNEROS

Terschellingia E Pseudolella (NEMATODA) EM ESTUÁRIOS

**TROPICAIS NO BRASIL (7°S)** 

Dissertação apresentada à Coordenação

Programa de Pós-Graduação em Ciências

Biológicas (Zoologia, da Universidade Federal da

Paraíba – UFPB, para obtenção do título de Mestre

em Zoologia.

Orientador: Dr. Miodeli Nogueira Júnior

Coorientadora: Dra. Micheli Cristina Thomas

João Pessoa – PB

2022

## Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

B277e Barros, Fábio Lucas de Oliveira.

Estudo taxonômico e morfométrico dos gêneros Terschellingia e Pseudolella (Nematoda) em estuários tropicais no Brasil (7°S) / Fábio Lucas de Oliveira Barros. - João Pessoa, 2022. 73 f.: il.

Orientação: Miodeli Nogueira Júnior. Coorientação: Micheli Cristina Thomas. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Zoologia. 2. Terschellingia. 3. Pseudolella. 4. Nematoda. 5. Análise de morfometria. I. Nogueira Júnior, Miodeli. II. Thomas, Micheli Cristina. III. Título.

UFPB/BC CDU 59(043)

Elaborado por Larissa Silva Oliveira de Mesquita - CRB-15/746

# Ata da 347<sup>a</sup> Apresentação e Banca de Defesa de Mestrado de FÁBIO LUCAS DE OLIVEIRA BARROS

5 Ao(s) vinte e oito dias do mês de janeiro de dois mil e vinte e dois, às 9:00 horas, no(a) Ambiente 6 Virtual, da Universidade Federal da Paraíba, reuniram-se, em caráter de solenidade pública, 7 membros da banca examinadora para avaliar a dissertação de mestrado de FÁBIO LUCAS DE 8 OLIVEIRA BARROS, candidato(a) ao grau de Mestre(a) em Ciências Biológicas. A banca 9 examinadora foi composta pelos seguintes membros: Dr. Miodeli Nogueira Júnior (Orientador 10 - UFPB/PB); Dra. Tânia Nara Bezerra (Universidade de Ghent -Bélgica); Dra. Taciana 11 Kramer Pinto (UFAL/AL). Compareceram à solenidade, além do(a) candidato(a) e membros da 12 banca examinadora, alunos e professores do PPGCB. Dando início à sessão, a coordenação fez a 13 abertura dos trabalhos, apresentando o(a) discente e os membros da banca. Foi passada a palavra 14 ao(à) orientador(a), para que assumisse a posição de presidente da sessão. A partir de então, o(a) 15 presidente, após declarar o objeto da solenidade, concedeu a palavra a FÁBIO LUCAS DE 16 OLIVEIRA BARROS, para que dissertasse, oral e sucintamente, a respeito de seu trabalho 17 intitulado "Estudo taxonômico dos gêneros Terschellingia e Pseudolella (Nematoda) em 18 estuários tropicais no Brasil (7°S)". Passando então a discorrer sobre o aludido tema, dentro do 19 prazo legal, o(a) candidato(a) foi a seguir arguido(a) pelos examinadores na forma regimental. Em 20 seguida, passou a Comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, 21 concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO. Perante o resultado proclamado, 22 os documentos da banca foram preparados para trâmites seguintes. Encerrados os trabalhos, nada 23 mais havendo a tratar, eu, orientador(a), como presidente, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, 24 assino juntamente com os demais membros da banca examinadora.

2526

1

2

3

João Pessoa, 28/01/2022.

Examinador(a)

Examinador(a)

FÁBIO LUCAS DE OLIVEIRA BARROS

(discente ciente do resultado)

## Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Dr. Miodeli Nogueira Júnior pela oportunidade de conhecer a ciência. Realmente, a forma que o meu orientador pensa sobre a ciência me fez crescer e aproveitar ao máximo esse incrível processo que é a pós-graduação. Obrigado pelos grandes ensinamentos, durante todo o processo.

Agradeço a todos das instituições UFPB e UFCG. Professores, servidores e terceirizados.

Quero expressar minha gratidão aos meus orientadores da graduação Dr. Francisco José Victor de Castro e Dra. Maria Cristina da Silva pela oportunidade de conhecer o mundo da meiofauna/nematofauna. Agradeço também por disponibilizar o laboratório.

Agradeço as professoras Dra. Tânia Nara Bezerra e Dra. Taciana Kramer Pinto por aceitarem participar da banca de avaliação e pela análise desta obra.

Aos colegas da Pós-Graduação, pela grande recepção e por me acolher na minha chegada. Especialmente a Tilbert, João Paulo, Gibran e Thaís Kananda.

Agradeço aos meus amigos pela força. Guilherme Ferreira, Guilherme Santos, Victor Barreto, Brenna Hortins, Hyabbi, Maxsuel.

A minha família, agradeço pelo apoio incondicional, esforço para contribuir com a realização do meu sonho. Sair do interior para fazer Pós-Graduação, sem bolsa é um desafio enorme. Felizmente, tudo se resolveu. Especialmente aos esforços da minha mãe.

A minha noiva Bárbara Belmiro pela força e motivação diária, diante do desafio mental desenvolvido na pandemia.

Agradeço incondicionalmente às pessoas que acreditam em mim.

#### RESUMO GERAL

Os nematoides são abundantes e diversificados em todos os ecossistemas da Terra. O conhecimento sobre a diversidade de espécies desses organismos ainda é escasso. Tamanho diminuto, variações morfológicas, identificações das espécies majoritariamente baseadas em indivíduos machos e alta representatividade de indivíduos jovens no ambiente são dificuldades para o conhecimento mais amplo na taxononomia de Nematoda. O presente estudo teve como objetivo analisar a taxonomia dos gêneros Terschellingia e Pseudolella, abundantes em estuários tropicais, usando caracteres morfológicos e morfométricos. As amostras foram coletadas no ano de 2016 em dois estuários da Paraíba, Brasil (7°S). Os nematoides foram submetidos à diafanização e confeccionadas lâminas permanentes e medidos os espécimes com curvímetro em microscópio óptico com tubo de desenho. Foram utilizadas análises de regressão linear para avaliar as relações entre as variações das características morfométricas, entre estágios ontogenéticos juvenil e adulto com a variação do comprimento total do corpo. ANCOVA foi utilizada para testar diferenças nas variações morfométricas entre os estágios ontogenéticos. Foram analisados 102 indivíduos do gênero Terschellingia, todos identificados como Terschellingia longicaudata, e 92 indivíduos do gênero Pseudolella, propostos aqui como Pseudolella sp. nov. 1, representados por 82 indivíduos e seis indivíduos identificados como morfotipo 1. Em Terschellingia longicaudata, as características diagnósticas foram baseadas em dados morfológicos e morfométricos. Em Pseudolella, o comprimento do anfídio/comprimento da cavidade bucal é um bom diagnóstico, diminuindo a variação morfométrica. Ambos os gêneros tiveram grande variação morfométrica. Essas variações, na maioria dos casos, foram relacionadas com a variação do comprimento total do corpo. Entre estágios ontogenéticos, algumas características diagnósticas não diferiram significativamente. As análises morfométricas permitem avaliar a variação das principais características diagnósticas, tornando-se uma boa ferramenta para discutir as características de gêneros problemáticos do filo Nematoda. A ausência de diferenças significativas nas características morfométricas entre juvens, fêmeas e machos, aliados a dados morfológicos, sugerem que indivíduos dos gêneros Terschellingia e Pseudolella podem ser identificados a nível específico em qualquer uma dessas três condições.

Palavras chave: *Terschellingia*; *Pseudolella*; Análise de morfometria; Nematoda; Variação intraespecífica.

#### **GENERAL ABSTRACT**

Nematode are abundant and diverse in all ecosystems on earth. Knowledge about the species diversity of these organisms is still scarce. Small size, morphological variations, species identifications mostly based on male individuals and high representation of juvenile individuals in the environment are difficulties for a broader understanding of the Nematode taxonomy. The present study aimed to analyze the taxonomy of the genera Terschellingia and Pseudolella, abundant in tropical estuaries, using morphological and morphometric characters. Samples were collected in 2016 in two estuaries in Paraiba – NE, Brazil (7°S). The nematodes were submitted to diaphanization and permanent slides were made and the specimens were measured with a curvimeter in an optical microscope with a drawing tube. Linear regression analyzes were used to evaluate the relationships between variations in morphometric characteristics and the variation in total body size between juvenile and adults, including male and female, ontogenetic stages. ANCOVA was used to test differences between ontogenetic stages in morphometric relationships. A total of 194 specimens of the genera Terschellingia and Pseudolella were analyzed, in which 102 individuals are of the genus Terschellingia, all identified as Terschellingia longicaudata and 92 of the genus Pseudolella, proposed here Pseudolella sp. n. 1, represented by 86 individuals and six individuals identified as Morphotype 1. In Terschellingia longicaudata, diagnostic features were based on morphological and morphometric data. In Pseudolella, proportions were required for a good diagnosis, reducing morphometric variation. Both genera had great morphometric variation. Both genera had great morphometric variation. These variations, in most cases, were related to the variation of the total body size. However, between ontogenetic stages, diagnostic features do not significantly differ from the variations. The morphometric analyzes allow the evaluation of the variation of the main diagnostic characteristics, making it a good tool to discuss the characteristics of problematic genera of the phylum Nematode. The occurrence of morphometric characteristics, without significant differences in the variation in juvenile, female and male stages, combined with morphological data, allow the identification of species of the genera Terschellingia and Pseudolella, regardless of the ontogenetic stage.

Keywords: *Terschellingia; Pseudolella;* Morphometry analysis; nematode; Intraspecific variation.

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa dos estuários do rio Mamanguape e rio Paraíba, Brasil com os pontos
estabelecidos 1-8 - Ocean data view (SCHLITZER, 2015)20
Figura 2. Esquema geral da morfometria dos nematoides (Adaptado de Vinx e Chen,
2000)
Figura 3. Relações entre o comprimento total do corpo em estágios ontogenéticos em
Terschellingia longicaudata. c'= Comprimento total do corpo/diâmetro do corpo na
região anal
Figura 4. Ilustrações da posição da fóvea anfídial em relação as cerdas subcefálicas
Terschellingia longicaudata na literatura. Sin= Sinonímias de Terschellingia
longicaudata, depois de Armenteros et al., 2009. literatura (De Man, 1907; Kreis, 1929;
Schulz, 1932; Allgén, 1933; Schuurmans Stekhoven, 1950; Chitwood, 1951; Timm,
1962; Gerlach, 1963; Wieser e Hopper, 1967; Inglis, 1968; Vitiello, 1969; Armenteros et
al., 2009)
Figura 5. Morfótipo 1. Holótipo. A= Visão geral do corpo; B= Parte anterior,
evidenciando a cavidade bucal com seis dentes; C= Parte anterior, evidenciando a fóvea
anfidial estriada; D= Sistema reprodutor feminino, evidenciando a vulva e os ovários
estendidos; E= Parte posterior, evidenciando a cauda cônico-cilíndrica. Escala (µm).
Figura 6. Morfótipo 1. Holótipo. A= Parte anterior; B= Cavidade bucal; C= Sistema
reprodutor feminino com ovo; D – E= Cauda
<b>Figura 7.</b> Relações entre o comprimento total do corpo em estágios ontogenéticos em P.
sp. nov. 1
Figura 8. Esboço de 12 espécies válidas do gênero <i>Pseudolella</i> . Reprodução das
descrições originais. A-B: P. bengalensis; C-D: P. granulifera; E-G: P. capera; H-I:
Pseudolella ferox; J-L: P. intermedia; M-N: P. irritans; O-P: P. major; Q-R: P. mangrovi;
S-T: P. minor: U-V: P. parva

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Morfometria de <i>Terschellingia longicaudata</i> em estuários tropicais (~7°S).
Literatura: De Man, 1907; Kreis, 1929; Schulz, 1932; Allgén, 1933; Schuurmans
Stekhoven, 1950; Chitwood, 1951; Timm, 1962; Gerlach, 1963; Wieser e Hopper, 1967;
Inglis, 1968; Vitiello, 1969; Armenteros et al., 2009. L= Comprimento total do corpo;
Razões de de Man a= Comprimento do corpo/diâmetro máximo do corpo; b=
Comprimento total do corpo/comprimento da faringe; c= Comprimento total do
corpo/comprimento da cauda. Símbolos: (*) = Característica ausente no estágio de
desenvolvimento ou sexo; (-) = Ausência de dados na literatura. DP= Desvio padrão 40
<b>Tabela 2.</b> Equações de regressão linear ajustadas.    43
Tabela 3. Características morfométricas de <i>Pseudolella</i> sp. Nov. 1. DP= desvio padrão.
58
Tabela 4. Características morfométricas de Morfótipo 1
Tabela 5. Principais diagnósticos das espécies válidas do gênero <i>Pseudolella</i> Cobb, 1920.
<b>Tabela 6.</b> Equações de regressão linear ajustadas

# **SUMÁRIO**

RESUMO GERAL	5
GENERAL ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
1. INTRODUÇÃO GERAL	12
Ordem Monhysterida	13
Ordem Araeolaimida	15
Taxonomia clássica e morfometria	16
Diversidade dos nematoides e o status dos estudos no Brasil	17
2. METODOLOGIA GERAL	19
2.1. Área de estudo:	19
2.2. Em campo:	19
2.3. Em laboratório:	20
2.4. Confecção das lâminas:	20
3. OBJETIVO	18
3.1. Objetivo Geral:	18
3.2. Objetivos específicos:	18
REFERÊNCIAS	23
Capítulo 1: Análise morfométrica de <i>Terschellingia longicaudata</i> (Nematoda: Linhomoeidae) de estuários tropicais (~7°S)	30
4. INTRODUÇÃO	32
5. MATERIAIS E MÉTODOS	36
6. RESULTADOS	37
Descrição	37
7. DISCUSSÃO	43
8. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	46
Capítulo 2: Análise morfométrica e status do gênero <i>Pseudolella</i> (Nematoda: Axonolaimidae) com descrição de duas novas espécies em estuários tropicais (~7°S)	.52
9. INTRODUÇÃO	55
10. METODOLOGIA	56
11. RESULTADOS	57
Descrição do holótipo	57

12.	Análise morfométrica em <i>Pseudolella</i> sp. nov. 1	62
13.	DISCUSSÃO	67
14.	CONCLUSÃO	70
REF	ERÊNCIAS	70
15.	CONCLUSÃO GERAL	74

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

O filo Nematoda ou Nemata é classificado no superfilo Ecdysozoa, que engloba um grupo de animais protostomados com estágio de muda no seu ciclo de vida. Entre os Ecdyozoa estão incluídos os filos Artrhopoda, Nematoda, Nematomorpha, Tardigrada, Priapulida, Kinorhyncha, Onychophora e Loricifera (Halanych, 2004), suportado por SSU e rDNA (Aguinaldo et al., 1997). Outras características como perda de locomoção ciliar, estrutura da cutícula em três camadas e formação de epicutículas microvilares são características compartilhadas entre os grupos do superfilo Ecdysozoa (Nielsen, 1995; Schmidt-Rhaesa et al., 1998).

Diversas abordagens para classificação do filo Nematoda foram realizadas desde meados do século XIX até recentemente (e.g. Schneider, 1866; Perrier, 1897; Lorenzen, 1994; de Ley e Blaxter, 2002). As primeiras classificações foram rudimentares e baseadas em estruturas plásticas como a cavidade bucal e a faringe (Cobb, 1919). A classificação baseada na estrutura da cavidade bucal foi baseada em nível de família, cujos indivíduos que possuem dentes foram classificados na família Odontopharyngidae, enquanto os indivíduos que possuem estiletes foram agrupados na família Tylenchidae (Micoletzky, 1922). Outra estrutura evolutiva foi baseada na estrutura da faringe e no sistema excretor, considerando a faringe cilíndrica o ancestral de todos os nematoides, sendo assim, os Enoplida e Monhysterida estando mais próximos do ancestral dos Nematoda que Plectida e Rhabitida (Micoletzky, 1922).

Um dos avanços na história da classificação dos nematoides foi a inclusão dos parasitos (Chitwood e Chitwood, 1933; Chitwood, 1937), considerando como principal característica os fasmídeos, e propondo os nomes Phasmidia e Aphasmidia. Em 1958, Chitwood sugere Secernentea (indivíduos com canais de sistema excretor lateral) e Adenophorea (referindo a presença de glândulas caudais) para prevenir confusões com grupos de insetos. Essa foi uma das primeiras classificações não simplista da nematologia, agregando indivíduos parasitos aos de vida livre (Rhabditida; Tylenchida). Essa classificação foi aderida por muitos nematologistas até os dias atuais (Lorenzen, 1994; Smythe et al., 2019). Adenophorea e Secernentea são os mais encontrados em livros textos e classificações, mas nunca foi universalmente aceito. Mesmo com "Adenophorea" tendo sido mantido como um táxon válido, muitos autores reconheceram a falta de monofilia do grupo em comparação a "Secernentea" (Maggenti, 1963; De Coninck, 1965;

Gadéa, 1973; Lorenzen, 1981, 1994; Malakhov, Ryzhikov e Sonin, 1982; Inglis, 1983; Adamson, 1987), enquanto Goodley (1963) simplesmente rejeita ambas as classes.

A mais recente classificação baseada em dados morfológicos e moleculares foi proposta por (De Ley e Blaxter, 2002), o filo foi subdividido em duas classes: Enoplea e Chromadorea. Enoplea compreende duas subclasses, Enoplia e Dorylaimia e são considerados os mais primitivos. Chromadorea tem apenas uma subclasse, Chromadoria, com sete ordens, incluindo os aquáticos de vida livre Monhysterida e Araeolaimidae. Os gêneros *Terschellingia* e *Pseudolella* foram escolhidos para detalhamento em nível específico e morfométrico por serem abundantes nos estuários do rio Paraíba e Mamanguape, com >50% de abundância relativa (Tilbert, 2017).

## Ordem Monhysterida

A ordem Monhysterida é caracterizada por apresentar cutícula lisa ou transversalmente anelada, sem pontuação, setas com arranjo 6+6+4, fóvea anfidial circular ou subspiral (raramente espiral), cavidade bucal geralmente pequena ou ausente e sem esclerotização – dentículos, se presentes, são geralmente muito pequenos, esôfago cilíndrico, sem um bulbo verdadeiro (Andrássy, 1983). Uma das principais características da ordem são os ovários estendidos nas fêmeas (Lorenzen, 1994), entretanto, por também ocorrer na ordem Chromadorida, é sugerido que os ovários estendidos sejam originados independente, durante a evolução dos nematoides (Coomans, 2006).

Essa ordem é dividida em duas subordens Monhysterina e Linhomoeina (Fonseca e Bezerra, 2013). A superfamília Siphonolaimoidea faz parte da subordem Linhomoeina. A superfamília é caracterizada pela redução da cavidade bucal, anfídio circular, faringe com bulbo desenvolvido, gônadas emparelhadas em Linhomoeidae, espículas curtas, gubernáculo com apófise dorsocaudal (Heip et al., 1982). Siphonolaimoidea divide-se em três famílias Fusivermidae, Linhomoeidae e Siphonolaimidae. As principais características que classificam Linhomoeidae em Siphonolaimoidea são glândulas presentes na faringe, abertas na cavidade bucal dorsal e subventral; superfície do corpo lisa; e extremidade anterior arredondada (Lorenzen, 1994). A presença de apófise no gubernáculo separa duas famílias dentro da ordem Monhysterida - Linhomoeidae e Monhysteridae (Fonseca e Bezerra, 2013). A estrutura da cavidade bucal distingue quatro

famílias: variável (Linhomoeidae), forma de barril ou cilíndrica (Sphaerolaimidae; Monhysteridae), pequena, tubulosa ou forma de lança em Siphonolaimidae (De Conick, 1965).

A família Linhomoeidae é uma família que compreende 22 gêneros pertencendo à quatro subfamílias (Desmolaiminae, Eleutherolaiminae, Linhomoeinae e Thelonematinae) e são caracterizadas por uma alta heterogeneidade de características morfológicas, onde as setas são dispostas em 6+6+4, cutícula estriada, anfídio circular ou raramente criptoespiral, cárdia bem desenvolvida, fêmeas com dois ovários estendidos e machos com dois testículos opostos (Lorenzen, 1994). Gerlach (1963) revisou a família e desde então nenhuma outra revisão foi realizada (Armenteros et al., 2009).

A subfamília Desmolaiminae é caracterizada principalmente por cutícula lisa ou ligeiramente estriada, segundo e terceiro círculo unidos (6+10) ou separados (6+6+4), anfídio circular, cavidade bucal cônica e presença da cárdia entre faringe e o intestino (Armenteros et al., 2009). A subfamília Desmolaiminae possui 11 gêneros, dentre eles *Pseudoterschellingia, Terschellingioides* e *Terschellingia*.

O gênero *Terschellingia* foi descrito por de Man 1888 e a etimologia do gênero se refere espécimes encontrados em Terschelling, Holanda. Sua diagnose (emendada por Armenteros et al., 2009) é: cutícula finamente estriada (lisa em microscópio óptico), quatro cerdas cefálicas, anfídio circular, localizado a frente da região da cabeça. Cavidade bucal pequena ou ausente, com estruturas esclerotizadas raramente presentes, faringe com formas variáveis, com ou sem a presença de um bulbo esofágico. Cárdia bem desenvolvida. Sistema secretor-excretor posterior ao anel nervoso. Macho com testículos estendidos, espículas curvadas e gubernáculo com apófises. Fêmea didélfica (raramente monodélfica ou prodélfica), ovários estendidos, vulva posicionada no meio do corpo. Cauda anteriormente cônica, posterior cilíndrica com a ponta arredondada, sem cerdas terminais.

Atualmente, há 48 espécies propostas para o gênero *Terschellingia*, as quais 26 são consideradas válidas, 11 sinonímias, em que oito espécies são sinonímias de *Terschellingia longicaudata* e 11 espécies são consideradas incertas (Bezerra et al., 2021). As principais características mortípicas são a cauda (Fonsêca-Genevois et al., 2009; Gagarin e Tu, 2016) e pelo aspecto do bulbo esofágico (Austen, 1989). No entanto,

o gênero *Terschellingia* ainda é um gênero problemático, com poucas características diagnósticas e variações intraespecíficas (Armenteros et al., 2009).

Espécie tipo: Terschellingia communis de Man, 1988

#### Ordem Araeolaimida

A ordem Araeolaimida foi classificada baseada em dados moleculares na classe Chromadorea (De Ley e Blaxter, 2004). Morfologicamente são caracterizados por apresentarem uma cutícula lisa, estriada ou pontuada, órgãos sensoriais labiais papiliformes, de difícil visualização em microscópio óptico, quatro cerdas cefálicas e seis labiais externas, anfídios podem ser espirais (na maioria das vezes), em forma de arco e em forma de poro (raramente), cavidade bucal com dentes ou odontia, machos possuem dois testículos estendidos ou único anterior e fêmeas didélficas (Lorenzen, 1981,1994) Essa ordem contém cinco famílias, 47 gêneros e 397 espécies (Fonseca e Bezerra, 2013).

As famílias da ordem Araeolaimida são Axonolaimidae, Bodonematidae, Comesomatidae, Coninckiidae e Diplopeltidae. A família Axonolaimidae não possui características sinapomórficas que estabeleçam uma monofilia (Fonseca e Bezerra, 2013). Seis estruturas como dentes na parte anterior da cavidade bucal ou (odontias), padrão das cerdas 6+4, separados em dois círculos, anfídios majoritariamente curvados em forma de laço (invertido U ou em forma de O), longitudinalmente alongados ou em forma de poro (caso do gênero *Apodontium*) (Fonseca e Bezerra, 2013). Atualmente há 20 gêneros válidos dentro da família Axonolaimidae, incluindo *Pseudolella* Cobb, 1920 (Bezerra et al., 2021).

O gênero *Pseudolella* Cobb, 1920 é caracterizado por uma cutícula lisa ou anelada, cabeça afilada e arredondada, setas dispostas em 6+4, atingindo ¼ do diâmetro da cabeça no nível das cerdas, anfídios em forma de *loop*, geralmente muito longo, cavidade bucal com parede paralela, esclerotizada, arqueando na base, esôfago sem um bulbo distinto; fêmeas didélficas, com ovários estendidos ou refletidos, machos com dois testículos; espículas curvadas, gubernáculo com apófise, glândulas caudais e espinerete presentes (Tarjan, 1988; Smolyanko e Belogurov, 1993).

Atualmente, existem 13 espécies consideradas válidas (Bezerra et al., 2021): *P. bengalensis* Gerlach, 1962, *P. capera* Tchesunov, 1978, *P. cephalata* Cobb, 1920; *P. ferox* Smolyanko e Belogurov, 1993, *P. granulifera* Cobb, 1920; *P. intermedia* Gerlach,

1957; *P. irritans* Smolyanko e Belogurov, 1993, *P. major* Wang Chunming e Huang Yong, 2016; *P. mangrovi* Gagarin e Thanh, 2016; *P. minor* Gagarin & Thanh, 2008; *P. norvegica* Allgén, 1947; *P. parva* Gagarin e Nguyen, 2006; *P. tenuis* Gagarin & Dinh Tu, 2018.

Espécie Tipo: Pseudolella granulifera Cobb, 1920

FILO NEMATODA Plotts, 1932

**CLASSE CHROMADOREA** Chitwood, 1933

**ORDEM MONHYSTERIDA** Filipjev, 1929

Subordem Linhomoeina Andrássy, 1974
Superfamília Siphonolaimoidea Filipjev, 1918
Família Linhomoeidae Filipjev, 1922
Subfamília Desmolaiminae Schneider, 1926
Terschellingia de Man, 1888

**ORDEM ARAEOLAIMIDA** de Coninck e Schuurmans Stekhoven, 1933

Superfamília Axonolaimoidea Filipjev, 1918

Família Axonolaimidae Filipjev, 1918

Pseudolella Cobb, 1920

#### Taxonomia clássica e morfometria

A taxonomia clássica data muito antes de hipóteses e metodologias estatísticas serem desenvolvidas e implementadas fortemente na ciência. A taxonomia é uma das mais antigas esferas de investigação biológica (desde meados do século 18), trazendo para ciência, dados de classificação, filogenia e descrições de novas espécies, construindo uma base para o entendimento básico para a diversidade biológica (Hamilton et al., 2021). Embora os taxonomistas descrevam a variabilidade de espécies e populações, um dos paradigmas taxonômicos centrais é designar um espécime como referência a todos os outros indivíduos de uma espécie (Ride et al., 2012).

A sistemática dos nematoides enfrenta uma questão fundamental: se as características morfológicas são suficientes para uma classificação natural e se os caracteres utilizados para identificação ao nível específico são confiáveis (Handoo et al., 2021). O conhecimento taxonômico e as chaves de identificação são restritos a poucas áreas geográficas, por exemplo: as chaves mais utilizadas na identificação dos nematoides marinhos são baseados na nematofauna britânica (Platt e Warwick, 1988).

Diversos aspectos e conceitos podem ser usados para determinar uma espécie: bioquímico, molecular, morfológico etc. (Abebe et al., 2011; Sissao et al., 2016). As identificações e descrições de espécies do Filo Nematoda são baseadas na morfometria dos espécimes (Fonseca et al., 2008). Caracteres morfométricos, além de necessário para a sistemática, vem sendo uma ferramenta importante para os modelos ecológicos (Tita et al., 1999; Soteart et al., 2003; Fleeger et al., 2011) e podem ser extramemente úteis para respostas ecológicas de biomoniramento (Srocznska et al., 2021). Os parâmetros morfométricos podem ser sensíveis à diversidade de habitat (Fleeger et al., 2011), de alimentos (Venaverbeke et al., 2004) e batimetria (Soetaert et al., 2009). Assim, espécies cosmopolitas, como *Terschellingia longicaudata*, que habitam diversos tipos de habitats, tem amplas variações morfométricas, o que comumente gera dúvidas e confusões taxonômicas e identificações errôneas, causando confusões nos status do gênero e no conhecimento da diversidade dos nematoides, em geral (Armenteros et al., 2009).

### Diversidade dos nematoides e o status dos estudos no Brasil

O Filo Nematoda tem um déficit taxonômico (número de espécies conhecidas vs. número de espécies estimadas), ainda que o conhecimento tenha aumentado gradativamente com os anos. Na década de 1990 os Nematoda tinham ~4,000 espécies descritas (Lorenzen, 1994; Warwick et al., 1998). Atualmente, há ~30,000 espécies já conhecidas (Appeltrans et al., 2012; Schafer, 2016). Ainda assim, tudo indica que a diversidade de nematoides conhecida represente entre 1 a 10% dos 10 – 100 milhões de espécies ainda não descritas (Meldal et al., 2006).

No Brasil, os estudos da nematofauna aumentaram em 50% entre os anos de 1990 e 2010 (Venekey et al., 2010). A diversidade e taxonomia da nematofauna, na costa brasileira, vem sendo amplamente estudada nos últimos anos com a descrição de novas espécies (Venekey et al. 2005; Botelho et al. 2007, 2009; Cavalcanti et al. 2009; Maria et al. 2009, 2013; Fonsêca-Genevois et al. 2011; Neres et al. 2014; Bezerra et al. 2014;

Larrazábal-Filho et al. 2015, 2017; Cavalcanti e Venekey 2017; Silva et al., 2018; Larrazábal-Filho et al., 2019; Neres et al., 2021).

Algumas listas de estudos taxonômicos de Nematoda de vida livre tem sido elaboradas ao longo da costa brasileira (Fonseca-Genevois et al., 2009; Venekey et al., 2010; Venekey, 2017), contribuindo com o conhecimento de nematodes de região tropical. O crescimento de estudos taxonômicos no Brasil, pode observado no aumento em dados da diversidade entre 2010 e 2017, em que a lista taxonômica consistia em 11 ordens, 59 famílias, 294 gêneros e 231 espécies e na última atualização consistia em 11 ordens, 72 famílias, 372 gêneros e 450 espécies (Venekey et al., 2010; Venekey, 2017; Venekey et al., 2010). Os principais gêneros que representam a nematofauna na costa brasileira são Theristus. Viscosia, Oncholaimus, Daptonema, Sabatieria. Paracanthonchus, Microlaimus e Terschellingia (Venekey, 2017).

A taxonomia de nematodes foi um dos pilares para a inserção dos estudos da meiofauna no Brasil. Os primeiros estudos com os nematoides na costa brasileira foram realizados pelo pesquisador americano Nathan Augustus Cobb, em 1920, na costa da Bahia, quando foram registradas três espécies (*Alaimella truncata, Litotes minuta* e *Synonema brasiliensis*). Os estudos foram retornar mais tarde, pelo Dr. Sebastian Gerlach (e.g. Gerlach 1954; 1956a; 1956b; 1957a; 1957b). Os estudos pioneiros da meiofauna e nematofauna impulsionaram a escola brasileira, que veio se estabelecer depois dos anos 1990, com grande contribuição da professora Dr. Verônica da Fonsêca-Genevois (Fonsêca-Genevois, 1989; Fonsêca-Genevois et al., 2006; Esteves e Fonsêca-Genevois, 2006; dos Santos et al., 2014) e, vem sendo base para trabalhos de cunho ecológico até os dias atuais (De Melo e Venekey, 2014; Fonseca e Netto, 2015; Netto e Fonseca, 2017). Atualmente, grupos de estudos da meiofauna vem sendo distribuídos no Brasil, em diversos centros (e.g. UFCG, UFPB, UFPB, UFPA, UFAL, USP, UFBA).

## 2. OBJETIVO

#### 2.1. Objetivo Geral:

Contribuir com a taxonomia dos gêneros *Pseudolella* (Axonolaimidade) e
 *Terschellingia* (Linhomoeidae) e identificar as espécies dos estuários do rio
 Paraíba e do Rio Mamanguape.

#### 2.2. Objetivos específicos:

- Descrever espécies do gênero *Terschelingia* de Man, 1888 e *Pseudolella* Cobb, 1920;
- Avaliar as características diagnósticas das espécies identificadas do gênero Terschellingia;
- Fazer uma compilação das características morfométricas das espécies identificadas no gênero *Terschellingia*;
- Avaliar as características diagnósticas do gênero Pseudolella;
- Atualizar o status do gênero *Pseudolella*.

#### 3. METODOLOGIA GERAL

#### 3.1. Área de estudo:

As amostras foram coletadas em dois estuários da costa do estado da Paraíba, Nordeste brasileiro. O estuário do rio Mamanguape (ERM) compreende cerca de 14.640 hectares, com grande parte constituída por manguezais, onde se localiza nas coordenadas 06°43'02" – 06°51'54" S e 35°07'46" – 34°54'04" W, com extensão de 8 km do norte ao sul.

O estuário do rio Paraíba (ERPB) possui uma extensão total de 22 km (Marcelino, 2000) e se localiza nas coordenadas 6°51'31" e 8°26'21" S e 34°48'35"; e 37°2'15" W.

## 3.2. Em campo:

Duas campanhas foram realizadas (abril e outubro de 2016), amostrados oito pontos segundo o gradiente estuarino, com 3 réplicas para cada pontos, totalizando em 48 amostras para ERM e 24 para ERPB. Para a coleta da meiofauna foi utilizado um tubo de PVC de 11 cm² de área interna, enterrado 10 cm no sedimento durante as marés baixas, no médio litoral estuarino. Essas amostras foram fixadas em formol 4% e transportadas para o laboratório de meiofauna (LABMEIO) da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité – PB.

Rio Mamanguape
6.76'S

8.76'S

8.76'S

8.76'S

8.76'S

8.76'S

8.76'S

Afântico Sul

7'S

Rio Paraíba

**Figura 1.** Mapa dos estuários do rio Mamanguape e rio Paraíba, Brasil com os pontos estabelecidos 1–8 (retirado de Tilbert, 2018).

## 3.3. Em laboratório:

A nematofauna foi separada do sedimento por meio de elutriação manual em peneira de 45 μm (Boisseau, 1957), colocados em placa de Dolffus em estereomicroscópio e retirados até 120 nematoides por ponto – 40 por réplica. Os nematoides foram transferidos para glicerina com método de De Grisse (1969) e fixados em lâminas permanentes (Cobb, 1917). A análise morfométrica foi realizada utilizando microscópio Olympus CX 31 com um tubo de desenho, medidos com auxílio de cruvímetro. Os termos utilizados para as regiões do corpo são baseadas em Coomans (1979).

## 3.4. Confecção das lâminas:

Os Nematoda armazenados nos eppendorfs passaram por processo de diafanização, com a finalidade de transferir totalmente a glicerina para o corpo do animal,

viabilizando a maior durabilidade dos espécimes na lâmina e a melhor visualização das estruturas internas, facilitando o processo de identificação.

Processo de diafanização (De Grisse, 1969):

- (i) 99% formoldeído e 1% glicerina
- (ii) 95% etanol e 5% glicerina
- (iii) 50% etanol e 50% glicerina

# Identificação das espécies

Os espécimes foram levados para um microscópio óptico para identificação dos indivíduos das espécies. As descrições originais das espécies dos gêneros *Terschellingia* e *Pseudolella* foram Analisadas e revisadas. Todas as descrições realizadas da espécie *Terschellingia longicaudata* foram revisadas minuciosamente para análise de variação morfométrica. Quando necessário, foi consultada a bibliografia disponível no site Nemys/WoRMS, pertencente à Universidade de Ghent, que possui um banco de dados sobre as espécies já descritas até o presente momento (Bezerra et al., 2021).

Foi utilizado um curvítro para medir os espécimes, visualizados em microscópio binocular com tubo de desenho, para auxiliar nas medidas morfométricas e identificação das espécies. As características morfológicas mais comumente utilizadas na identificação de Nematoda são: cutícula, cerdas, cabeça, anfídeo, cavidade bucal, esôfago, órgãos reprodutores e cauda (Lorenzen, 1994). As medidas iniciais foram realizadas com auxílio de um curvímetro. As denominações para as regiões do corpo estudadas seguem Coomans (1979). O esquema das regiões mensuradas e suas delimitações são encontradas na Figura 2.

Comprimento do esôfago Comprimento do corpo Diâmetro máximo do corpo Comprimento da cauda

Figura 2. Esquema geral da morfometria dos nematoides, adaptado de Platt e Warwick, (1983).

# Proporções Índices de De Man (1880):

a: comprimento total do corpo/diâmetro máximo do corpob: comprimento total do corpo/comprimento total da faringec: comprimento total do corpo/comprimento total da cauda

# REFERÊNCIAS

ABEBE, E., MEKETE, T., & THOMAS, W. K. A critique of current methods in nematode taxonomy. African Journal of Biotechnology, v. 10, n. 3, p. 312-323, 2011.

ADAMSON, M.L. (1987) Phylogenetic analysis of the higher classification of the Nematoda. *Canadian Journal of Zoology*, 65, 1478–1482.

AGUINALDO, A.M.A., TURBEVILLE, J.M., LINFORD, L.S., RIVERA, M.C., GAREY, J. R., RAFF, R.A. & LAKE, J.A. (1997) Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature*, 387, 489–493.

ANDRÁSSY, I. (1983) *A taxonomic review of the suborder Rhabditina (Nematoda: Secernentia)*, 241pp. Paris: ORSTOM.

ARMENTEROS, M., RUIZ-ABIERNO, A., VINCX, M., & DECRAEMER, W. (2009). A morphometric analysis of the genus *Terschellingia* (Nematoda: Linhomoeidae) with redefinition of the genus and key to the species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(6), 1257-1267.

APPELTANS, W., AHYONG, S. T., ANDERSON, G., ANGEL, M. V., ARTOIS, T., BAILLY, N., ... & Costello, M. J. (2012). The magnitude of global marine species diversity. *Current biology*, 22(23), 2189-2202.

BOTELHO, A.P., SILVA, M.C., ESTEVES, A.M., & FONSECA-GENEVOIS, V. (2007). Four new species of *Sabatieria* Rouville, 1903 (Nematoda, Comesomatidae) from the Continental Slope of Atlantic Southeast. Zootaxa, 1402: 39-57.

BOTELHO, A.P., SOBRAL, L.D.T., SILVA, M.C., &FONSECA-GENEVOIS, V. (2009). Two new species of *Sabatieria* Rouville (Nematoda, Comesomatidae) with conicalcylindrical tails, from Campos Basin, Rio de Janeiro, Brasil. Zootaxa, 2096: 82-98.

BEZERRA, T. N., SMOL, N., & VINCX, M. (2014). Two new species of *Rhynchonema* Cobb, 1920 from a Brazilian sandy beach. Marine Biodiversity, v. 44, n. 3, p. 343-365.

BEZERRA, T.N., DECRAEMER, W., EISENDLE-FLÖCKNER, U., HODDA, M., HOLOVACHOV, O., LEDUC, D., MILJUTIN, D., MOKIEVSKY, V., PEÑA SANTIAGO, R., SHARMA, J., SMOL, N., TCHESUNOV, A., VENEKEY, V., ZENG,

Z., & VANREUSEL, A. (2019). Nemys: World Database of Nematodes. Accessed at http://nemys.ugent.be on 10/10/2021.

BOISSEAU, J. P. (1957). Technique pour l'étude quantitative de la faune interstitielle des sables. Comptes Rendus Du Congrés Des Sociétés Savantes de Paris et Des Départments, v. 1957, p. 117-119.

CHITWOOD, B.G. and Chitwood, M.B. (1933) The characters of a protonematode. *Journal of Parasitology*, 20, 130.

CHITWOOD, B.G. (1937) A revised classification of the Nematoda. In *Papers on helminthology*, *30 years jubileum K.J. Skrjabin*, edited by Anon., pp. 67–79. Moscow: All-Union Lenin Academy of Agricultural Sciences.

CHITWOOD, B.G. (1958) The designation of official names for higher taxa of invertebrates. *Bulletin of Zoological Nomenclature* 15, 860–895.

COBB, N.A. (1919) The orders and classes of nemas—Contributions to a science of nematology, 8. In *Contributions to a science of nematology*, 1914–1935 by N.A.Cobb. pp. 212–216. Baltimore: Waverly Press.

COBB, N.A. (1917). Notes on Nemas. Contribution to the Science of Nematology. 5, 117-128.

COOMANS, A. (1979). A proposal for a more precise terminology of the body regions of a nematode. Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique, 108, 155–117pp.

COOMANS A, EYUALEM-ABEBE (2006) Order Monhysterida. In: Eyualem Abebe, Traunspurger W, Andrássy I (eds) Freshwater nematodes: ecology and taxonomy. CABI Publishing, Cambridge, pp 574–603.

CAVALCANTI, M.F., SILVA, M.C., & FONSECA-GENEVOIS.V. (2009). *Spirodesma magdae* nov. gen. nov. sp. (Nematoda: Desmodoridae) from the Brasilian deep sea (Campos Basin, Rio de Janeiro, Brasil). Zootaxa, 2096: 109-118.

CAVALCANTI, M.F., & VENEKEY, V. (2017). *Parasphaerolaimus magdolnae* sp. n. (Nematoda, Sphaerolaimidae) with intra-uterine development of its offspring from a Brasilian estuarine system. Brazil. Zootaxa 4358 (2): 339–350.

DA SILVA, M. C., DA SILVA, N. R. R., ESTEVES, A. M., & DECRAEMER, W. (2018). A new genus *Cornurella* gen. n.(Nematoda, Desmodoridae, Filipjev, 1922) from Campos Basin, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Biodiversity*, 48(1), 289-302.

DE CONINCK, L.A.P. (1965) Systématique des nematodes. In *Traité de Zoologie: Anatomie, Systématique, Biologie*, 4 edited by P.P. Grassé. pp. 586–731. Paris: Masson et Cie.

DE GRISSE, A. T. Redescription ou modifications de quelques technique utilis [a] es dan l'etude des n [a] ematodes phytoparasitaires. 1969.

DE MELO, T. P. G., VENEKEY, V., & ROSA FILHO, J. S. (2013). Marine nematoda from Ajuruteua beach, Amazon coast, Brazil. Atlântica (Rio Grande), v. 35, n. 1, p. 67-70.

DE LEY, P., & BLAXTER M. L. (2001). Systematic position and phylogeny. In: The Biology of Nematodes (ed. Lee D). Harwood Academic Publishers, Reading.

DE LEY, P., & BLAXTER, M. L. (2002). A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. In: Proceedings of the Fourth International Congress of Nematology, 8-13. Tenerife, Spain. 633-653.

DE GRISSE, A. T. Comparison of the filter method and the sugar centrifugal flotation method for the extraction of parasitic nematodes from soil. Mededelingen van de Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen te Gent, p. 57-69, 1969.

DOS SANTOS, G. A. P., MOENS, T., VALDES, Y., & LARRAZABAL, M. E. L. (2014). Verônica da Fonsêca-Genevois and the rise of meiofauna studies in Brazil. Life and contribution of a pioneer, in memoriam. *Marine Biodiversity*, 44(3), 229-236.

ESTEVES A. P., & FONSÊCA-GENEVOIS V. G (2006) Os nematódeos e sua importância nos ecossistemas marinhos. Flor Amb 13:113–120

FONSECA, G., & BEZERRA, T. N. 7.15 Order Araeolaimida De Coninck, e Schuurmans Stekhoven, 1933. In: Volume 2 Nematoda. de Gruyter, 2013. p. 467-486, 2014.

FONSECA-GENEVOIS, V., SMOL, N., DECRAEMER, W. & VENEKEY, V. (2009). Bernardius lineatus gen. n., sp. n. (Enoplida: Enchelidiidae), a remarkable nematode with ornamented cuticle from a Brasilian tropical sandy beach. Nematology, 11(2): 275-287. FONSÊCA-GENEVOIS V. G. (1989). Données quantitatives des Nematodes libres d'une Vasiè

FONSECA, G., & NETTO, S. A. (2015). Macroecological patterns of estuarine nematodes. Estuaries and Coasts, v. 38, n. 2, p. 612-619.

GADÉA, E. (1973). Sobre la filogenia interna de los Nematodos. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada*, 54, 87–92.

GERLACH, S. A. (1954). Freilebende Nematoden aus der Lagoa Rodrigo de Freitas (Rio de Janeiro). Zoologischer Anzeiger, 153, 135–143.

GERLACH, S. A. (1956a). Brasilianische Meeres-Nematoden 1. (Ergebnisse eines Studienaufenthaltes na der Universität são Paulo). Boletim do Instituto Oceanográfico de São Paulo, v (1/2), 3–69.

GERLACH, S. A. (1956b). Die Nematodenbeseiedlung des tropischen Brandungsstrandes von Pernambuco, Brasilianische Meeres Nematoden II. Kieler Meeresforsch, 12 (2), 202–218.

GERLACH, S.A. (1957a). Marine Nematoden aus dem Mangrove-Gebiet von Cananeia (Brasilianische Meeres-Nematoden III). Abh. Math. – Naturw. Kl. Academie der Wissenschaften Mainz, 5, 129–176.

GERLACH, S. A. (1957b). Die Nematodenfauna des Sandstrandes na der küste von Mittelb (Brasilianische Meeres-Nematoden IV). Mittheihungen aus der Zoologischen Museum in Berlim, 33 (2), 411–459.

GERLACH, S. A. (1963). Über freilebende Meeresnematoden. Revision der Linhomoeidae. Zoologische Jahrbücher Systematik Band, v. 90, p. 599-658.

GOODEY, J.B. (1963). *Soil and Freshwater Nematodes*. Second edition. 544 pp. London: Methuen.

HALANYCH, K. M. (2004). The new view of animal phylogeny. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst., v. 35, p. 229-256.

HAMILTON, C. A., SHOCKLEY, F. W., SIMMONS, R., SMITH, A., WARE, J., ZASPEL, J. M. (2021). The future for a prominent taxonomy. *Insect Systematics and Diversity*, *5*(1), 2.

HANDOO, Z. A., KANTOR, M., DECRAEMER, W., & SUBBOTIN, S. (2021). Molecular and morphological characterization of trichodorus n. sp.(nematoda: trichodoridae) from maryland, united states. In journal of nematology (vol. 53, pp. 14-14). Po box 311, marceline, mo 64658 usa: soc nematologists.

HEIP, C; VINCX, M., SMOL, N., & VRANKEN, G. (1982). The systematics and ecology of free-living marine nematodes. In *Helminthological Abstracts Series B, Plant Nematology* (Vol. 51, No. 1, pp. 1-31).

INGLIS, W.G. (1983) An outline classification of the phylum Nematoda. *Australian Journal of Zoology*, 31, 243–255.

LARRAZABAL-FILHO, A. L., NERES, P. F., SILVA, D. A., & ESTEVES, A. M. (2019). A new genus with three new species of free-living marine nematodes of the subfamily Desmodorinae (Nematoda: Desmodoridae), from the continental shelf off northeastern Brazil. Zootaxa, 4615(2), zootaxa-4615.

LARRAZÁBAL-FILHO, A. L., SILVA, M.C., ESTEVES, A.M. (2015). Four new species of free-living marine nematodes of the family Desmodoridae (Nematoda: Desmodorida) and a redescription of *Desmodora nini* (Inglis, 1963) from the continental shelf off northeastern Brasil. Zootaxa 4021 (1): 063–09

LARRAZÁBAL-FILHO, A. L., NERES. P.F., ESTEVES, A.M. (2018). The genus *Bolbonema* Cobb, 1920 (Nematoda: Desmodoridae): emended diagnosis, key to males, and description of three new species from the continental shelf off northeastern Brasil. Zootaxa 4420 (4): 551–570.

LAMBSHEAD, P. J. D e BOUCHER, G. Marine nematode deep-sea biodiversity—hyperdiverse or hype?. Journal of Biogeography, v. 30, n. 4, p. 475-485, 2003.

LORENZEN, S. (1981) Entwurf eines phylogenetischen Systems der freilebenden Nematoden. Feröffentlichungen des Institut für Meeresforschungen Bremerhaven, Supplement, 7, 472 pp.

LORENZEN, S. The phylogenetic systematics of free-living nematodes. Ray society, 1994.

MAGGENTI, A.R. (1963) Comparative morphology in nemic phylogeny. In *The lower Metazoa, comparative biology and phylogeny*, edited by E.C. Dougherty. pp. 273–282. Berkeley: University of California Press.

MAGGENTI, Armand R. Nemata: higher classification. In: Manual of agricultural nematology. CRC Press, 2020. p. 147-188.

MALAKHOV, V.V; RYZHIKOV, K; SONIN, M. (1982) The system of large taxa of nematodes: subclasses, orders, suborders. *Zoologicheskij Zhurnal*, 61, 1125–1134.

MARIA, T. F., ESTEVES, A. M., SMOL, N., VANREUSEL, A. DECRAEMER, W. (2009). *Chromaspirina guanabarensis* sp. n. (Nematoda: Desmodoridae) and a new illustrated key to *Chromaspirina* species. Zootaxa, 2092: 21-36.

MARIA, T.F., SMOL, N; ESTEVES, A.M. (2013). Two new species of *Metachromadora* (Nematoda: Desmodoridae) from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil, and a revised dichotomous key to the genus. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 94(1), 105–114.

MELDAL, B. H., DEBENHAM, N. J., DE LEY, P., DE LEY, I. T., VANFLETEREN, J. R., VIERSTRAETE, A. R., ... E LAMBSHEAD, P. J. D. (2007). An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Molecular phylogenetics and evolution*, 42(3), 622-636.

NERES. P.F; SILVA, M.C., MIRANDA - JÚNIOR, G. V., FONSECA-GENEVOIS., ESTEVES, A.M. (2014). Five new species of *Oncholaimellus* (Oncholaimidae: Nematoda) from north-east. Brazil, with an emended diagnosis and na updated key to the genus. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 94(4), 703–727.

NETTO, A; FONSECA, G. Regime shifts in coastal lagoons: Evidence from free-living marine nematodes. PloS one, v. 12, n. 2, p. e0172366, 2017.

MARCINOWSKI, K. (1909) Parasitisch und semiparasitisch Pflanzen lebende Nematoden. Arbeiten aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Landund Forstwirtschaft, 7, 1–192.

MICOLETZKY, H. (1922) Die freilebenden Erd-Nematoden, mit besonderer Berücksichtigung der Steiermark und der Bukowina, zugleich mit einer Revision sämtlicher nicht mariner, freilebender Nematoden in Form von Genus-Beschreibungen und Bestimmungsschlüsseln. *Archiv für Naturgeschichte*, *Abteilung A*, 87, 1–650.

NERES, P. F; DOS SANTOS, G; PARREIRA, P. J; ESTEVES, A, M. New chromadorid nematodes from Brazilian coral reefs: a taxonomic contribution to *Chromadora* Bastian, 1865. Zootaxa, v. 5032, n. 1, p. 47-79, 2021.

NIELSEN, C. (1995) *Animal evolution. Interrelationships of the living phyla.* Oxford: Oxford University Press.

SCHAFER, William. Nematode nervous systems. Current Biology, v. 26, n. 20, p. R955-R959, 2016.

SCHNEIDER, A. (1866) Monographie der Nematoden. 357 pp. Berlin: Georg Reimer.

SCHMIDT-RHAESA, A., BARTOLOMAEUS, T., LEMBURG, C., EHLERS, U. AND GAREY, J. (1998) The position of the Arthropoda in the phylogenetic system. *Journal of Morphology*, 238, 263–285.

SEESAO, Y., GAY, M., MERLIN, S., VISCOGLIOSI, E., ALIOUAT-DENIS, C. M., & AUDEBERT, C. (2017). A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological Methods*, *138*, 37-49.

SMOLYANKO, O. I. AND BELOGUROV, O. I. (1993). Morphology of Marine Free-living Nematodes of One Rare and Two New Species of the Genus *Pseudolella* (Nematoda, Axonolaimidae) and Diagnosis of Genus (Morfologiia Morskikh Svobodnozhivushchikh Nematod Redkogo i Dvukh Novykh Vidov Roda *Pseudolella* (Nematoda, Axonolaimidae) i Diagnoz Roda). Zoologicheskii Zhurnal, 72(5): 5-16.

PERRIER, E. (1897) Traité de Zoologie, Fascicule 4. pp. 1345–2136. Paris: Savy.

PLATT, M; WARWICK, M. Freeliving marine nematodes: Part II. British Chromadorida. Synopses of the British Fauna No. 38. EJ Brill, Dr. W. Backhuys for the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-water Sciences Associatio, 1988.

TARJAN, A. C; KHUONG, Nguyen Ba. A compendium of the family Axonolaimidae (Nematoda). Cahiers de biologie marine, v. 29, n. 3, p. 375-393, 1988.

VENEKEY, V. (2005). *Draconema brasiliensis* and *Draconema fluminensis* (Chromadorida, Draconematidae): two new species of free-living nematodes from a rocky shore affected by upwelling on the Brazilian coast. Zootaxa, 1090: 51-64.

VENEKEY, V; FONSECA-GENEVOIS, F, G; SANTOS, P, J, P. Biodiversity of free-living marine nematodes on the coast of Brazil: a review. Zootaxa, v. 2568, n. 1, p. 39-66, 2010.

VENEKEY, V. Updates on information about free-living marine nematodes in Brazil: new records and comments on problems in taxonomic studies. Zootaxa, v. 4337, n. 1, p. 38-72, 2017.

WARWICK, R. M; PLATT, H. M., SOMERFIELD, P. J. 1998. Free-living marine nematodes. Part III. British monhysterids. Synopses of the British Fauna (New Series). Vol 53. Field Studies Council, Shrewsbury, UK.296 p, 1998.

Capítulo 1: Análise morfométrica de  $Terschellingia\ longicaudata$  (Nematoda: Linhomoeidae) de estuários tropicais ( $\sim 7^{\circ}S$ )

#### **RESUMO**

Variações morfométricas intraespecíficas em nematoides são bem documentadas na literatura e, em muitos casos, podem gerar dificuldades/problemas taxonômicos. No gênero Terschellingia, essas variações resultaram em diversas sinonímias, principalmente devido à variação em indivíduos machos, que geralmente são necessários para descrição ou identificação de espécies de nematoides. O presente estudo tem foco na avaliação na análise morfométrica da espécie *Terschellingia longicaudata*, usando dados inéditos de estuários tropicais ( $\sim$ 7°S) e da literatura. Os espécimes identificados como T. longicaudata possuem uma grande variação morfométrica. A maioria das características que variaram, foram relacionadas com a variação do comprimento total do corpo. Essa variação morfométrica não diferiu significativamente entre os estágios ontogenéticos na maioria das características diagnósticas (ANCOVA; P > 0,5). As características morfológicas podem ajudar na identificação de T. longicaudata, em que a posição dos anfídios na linha das cerdas subcefálicas é recorrente nas descrições da espécie e é um bom diagnóstico para a espécie. A posição dos anfídios possui pouca variação intraespecífica e a variação não difere significativamente entre os estágios ontogenéticos, permitindo a identificação em estágios juvenis e adultos. A análise morfométrica, juntamente com características morfológicas bem definidas podem diminuir problemas taxonômicos em nematoides.

Palavras-chave: *Terschellingia*; Linhomoeidae; Análise morfométrica; Variação intraespecífica.

#### **ABSTRACT**

Intraspecific morphometric variations in nematodes are well documented in the literature and in many cases can generate taxonomic difficulties/problems. In the genus *Terschellingia*, these variations resulted in several synonyms, mainly due to the variation in male individuals, which are usually necessary for the description or identification of nematode species. The present study focuses on evaluating the morphometric analysis of the species *Terschellingia longicaudata* from data from tropical estuaries (~7°S) and data compiled in the literature. The specimens identified as *T. longicaudata* have a great morphometric variation. Most of the characteristics that varied were related to the variation in total body length. This morphometric variation did not differ significantly

between ontogenetic stages in most diagnostic features (ANCOVA; P > 0.5). Morphological characteristics can help in the identification of T. longicaudata, in which the position of the amphids in the line of the subcephalic setae is recurrent in the descriptions of the species and is a good diagnosis for the species. The position of amphids has little intraspecific variation and the variation does not differ significantly between ontogenetic stages, allowing identification in juvenile and adult stages. Morphometric analysis, together with well-defined morphological characteristics, can reduce taxonomic problems in nematodes.

Keywords: *Terschellingia*; Linhomoeidae; Morphometric analysis; Intraspecific variation.

# 4. INTRODUÇÃO

Nematoda é um grupo importante do ecossistema bentônico pela sua predominância e sua contribuição em termos de densidade e diversidade, podendo contribuir com 1000 ind. em 10 cm² (Ferrero et al., 2008; Giere, 2008). Em termos de composição de espécies, o baixo conhecimento em nível específico é um dos principais problemas para avaliar a diversidade dos nematoides. O conhecimento geral da diversidade de espécies do grupo ainda é escasso, com cerca de 30,000 espécies descritas de 1 milhão estimadas (Lambshead, 2003; Zhang, 2013). Esse problema pode estar atrelado às dificuldades intrínsecas na taxonomia de muitos grupos de nematoides, seja pela utilização de forma arbitrária de caracteres diagnósticos qualitativos ou pela utilização de caracteres morfométricos variáveis, os quais podem ser correlacionados, gerando complicações taxonômicas (Forturner, 1990; Bhadury et al., 2008). Outros desafios na taxonomia de nematoides incluem o fato da maioria dos estudos ecológicos identificar apenas até nível genérico (e.g. Alves et al., 2014; Barros et al., 2020), o tamanho diminuto dos organismos e a qualidade do microscópio para visualização de detalhes de pequenas estruturas (Coomans, 2002).

A identificação de espécies de Nematoda requer um detalhamento morfológico (em geral, ~350 características já foram utilizadas em identificação de nematoides) dadas em medidas ou proporções, muitas vezes correlacionadas e descrições baseadas em estruturas que podem variar em diferentes populações e/ou estágios de desenvolvimento, como comprimento total do corpo, cerdas, aparatos sexuais, tamanho da cauda, etc (Ahamed e Jairajpuri, 1981; Forturner, 1990). As descrições das espécies de nematoides são majoritariamente baseadas em indivíduos machos (Warwick et al., 1998; Leduc e Gwyther, 2008; Larrazábal-Filho et al., 2018), o que pode dificultar a identificação de indivíduos juvenis, que comumente predominam nas populações naturais e são mais sensíveis as condições ambientais (Vafeaidou e Moens, 2021).

Dificuldades na identificação de espécies em estágios juvenis podem levar a vários equívocos, subestimando ou superestimando informações básicas da taxonomia e história natural (veja Lane-Medeiros et al., 2021). O gênero *Terschellingia* é abundante em estuários e os juvenis são mais representativos entre os estágios ontogenéticos (Warwick & Price, 1979; Tilbert, 2018). Esses estágios não maduros são frequentemente omitidos em descrições de espécies do gênero *Terschellingia*. Em *Terschellingia* 

longicaudata, por exemplo, apenas três descrições tiveram dados de estágios jovens (De Man, 1907; Wieser, 1956; Timm, 1961). No entanto, essas descrições incluindo indivíduos jovens são baseadas apenas em comprimento do corpo e razões de De Man (1980).

As análises morfométricas fornecem informações necessárias como base para o entendimento da básico de diversos campos da biologia animal, como evolução, ecologia e sistemática (Decraemer e Backljau, 2015). Dentro da sistemática, o detalhamento morfométrico pode definir status das espécies de animais, em geral (e.g. Sheremetyeva et al., 2009; Lane-Medeiros et al., 2021). No Filo Nematoda, as descrições das espécies são baseadas, principalmente, em caracteres morfométricos (Warwick et al., 1998; Fonseca et al., 2008). No entanto, as medidas corporais são influencidas pela dinâmica do ambiente (Tita et al., 1999; Fleeger et al., 2011) e podem acarretar em erros durante identificações ou descrições de espécies (Armenteros et al., 2009). Em razão disso, a ampliação de dados morfométricos de espécies de nematóides pode facilitar e qualificar futuras identificações, evitando maior número de sinonímias possíveis, causadas pelas variações intraespecíficas.

O gênero *Terschellingia* tem 25 espécies válidas (Bezerra et al., 2021). Muitas espécies desse gênero são problemáticas, com ampla variação em diferentes populações e ao longo da ontogenia (Palacín, 1991; Bhadury et al., 2008; Armenteros et al., 2009) e poucas características diagnósticas (Timm, 1962; Gerlach, 1963; Lorenzen, 1994; Armenteros et al., 2009). Esses problemas podem levar a erros durante a identificação ou descrição de novas espécies, particularmente quando apenas indivíduos jovens estão disponíveis para análise. Como exemplo, *Terschellingia parva* Vitiello, 1969 foi descrita usando como principal característica o comprimento total do corpo (Vitiello, 1969) e atualmente é considerada sinonímia de *Terschellingia communis* Timm, 1962 (Armenteros et al., 2009). De forma análoga, *Terschellingia longispiculata* Wieser e Hopper, 1967 foi descrita baseada principalmente na espícula longa e atualmente é sinonímia de *Terschellingia longicaudata*, evidenciando uma grande variação no tamanho das espículas (Armenteros et al., 2009). De fato, além das 25 espécies válidas do gênero, mais 10 nomes específicos são considerados duvidosas (*taxon inquirendum*) e outros 11 foram sinonimizados (Bezerra et al., 2021).

O gênero *Terschellingia* é comumente abundante na costa brasileira (Venekey, 2010; Venekey e Melo, 2016; Tilbert, 2018), sendo representado principalmente pela espécie *Terschellingia longicaudata* (Gheller e Kihara, 2010; Thomas e Lana, 2011). A espécie encontra-se distribuída em regiões tropicais, subtropicais no sudeste e do sul do Brasil (Gheller e Kihara, 2010; Thomas e Lana, 2011; Brustolin et al., 2013). No entanto, os trabalhos que identificam a espécie na costa brasileira não detalham sua morfometria. Esse trabalho teve como objetivo identificar e analisar a morfometria das espécies do gênero *Terschellingia* em estuários tropicais (~7°S). Além disso, compilamos dados morfométricos da espécie *Terschellingia longicaudata* na literatura, detalhando as características da espécie em estágios juvenil, fêmea e macho.

### 5. MATERIAIS E MÉTODOS

A nematofauna foi coletada nos estuários do rio Mamanguape e rio Paraíba (6°43' e 6°51'S e 34°07' e 34°54'W), amostrados com tubo de PVC de 11 cm² de área interna em 10 cm de profundidade no sedimento e fixadas em formol 4%.

Os nematoides foram transferidos para glicerina com método de De Grisse (1969) e fixados em lâminas permanentes (Cobb, 1917). A análise morfométrica foi feita utilizando curvímetro, visualizado em microscópio Olympus CX 31 com um tubo de desenho. Os termos utilizados para as regiões do corpo são baseadas em Coomans (1979).

Equações de regressão lineares (do tipo "y= a\*x+b" onde y são as características diagnósticas, a é a inclinação da reta, x o comprimento total do corpo e b representa o declive) foram utilizadas para descrever as relações entre sete características métricas utilizadas frequentemente na identificação de espécies do gênero *Terschellingia* e utilizadas na chave de identificação (Wang et al., 2017). A análise de covariância (ANCOVA) foi utilizada para testar as diferenças entre os estágios ontogenéticos na morfometria de *Terschellingia longicaudata*. As características utilizadas foram o diâmetro dos anfídios, a distância dos anfídios em relação à extremidade anterior, os anfídios correspondendo ao diâmetro corpóreo, as cerdas cefálicas, a proporção comprimento da cauda/diâmetro da região anal e o comprimento da cauda foram relacionadas com o comprimento total do corpo entre os estágios de desenvolvimento juvenil, macho e fêmea.

### 6. RESULTADOS

### SISTEMÁTICA

Desmolaiminae Schneider, 1926

Terschellingia de Man, 1888

Terschellingia longicaudata de Man, 1907

### Descrição

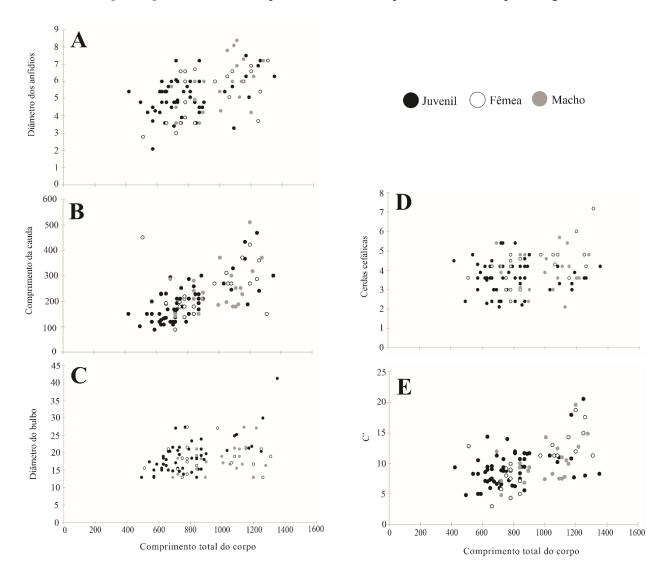
Machos (N=22): Corpo delgado (índice (a): 19,16-66,66); Cutícula lisa; cabeça ligeiramente afilada, papilas labiais não visualizadas em microscópio óptico; cavidade bucal pequena ou quase ausente; quatro cerdas cefálicas; anfídio circular  $3,6-8,4~\mu m$  de diâmetro, se distanciando  $2,4-6,6~\mu m$  da extremidade anterior, ocupando 30-52,1% da região da cabeça; faringe relativamente longa, bulbo basal desenvolvido  $15,1-41,4~\mu m$ , ocupando 68,7-97% da região do corpo; anel nervoso próximo à região mediana da faringe; poro excretor-secretor se posicionando na base anterior do bulbo; testículos opostos; espículas arqueadas, cefaladas  $15-42\mu m$ , 0,81-1,82 vezes o diâmetro da região anal, com gubernáculo; cauda longa e filiforme  $142,5-510~\mu m$  (Tabela 1). Suplementos ausentes. Glândulas caudais presentes.

Fêmea (N=22). Semelhante aos machos na morfologia geral. Corpo delgado (índice a: 17 – 42); Cutícula lisa; cabeça ligeiramente afilada, papilas labiais não visualizados em microscópio óptico; cavidade bucal pequena ou quase ausente; quatro cerdas cefálicas; anfídio circular 2,8 – 7,2 μm de diâmetro, se distanciando 1,9 – 7,2 μm da extremidade anterior, ocupando 26,2 – 57,8% da região da cabeça; faringe relativamente longa, bulbo basal desenvolvido 16,5 – 30 μm, ocupando 73,6 – 88,5% da região do corpo; anel nervoso se posicionando próximo ao centro da faringe; poro excretor-secretor se posicionando na base anterior do bulbo; Fêmeas didélficas, com ovários estendidos; vulva posicionada pré-equatorial, em forma de fenda, transversal; cauda longa e filiforme 90 – 450 μm (Tabela 1). Glândulas caudais presentes.

Juvenil (N=58). Morfologia semelhante aos adultos. Corpo delgado (índice a: 17,5 – 52); Cutícula lisa; cabeça ligeiramente afilada, papilas labiais não visualizados em microscópio óptico; cavidade bucal pequena ou quase ausente; quatro cerdas cefálicas; anfídio circular 2,1 – 7,5μm de diâmetro, se distanciando 1,8 – 7,5μm da extremidade

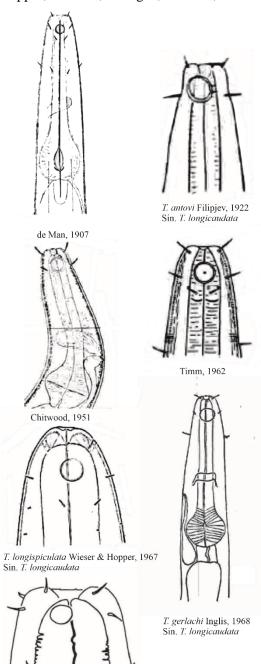
anterior, ocupando 26.2-57.8% da região da cabeça; faringe relativamente longa, bulbo basal desenvolvido  $15.1-41.4~\mu m$ , ocupando 68.7-97~% da região do corpo; anel nervoso se posicionando próximo à região mediana da faringe; poro excretor-secretor se posicionando na base anterior do bulbo; cauda longa  $90-468~\mu m$  (Tabela 1). Glândulas caudais presentes.

**Figura 3.** Relações entre o comprimento total do corpo em estágios ontogenéticos em *Terschellingia longicaudata*. c'= Comprimento total do corpo/diâmetro do corpo na região anal.



**Figura 4.** Ilustrações da posição da fóvea anfídial em relação as cerdas subcefálicas *Terschellingia longicaudata* na literatura. Sin= Sinonímias de *Terschellingia longicaudata*, depois de Armenteros et al., 2009. literatura (De Man, 1907; Kreis, 1929; Schulz, 1932; Allgén, 1933; Schuurmans Stekhoven, 1950; Chitwood, 1951; Timm, 1962; Gerlach, 1963; Wieser e

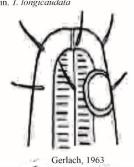
Hopper, 1967; Inglis, 1968; Vitiello, 1969; 2009). Armenteros al., et

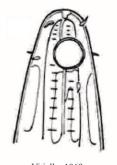


T. longispiculata Wieser & Hopper, 1967 Sin. T. longicaudata Palacín, 1991



T. Heteroseta Schurmans-Steckoven, 1950 Sin. T. longicaudata





Vitiello, 1969



Armenteros et al., 2009

**Tabela 1.** Morfometria de *Terschellingia longicaudata* comparando o presente estudo com os dados de literatura (De Man, 1907; Kreis, 1929; Schulz, 1932; Allgén, 1933; Schuurmans Stekhoven, 1950; Chitwood, 1951; Timm, 1962; Gerlach, 1963; Wieser e Hopper, 1967; Inglis, 1968; Vitiello, 1969; Armenteros et al., 2009). L= Comprimento total do corpo; Razões de De Man a= Comprimento do corpo/diâmetro máximo do corpo; b= Comprimento total do corpo/comprimento da faringe; c= Comprimento total do corpo/comprimento da cauda. Símbolos: (\*) = Característica ausente no estágio de desenvolvimento ou sexo; (-) = Ausência de dados na literatura. DP= Desvio padrão.

		Presente estudo			Literatura			
Características	Juvenis	Fêmeas	Machos	Juvenis	Fêmeas	Machos		
	média±DP	média±DP	média±DP	média±DP	média±DP	média±DP		
	$(\min \max.)$	$(\min \max.)$	$(\min \max.)$	$(\min \max.)$	$(\min \max.)$	$(\min \max.)$		
L (µm)	$788,96\pm200,95$	931,90±227,92	994,5±173,57	$758\pm338,78$	1364,16±175,48	1358,21±329,77		
	420 - 1350	510 - 1308	690 - 1278	494 - 1114	1090 - 1750	771 - 2200		
a	$30,02\pm6,81$	$28,68\pm6,3$	$36,21\pm9,09$	$37,46\pm6,61$	31,15±11,71	$35,93\pm12,29$		
	17,5-52	17 - 42	19,16 - 66,66	31,4 - 34	9,4-45	13,7-49		
b	$10,51\pm3,38$	$11,91\pm4,44$	$14,24\pm6,61$	$8,46\pm1,76$	$10,04\pm3,57$	$10,81\pm2,67$		
	5,83 - 21,2	6,57 - 26	7,66 - 35	6,3-34	3,5-14,7	5,3 - 11,3		
c	5±1,99	$5,24\pm2,87$	$4,50\pm1,60$	$3,63\pm0,66$	$3,34\pm0,27$	$4,66\pm2,44$		
	2,34 - 11,87	2,66 - 14,44	2,35 - 9,66	2,7-3,3	2,9-3,5	3 - 11,38		
Comprimento do	$9,07\pm2,85$	$9,85\pm4,26$	$10,09\pm3,29$	14,3	14,7	-		
corpo/diâmetro anal	4,85 - 20,52	3 - 18,75	4,8 - 19,61					
Diâmetro máximo do	$26,76\pm6,48$	$28,68\pm6,13$	$28,5\pm6,63$	-	$31,7\pm4,66$	49,1±13,51		
corpo (µm)	18 - 54	24 - 54	18 - 48		28,4 - 35	36 - 2200		
Cerdas cefálicas (µm)	$3,61\pm0,81$	$4,23\pm1,05$	$4,01\pm0,99$	-	$5,66\pm2,08$	$5,12\pm1,43$		
	2,1-5,4	2,4-7,2	2,1-5,7		4 - 8	3 - 6.5		
Anfídios								
Diâmetro (μm)	$5,08\pm1,08$	5,31±1,55	$5,79\pm1,41$	-	$9,5\pm0,5$	$8,25\pm1,66$		
	2,1-7,5	2,8-7,2	3,6-8,4		9 - 10	5 - 10		
Dis. extr. Ant. (µm)	$3,72\pm1,31$	$3,32\pm1,45$	$3,85\pm1,21$	-	$4\pm 2,82$	$8\pm 4,4$		
	1,8-7,5	2,2-7,2	2,4-6,6		2 - 6	5 - 11		
Correspondendo ao corpo	43,43±8,63	43,01±8,66	$41,58\pm6,26$	-	$44,2\pm 9,60$	$46,3\pm13,70$		
(%)	24,8 - 64,8	26,2-57,8	30 - 52,1		30 - 50	32 - 62		
Anel Nervoso								
Relação a extr. (µm)	33,91±11,21	45,50±12,55	$39,78\pm11,42$	-	29,9	54,6		

Correspondendo ao corpo	22,2 - 66 43,65±15,17	$25,6-75$ $54,33\pm19,28$	19,5 – 60 54,77±28	_	49,53±7,28	_
(%)	22,4-71,8	24,7 - 87,2	22 - 80			
Poro secretor-excretor						
Relação extr. (µm)	66,37±13,33	$73,06\pm18,69$	69,28±17,27	-	38,8	-
	31,3-99	39 - 127,5	41 - 106,5			
Correspondendo ao corpo	$86,54\pm27,74$	$85,32\pm23,72$	$88,67\pm33,20$	-	-	-
(%)	31,5 - 89	32,5 - 94	52 - 90			
Faringe						
Comprimento (µm)	$79,80\pm15,68$	$88,41\pm17,81$	$84,90\pm38,20$	-	-	150
-	48 - 117	55 - 120	30 - 114			
Correspondendo ao corpo	$38,67\pm6,27$	$40,44\pm5,07$	$38,20\pm 5,98$	-	31,2	34
(%)	21 - 59,5	32,5-52,8	23,8 - 49,3			
Bulbo esofágico						
Diâmetro (µm)	$19,19\pm5,03$	$22,49\pm3,74$	$21,01\pm4,26$	-	$26,88\pm1,22$	42
•	15,1-41,4	16,5 - 30	13,5-32,4			
Correspondendo ao corpo	$82,13\pm5,93$	81,17±4,35	$80,45\pm4,62$	-	87,15	-
(%)	68,7 - 97	73,6 - 88,5	40,4 - 86,7			
Diâmetro corpóreo anal	$21,57\pm4,67$	$23,81\pm2,59$	$23,95\pm7,98$	_	15,6	19
•	15 - 36	20 - 30	20 - 30			
Espículas (µm)	*	*	$27,40\pm5,78$	*	*	54,66±27,93
. ,			15 - 42			26 - 113
Gubernáculo (µm)	*	*	$17,55\pm7,98$	*	*	$18,42\pm7,56$
,			9 - 29			5 - 30
Espículas/diâmetro da	*	*	$1,15\pm0,25$	*	*	$1,40\pm0,18$
região anal			0.81 - 1.82			0.9 - 1.6
Vulva (µm)	*	454,33±161,16	*	*	-	*
4 /		250 - 732				
Vulva%	*	$42,09\pm10,62$	*	*	39,75±9,74	*
		29,2-73			26 - 48	
Cauda (µm)	196,53	238,32±100,77	$247,29\pm88,02$	-	467,33±191,36	321,16±166,07
•	90 - 468	90 - 450	142,5-510		347 - 688	95 - 435

Todas as relações morfológicas foram baseadas em 102 espécimes, correspondendo a 58 juvenis, 22 machos e 22 fêmeas. A variação morfométrica entre a maioria das principais características diagnósticas podem ser relacionadas com o comprimento total do corpo (Fig. 3; Tabela 2). Na maioria das características selecionadas, a inclinação da linha da regressão linear não apresentou diferenças entre os estágios ontogenéticos (Fig. 3; Tabela 2). No entanto, a variação no comprimento da cauda/diâmetro da região anal e no comprimento das cerdas cefálicas em juvenis, fêmeas e machos foram significativamente diferentes (ANCOVA: F= 5,14; p < 0,001; F= 2,72; p < 0,01). O comprimento da cauda/diâmetro da região anal nas fêmeas obteve uma maior inclinação da reta, enquanto nos machos e juvenis, a inclinação foi menos acentuada (Fig. 3E; Tabela 2). A inclinação da reta no comprimento das cerdas cefálicas foi maior nas fêmeas e menor nos machos (Fig. 3D; Tabela 2).

A variação das medidas do comprimento da cauda foi melhor relacionada com o comprimento total do corpo e a inclinação da reta foi maior nos estágios juvenis e menor entre os estágios adultos (Fig. 3B; Tabela 2). Entre os estágios ontogenéticos, as variações não tiveram diferenças significativas (ANCOVA: F=1,73; p>0,5). As variações das medidas do diâmetro do bulbo esofágico se comportaram semelhante às variações do comprimento da cauda (Fig. 3C; Tabela 2). Os juvenis obtiveram uma maior relação, enquanto os adultos obtiveram uma menor inclinação da reta e as diferenças das variações entre os estágios ontogenéticos não foram significativas (ANCOVA: F=2,10; p>0,5). O diâmetro dos anfídios não obteve diferenças significativas nas variações das características entre os estágios ontogenéticos (ANCOVA: F=0,41; p>0,5). A inclinação da reta foi igual entre os adultos e ligeiramente menor nos estágios juvenis (Fig. 3A; Tabela 2). A distância dos anfídios em relação à extremidade anterior teve uma inclinação maior nas fêmeas e menor nos machos e juvenis e não houveram diferenças nas variações entre os estágios ontogenéticos (ANCOVA: F=1,10; p>0,5).

Tabela 2. Equações de regressão linear ajustadas; y= características diagnósticas

	Machos		Fêmeas		Juvenis	
Característica Comprimento da cauda/diâmetro da região anal	Equação y = 0,0091x + 1,0241	R <sup>2</sup> 0,23	Equação y = 0,0124x - 1,3197	R <sup>2</sup> 0,48	Equação y = 0,0064x + 4,0785	R <sup>2</sup> 0,19
Comprimento da cauda	y = 0.2312x + 17.346	0,20	y = 0.0124x - 1.3197	0,10	y = 0.2774x - 20.919	0,50
Comprimento das cerdas cefálicas	y = 0.0011x + 2.8101	0,009	y = 0.0025x + 1.9491	0,28	y = 4,865x + 3,5891	0,08
Anfídios correspondendo ao diâmetro do corpo	y = 0.0088x + 32,799	0,05	y = 0.0038x + 39,491	0,009	y = -0.0052x + 47.562	0,014
Diâmetro dos anfídios	y = 0.0041x + 1.7331	0,25	y = 0.0032x + 2.3547	0,25	y = 0.0022x + 3.3789	0,15
Distância dos anfídios em relação à extremidade anterior	y = 0.0011x + 2.8101	0,024	y = 0.0026x + 0.9376	0,16	y = 0.0003x + 3.4972	0,0019
Diâmetro do bulbo	$y = 0,0088x + 9,4275$ $R^2 = 0,1503$	0,1503	$y = -0,0006x + 18,822$ $R^2 = 0,0014$	0,0014	y = 0.0157x + 6.6432	0,4059

### 7. DISCUSSÃO

O gênero *Terschellingia* pode ser dividido em duas subcategorias morfotípicas de acordo com a presença e ausência do bulbo (Austen, 1989). As espécies cujo o bulbo esofágico é ausente são *T. austenae* Guo e Zhang, 2000; *T. brevicauda* Ott, 1972; *T. claviger* Wieser, 1956; *T. gourbaultae* Austen, 1989; *T. major* Huang e Zhang, 2005. Duas espécies do gênero são diferenciadas por possuírem uma cavidade bucal com dentes *T. elegans* Gagarin e Vu-Thanh, 2003 e *T. sulfídrica* Pastor de Ward, 1989 e uma espécie é separada por apresentar apófise reduzida *T. vestigia* Gerlach, 1963. *Terchellingia* possui a morfologia da cauda majoritariamente filiforme, exceto *T. brevicaudata* Ott, 1972 (Fonsêca-Genevois et al., 2009; Gagarin e Tu, 2016). As espécies *T. communis* De Man, 1888, *T. claviger* Wieser, 1956, *T. elegans* Gagarin & Than, 2003, *T. filicaudata* Wang et al., 2017, *T. media* Gagarin e Than, 2009, *T. lutosa* Gagarin e Tu, 2016, *T. vestigia* Gerlach, 1963, *T. yenensis* Gagarin, 2019 possuem cauda filiforme. A posição dos anfídios na região das cerdas subcefálicas e as espículas cefaladas diferenciam *T. longicaudata* de *T. communis* (Armenteros et al., 2009).

Os espécimes encontrados nesse estudo apresentam um bulbo desenvolvido, cavidade bucal quase ausente, ausência de dentes ou outra estrutura esclerotizada, cauda alongada e filiforme, anfídios posicionados na região das cerdas subcefálicas, cárdia desenvolvida, sem células pericárdicas, espículas cefaladas e septadas e suplementos ausentes. Além dessas características, os espécimes tiveram características morfométricas semelhantes às descrições encontradas na literatura para a espécie *Terschellingia longicaudata* (Tabela 1).

As características morfométricas dos espécimes do presente estudo tiveram variações (Fig. 3; Tabela 1). Em nematoides, em geral, a variabilidade intraespecífica é comum (Chitwood e Murphy, 1964; Fonseca et al., 2008), principalmente em gêneros com uma ampla distribuição como *Sabatieria, Daptonema* e *Terschellingia* (Bhadury et al., 2008; Fonseca et al., 2008; Groote et al., 2017), por exemplo. No gênero *Terschellingia* é bem documentado a variação intraespecífica (Palacín, 1991; Bhadury et al., 2008; Armenteros et al., 2009). Em *T. longicaudata* a variação intraespecífica foi documentada nesse estudo e em diferentes descrições na literatura (Fig. 3; Tabela 1). No entanto, a falta de detalhamento em medidas morfométricas, principalmente em indivíduos juvenis e fêmeas dificulta a uma comparação mais aprofundada sobre as características e variações específicas em *T. longicaudata*.

A análise em separado de juvenis, fêmeas e machos é importante na taxonomia de nematoides (Lucena et al., 2021). Embora haja necessidade ou a suficiência de indivíduos machos na identificação ou descrição de espécies de nematoides (Huang e Chen, 2011; Larrazábal-Filho et al., 2018; Lucena et al., 2021), os machos podem apresentar variações morfológicas ou morfométricas nos aparatos sexuais, podendo ser facultativa a presença de suplementos pré-cloacais ou apresentarem diferentes formas da apófise, como também ampla variação nas medidas das espículas (Chitwood e Murphy, 1964; Tchesunov, 1978; Austen, 1989; Pastor de Ward, 1989; Warwick et al., 1998). Em *Terschellingia*, o comprimento das espículas é uma característica que possuiu ampla variação morfométrica (Austen, 1989; Pastor de Ward, 1989; Armenteros et al., 2009) e não é um bom diagnóstico para a identificação da espécie, por exemplo em *T. longicaudata*, *T. gourbaultae* (Armenteros et al., 2009), acarretando em sinonímia (e.g. *Terschellingia longispiculata sin. T. longicaudata*). O problema da utilização dos estágios ontogenéticos na identificação ou descrição de espécies de nematoides pode ser avaliado através de análises morfométricas (Ahamad e Jairajpuri, 1981).

Variações morfométricas foram relacionadas com o tamanho do corpo em todos os estágios ontogenéticos (Fig. 3; Tabela 1 e 2), no entanto, não foram significativas entre estágios juvenis, fêmeas e machos na maioria das características (ANCOVA; P > 0,5). Entre as características diagnósticas utilizadas na chave dicotômica (Wang et al., 2017), o comprimento da cauda/diâmetro anal apresentou diferenças significativas nas variações entre os estágios ontogenéticos (ANCOVA; P < 0,5). Essa característica é variável e confusa entre as espécies *T. communis* e *T. longicaudata* (Armenteros et al., 2009) e possui uma alta correlação com o comprimento total do corpo (Fortuner, 1990; presente estudo, Fig. 3E). Nesse estudo, houve uma alta relação entre o comprimento da cauda e o comprimento total do corpo (Fig. 3), que pode influenciar no valor diagnóstico do comprimento da cauda/diâmetro anal, visto que o comprimento do corpo e diâmetro máximo do corpo são características influenciáveis pela característica do ambiente (Tita et al., 1999; Vanaverbeke et al., 2004; Fleeger et al., 2011; Dos Santos et al., 2008).

As variações das características morfométricas dos anfídios não tiveram diferenças significativas. A posição dos anfídios na linha das cerdas subcefálicas é uma característica presente em todas as descrições de *T. longicaudata* (Fig. 4) e já foi apresentada por Armenteros et al., (2009) como característica que difere *T. longicaudata* de *T. communis*. No presente estudo, os espécimes tiveram variações discretas na posição dos anfídios em relação à extremidade anterior (Tabela 1) e essas ligeiras variações, não diferiram entre juvenil, fêmea e macho (ANCOVA; P > 0,5) e tiveram baixa relação com o comprimento total do corpo, sugerindo que essa seja uma característica robusta pra identificar não apenas machos, mas também fêmeas e jovens. Outra característica qualitativa observada por Armenteros et al., (2009) e presente nesse estudo foram as espículas cefaladas (Fig. 4). Características morfológicas utilizadas de forma não arbitrária são bons diagnósticos em nematoides (Fortuner, 1990) e pode ser uma ferramenta importante na taxonomia de grupos com grandes variações morfométricas, aliados a um detalhamento morfométrico pode facilitar a identificação de espécies de *T. longicaudata* em amostras com adultos ausentes ou poucos representativos.

# 8. CONCLUSÃO

Os indivíduos estudados do gênero *Terschellingia* de estuários tropicais (7°S) foram identificados como *T. longicaudata*. De acordo com os dados desse estudo e da literatura, a espécie possui uma grande variação morfométrica. A variação do comprimento total do corpo relacionada com a variação de características diagnósticas pode acarretar em erros na identificação da espécie *T. longicaudata*. As variações morfométricas são pronunciadas em jovens e adultos. As características morfológicas como a posição dos anfídios na linha das cerdas subcefálicas e espículas cefaladas podem definir a espécie *T. longicaudata*. A posição dos anfídios possui uma variação discreta e não difere entre os estágios juvenil, fêmea e macho, permitindo a identificação em estágios juvenis e adultos. Características qualitativas bem definidas, aliadas a um detalhamento morfométrico pode ajudar a diminuir erros durante identificações.

# REFERÊNCIAS

ABEBE, E., MEKETE, T., & THOMAS, W. K. (2011). A critique of current methods in nematode taxonomy. African Journal of Biotechnology, 10(3), 312-323.

AHMAD, N., & JAIRAJPURI, M. S. (1981). Statistical analysis of variability in a population of *Parahadronchus shakili* (Nematoda). Nematologia Mediterranea.

ARMENTEROS, M., RUIZ-ABIERNO, A., VINCX, M., & DECRAEMER, W. (2009). A morphometric analysis of the genus *Terschellingia* (Nematoda: Linhomoeidae) with redefinition of the genus and key to the species. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 89(6), 1257-1267.

ALVES, A. S., VERÍSSIMO, H., COSTA, M. J., E MARQUES, J. C. (2014). Taxonomic resolution and Biological Traits Analysis (BTA) approaches in estuarine free-living nematodes. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 138, 69-78.

AUSTEN, M. C. (1989). New species of *Terschellingia* (Nematoda: Linhomoeidae) from the Tamar Estuary, England and the Maldive Islands. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, v. 69, n. 1, p. 93-99..

BARROS, F. L. O., DA SILVA, M. C., ALVES. A., & CASTRO, F. J. V. (2020). Freshwater nematofauna (Nematoda) in a semi-arid region. Revista Nordestina de Zoologia, v. 12, n. 2, p. 1-14.

BHADURY, P., AUSTEN, M.C., BILTON, D.T., LAMBSHEAD, P.J.D., ROGERS, A.D., & SMERDON, G.R., (2008). Evaluation of combined morphological and molecular techniques for marine nematode (*Terschellingia* spp.) identification. Marine Biology 154, 509–518.

BEZERRA, T.N., DECRAEMER, W., EISENDLE-FLÖCKNER, U., HODDA, M., HOLOVACHOV, O., LEDUC, D., MILJUTIN, D., MOKIEVSKY, V., PEÑA SANTIAGO, R., SHARMA, J., SMOL, N., TCHESUNOV, A., VENEKEY, V., ZENG, Z., & VANREUSEL, A. (2019) Nemys: World Database of Nematodes. Accessed at http://nemys.ugent.be on 10/10/2021.

BRUSTOLIN, M. C., THOMAS, M. C., & LANA, P. C. (2013). A functional and morphological approach to evaluate the vertical migration of estuarine intertidal nematodes during a tidal cycle. *Helgoland Marine Research*, 67(1), 83-96.

COBB, N. A. (1917). Notes on Nemas. Contrib. to a Science of Nematology (Baltimore). 5: 117-128.

COOMANS, A. A. (1979). proposal for a more precise terminology of the body regions of a nematode. Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique, 108, 155–117pp.

CHITWOOD, B. G., MURPHY, D. G. (1964). Observations on two marine Monhysterids - their classification, cultivation, and behavior. *Trans. Am. microsc. Soc.* 83 (3): 311-329

DECRAEMER, W., E BACKELJAU, T. (2015). Utility of classical  $\alpha$ -taxonomy for biodiversity of aquatic nematodes. Journal of nematology, 47(1), 1.

DE GRISSE, A. T. (1969). Comparison of the filter method and the sugar centrifugal flotation method for the extraction of parasitic nematodes from soil. Mededelingen van de Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen te Gent, p. 57-69.

DERYCKE, V., VANDEPUTTE, G. E., VERMEYLEN, R., DE MAN, W., GODERIS, B., KOCH, M. H. J., & DELCOUR, J. A. (2005). Starch gelatinization and amylose–lipid interactions during rice parboiling investigated by temperature resolved wide angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry. Journal of Cereal Science, 42(3), 334-343.

DE MAN, J. G. (1907). Contribution à la connaissance des Nématodes libres de la Seine et des environs de Paris. *Annls Biol. lacustre*. 2: 1-21.

DE MAN, J. G. (1880). Die einheimischen, frei in der reinen Erde und im süßen Wasser lebende Nematoden monographisch bearbeitet. Vorläufiger Bericht und descriptivsystematischer Theil. *Tijdschr. Ned. Dierkd. Ver. V.* 1-104, 1 map.

DOS SANTOS, G. A. P., DERYCKE, S., FONSÊCA-GENEVOIS, V. G., COELHO, L. C. B. B., CORREIA, M. T. S., & MOENS, T. (2008). Differential effects of food availability on population growth and fitness of three species of estuarine, bacterial-feeding nematodes. Journal of experimental marine biology and ecology, 355(1), 27-40.

FERRERO, T. J., DEBENHAM, N. J., & LAMBSHEAD, P. J. D. (2008). The nematodes of the Thames estuary: Assemblage structure and biodiversity, with a test of Attrill's linear model. Estuarine, Coastal and Shelf Science, v. 79, n. 3, p. 409-418, 2008.

FLEEGER, J. W., GRIPPO, M. A., & PASTORICK, S. T. (2011). What is the relative importance of sediment granulometry and vertical gradients to nematode morphometrics? Marine Biology Research, v. 7, n. 2, p. 122-134, 2011.

FONSÊCA-GENEVOIS, V., SOMERFIELD, P. J., NEVES, M. H. B., COUTINHO, R., & MOENS, T. (2006). Colonization and early succession on artificial hard substrata by meiofauna. Marine Biology, 148(5), 1039-1050.

FONSÊCA-GENEVOIS, V., ESTEVES, A.M., SILVA, M.C., BOTELHO, A.P., LACERDA, A., GUILHERME, B.C., CASTRO, F. V., MIRANDA JÚNIOR, G.V., SANTOS, G.A.P., BÁRTHOLO, G.M., LINS, L., TOSTA, L., CAVALCANTI, M.F., RODRIGUES, N.R., ALVES, O.F.S., NERES, P.F., LIMA, R.C.C., PINTO, T.K.O., ALVES, T.N.C., OLIVEIRA, V.S., VENEKEY, V., LIRA, V., & SARAIVA, W. (2009). Nematoda do Talude da Bacia de Campos. Rio de Janeiro - Brasil. Salvador: Fast Design v.1. 198pp.

FONSECA, G., DERYCKE, S., & MOENS, T. (2008). Integrative taxonomy in two free-living nematode species complexes. Biological Journal of the Linnean Society, v. 94, n. 4, p. 737-753.

FORTUNER, R. (1990). Ratios and indexes in nematode taxonomy. Nematologica, 36(2), 205-216.

GAGARIN, V. G., & TU, N. D. (2014). Two new species of free-living nematodes (Nematoda and Chromadorea) from mangrove thicket in Vietnam. Inland water biology, 7(4), 338-347.

GERLACH, Sebastian A. (1963). Über freilebende Meeresnematoden. Revision der Linhomoeidae. Zoologische Jahrbücher Systematik Band, v. 90, p. 599-658.

GHELLER PAULA, F., KIHARA, T. N. C., & Terue C. (2010). Nematoda records from Todos os Santos Bay (Bahia, Brazil). K of abstracts.

GIERE, O. (2008). Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments. Springer Science & Business Media, 2008.

HUANG, Yong; WU, X. Q. (2011). Two new free-living marine nematode species of Xyalidae (Monhysterida) from the Yellow Sea, China. Journal of Natural History, v. 45, n. 9-10, p. 567-577.

LAMBSHEAD, P. J. D. (2003). Marine nematode biodiversity. In: Z.X. CHEN, S.Y., CHEN. E., & D.W. DICKSON, eds. Nematology: advances and perspectives. Nematode morphology, physiology and ecology. Wallingford: CABI Publishing, 2003, pp. 438-468.

LARRAZABAL-FILHO, A. L., NERES, P. F., ESTEVES, A. M. (2018). The genus *Bolbonema* Cobb, 1920 (Nematoda: Desmodoridae): emended diagnosis, key to males, and description of three new species from the continental shelf off northeastern Brazil. Zootaxa, v. 4420, n. 4, p. 551-570.

LEDUC, D., & GWYTHER, J. (2008). Description of new species of *Setosabatieria* and *Desmolaimus* (Nematoda: Monhysterida) and a checklist of New Zealand free-living marine nematode species. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, v. 42, n. 3, p. 339-362.

LORENZEN, S. (1994). The phylogenetic systematics of free living nematodes. Ray Society.

LUCENA, B. K. P., DA SILVA, M. C., MANOEL, A., & DE CASTRO, F. J. V. (2021). Occurrence of the genus *Monhystrella* (Nematoda: Monhysteridae) in continental aquatic reservoirs and first description of the male of *Monhystrella* hoogewijsi. *Lakes* & *Reservoirs: Research* & *Management*, 26(1), 52-58.

PALACÍN, C. C. (1991). The importance of intraespeciphic variation in the taxonomy of marine nematodes: The case of *Terschellingia longispiculata* Wieser e Hopper 1967 (Nematoda, Linhomoeidae). Scientia Marina, 1991, vol. 55, num. 4, p. 645-648.

PASTOR DE WARD, C. T. (1989). Free-living Marine Nematodes of the Deseado River Estuary (Siphonolaimoidea, Siphonolaimidae, Linhomoeidae) Santa Cruz, Argentina. 6. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 24(4): 231-247

TCHESUNOV, A. V. (1978). New nematodes of the order Araeolaimida from the Caspian Sea (Novye Svobodnozhivushchie Nematody Otriada Araeolaimida iz Kaspisskogo Moria). *Zoologicheskii Zhurnal.* 57(1): 19-25.

TIMM, R. W. Marine nematodes of the family Linhomoeidae from the Arabian Sea at Karachi. Canadian Journal of Zoology, v. 40, n. 2, p. 165-178, 1962.

TITA, G., VINCX, M., & DESROSIERS, G. (1999). Size spectra, body width and morphotypes of intertidal nematodes: an ecological interpretation. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 79(6), 1007-1015.

TIMM, R. W. (1961). The marine nematodes of the Bay of Bengal. *Proc. Pakist. Acad. Sci.* 1(1): 25-88.

THOMAS, M. C., & LANA, P. C. (2011). A new look into the small-scale dispersal of free-living marine nematodes. Zoologia (Curitiba), v. 28, p. 449-456.

VANAVERBEKE, J., STEYAERT, M., SOETAERT, K., ROUSSEAU, V., VAN GANSBEKE, D., PARENT, J. Y., & VINCX, M. (2004). Changes in structural and functional diversity of nematode communities during a spring phytoplankton bloom in the southern North Sea. Journal of Sea Research, 52(4), 281-292.

VAFEIADOU, A. M., & MOENS, T. (2021). Effects of temperature and interspecific competition on population fitness of free-living marine nematodes. *Ecological Indicators*, *120*, 106958.

VENEKEY, V., FONSECA-GENEVOIS, F. G., & SANTOS, P. J. P. (2010). Biodiversity of free-living marine nematodes on the coast of Brazil: a review. Zootaxa, v. 2568, n. 1, p. 39-66.

VENEKEY, V. (2017). Updates on information about free-living marine nematodes in Brazil: new records and comments on problems in taxonomic studies. Zootaxa, v. 4337, n. 1, p. 38-72.

VITIELLO, P. (1969). Linhomoeidae (Nematoda) des vases profondes du Golfe du Lion. *Téthys.* 1(2): 493-527.

WANG, C., AN, L., & E HUANG, Y. (2017). Two new species of *Terschellingia* (Nematoda: Monhysterida: Linhomoeidae) from the East China Sea. Cahiers De Biologie Marine, 58(1), 33-41.

WARWICK, R. M., & PRICE, R. (1979). Ecological and metabolic studies on free-living nematodes from an estuarine sand flat. Estuar Coast Mar Sci 9:257–271

WARWICK, R. M., PLATT, H. M., & SOMERFIELD, P. J. (1998). Free-living marine nematodes. Part III. British monohysterids. Synopsis of British fauna (new series) No. 53, Field Studies Council, Shrewsbury

ZAR, J.H. (2010). Biostatistical Analysis, fifth ed. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, USA.W. Ounban et al. / Agriculture and Natural Resources 50 (2016) 48e53 53.

WIESER, W. (1956). Some free-living marine nematodes. *Galathea, Rep. 2.* 243-253.

ZHANG, Z.Q. Animal biodiversity: an update of classification and diversity in 2013. In: ZHANG, Z.Q., ed. Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda). Zootaxa, 2013, 3703(1), 5-11.

Capítulo 2: Análise morfométrica e status do gênero *Pseudolella* (Nematoda: Axonolaimidae) com descrição de duas novas espécies em estuários tropicais (~7°S)

#### **RESUMO**

Espécimes machos são considerados essenciais na taxonomia de nematoides, enquanto fêmeas e, principalmente, juvenis são desconsiderados na maioria das descrições, dificultando o avanço do conhecimento da taxonomia e diversidade do filo. Esse trabalho tem objetivo de descrever espécies do gênero e atualizar os status de Pseudolella, analisando as variações morfométricas. O gênero *Pseudolella* foi identificado com duas espécies novas para ciência. Pseudolella sp. nov. 1 possui as seguintes características diagnósticas: cutícula fracamente anelada, cavidade bucal cilíndrica, não arqueada na base, com dois dentes, um ventral maior e um subventral menor, faringe alongada e alargada na base, fóvea anfidial estriada e alongada até a base da faringe, suplementos ausentes, espículas curvadas, cefaladas e septadas, gubernáculo em forma de calha, cauda cônico-cilíndrica com a parte posterior cilíndrica. Fêmeas didélficas com ovários estendidos. As características morfométricas em *Pseudolella* sp. nov. 1 foram variáveis. Na maioria das características, essas variações tiveram relações com o comprimento total do corpo. As variações entre a proporção do comprimento dos anfídios/comprimento da cavidade bucal e menos relacionadas com a variação do comprimento do corpo e não tiveram diferenças significativas (ANCOVA; p < 0,05). Pseudolella sp. nov. 2 foi identificado a partir de seis fêmeas, cujos caracteres diagnósticos foram: cutícula lisa, cerdas cefálicas curtas, fóvea anfidial alongada, cavidade bucal cilíndrica, arqueada na base, com seis dentes: um ventral e dois subventrais desenvolvidos horizontalmente e uma fileira vertical de dentes sub dorsais na extremidade anterior, faringe alongada e alargada na base, cauda cônico-cilíndrica, vulva situada na parte mediada do corpo 44,9-53,5%, ovários estendidos. Machos não encontrados. O gênero Pseudolella em estuários tropicais (~7°S) foi identificado com duas espécies novas. Pseudolella sp. nov. 1 possui uma grande variação morfométrica. O gênero *Pseudolella* possui 13 espécies válidas e as características diagnósticas do gênero são morfológicas e morfométricas, encontradas em estágios juvenil, fêmea e macho, sem diferir as variações entre os estágios ontogenéticos, permitindo a identificação em estágios jovens e adultos.

Palavras-chave: *Pseudolella*; Axonolaimidae; Análise morfométrica; Variação intraespecífica.

#### **ABSTRACT**

Male specimens are considered essential in the taxonomy of nematodes, while females and, especially, juveniles are disregarded in most descriptions, hindering the advancement of knowledge of the taxonomy and diversity of the phylum. This work aims to describe species of the genus and update the status of Pseudolella, analyzing morphometric variations. The genus Pseudolella was identified with two species new to science. Pseudolella sp. nov. 1 has the following diagnostic characteristics: cuticle finely striated, cylindrical buccal cavity, not arched at the base, with two teeth, one larger ventral and one smaller subventral, elongated and enlarged pharynx at the base, striated amphidial fovea and elongated to the base of the pharynx, supplements absent, spicules curved, cephalad and septate, gutter-shaped gubernaculum, tail conical-cylindrical with cylindrical posterior part. Didelphic females with extended ovaries. The morphometric characteristics in *Pseudolella* sp. nov. 1 were variables. The morphometric characteristics in Pseudolella sp. nov. 1 were variables. In most traits, these variations were related to total body length. The variations between the proportion of the length of aphids/length of the oral cavity and less related to the variation of the body length and did not have significant differences (ANCOVA; p < 0.05). Pseudolella sp. nov. 2 was identified from six females, whose diagnoses were: cuticle smooth, short cephalic bristles, elongated amphidial fovea, cylindrical oral cavity, arched at the base, with six teeth: one ventral and two subventrals developed horizontally and a vertical row of subventral teeth. dorsal at the anterior end, pharynx elongated and enlarged at the base, tail conical-cylindrical, vulva situated in the middle part of the body 44.9-53.5%, ovaries extended. Males not found. The genus *Pseudolella* in tropical estuaries (~7°S) was identified with two new species. Pseudolella sp. Nov. 1 has a large morphometric variation. The genus Pseudolella has 13 valid species and the diagnostic characteristics of the genus are morphological and morphometric, found in juvenile, female and male stages, without differing variations between ontogenetic stages, allowing identification in juvenile and adult stages.

Keywords: Pseudolella; Axonolaimidae; Morphometric analysis; Intraspecific variation.

# 9. INTRODUÇÃO

O gênero *Pseudolella* foi descrito baseado no padrão da cutícula, quatro cerdas cefálicas, comprimento dos anfídios em relação à faringe, padrão dos dentes, espículas e ovários (Cobb, 1920). Até o momento, 13 espécies foram descritas no mundo, ocorrendo em água doce e marinho. Dessas, sete espécies foram descritas no mar da China Meridional (*P. ferox*; *P. irritans*, *P. parva*, *P. minor*, *P. mangrovi*, *P. major*, *P. tenuis*), uma no Mar Arábico (*P. granulifera*), uma outra no lago do mar Cáspio (*P. capera*), duas espécies foram descritas no oceano Pacífico (*P. bengalensis*; *P. cephalada*) e duas no oceano Atlântico, sendo uma no Atlântico Norte (*P. norvegica*) e outra no Atlântico Sul, no sudeste brasileiro (*P.intermedia*). Além das 13 espécies válidas, *Pseudolella* possui seis sinonímias *P. quadristicha* Schuurmans Stekhoven, 1950, *P. cobbi* Timm, 1952, *P. pacifica* Allgén 1947, *P. polita* Gerlach, 1955, *P. brevamphida* Timm, 1952, *P. paragranulifera* Timm, 1952, sendo um dos principais motivos, a semelhança com o gênero *Odontophora* (Timm, 1963).

A variação morfométrica intraespecífica também gera um problema na taxonomia dos nematoides, podendo resultar identificações incorretas e sobreposições de espécies, dificultando o estabelecimento características diagnósticas (Armenteros et al., 2009). O detalhamento morfométrico, com maior número de características medidas, com utilização de características morfológicas bem definidas (Fortuner, 1990) e a uma análise morfométrica, utilizando um maior número de indivíduos, de diferentes estágios ontogenéticos, podem levar a identificações ou descrições de espécies de forma mais segura. A análise morfométrica, de forma estatística, é uma boa ferramenta para resolver problemas na taxonomia de nematoides, utilizando o detalhamento morfométrico de indivíduos jovens e adultos (Ahamed e Jairajpuri, 1969).

A variabilidade intraespecífica é comum em nematoides de vida livre, em diversos gêneros, por exemplo, *Acantholaimus* (Miljutin e Miljutina, 2016), *Diplopeltula* (Leduc, 2017), *Terschellingia* (veja capítulo anterior). Muitas espécies de nematoides foram descritas sem detalhamento morfométrico, na maioria das vezes, baseadas em razões de De Man ou comprimento do corpo. Além disso, algumas foram baseadas em apenas um indivíduo, portanto não apresentando possíveis variações das espécies (Fonseca et al., 2008).

O avanço do conhecimento da diversidade dos nematoides pode estar atrelado também às dificuldades intrínsecas do grupo. O tamanho diminuto aumenta o tempo necessário para processar amostras em comparação com grupos de tamanhos maiores (Lawton et al., 1998), além de exigir maior experiência do cientista para identificações (Coomans, 2002). A necessidade de indivíduos machos para identificação ou descrição de novas espécies (Huang e Chen, 2011) também são desafios na taxonomia do filo Nematoda pela variação morfométrica e morfológica de estruturas sexuais encontradas nos machos (Austen, 1989) e pela maior disponibilidade de indivíduos jovens e fêmeas nas amostras, em muitas situações.

O gênero *Pseudolella* é encontrado majoritariamente em ambiente lamoso, estuarino (Chinnadurai e Fernando, 2006; Pinto et al., 2013; Wang e Huang, 2016; Thai e Quang, 2019) e possui altas densidades de estágios jovens e fêmeas em estuários tropicais no Brasil (Tilbert, 2017). O objetivo desse trabalho é analisar a morfometria das principais características diagnósticas do gênero *Pseudolella*, baseada em espécimes de estuários tropicais (~7°S), revisar o status do gênero *Pseudolella* de acordo com a literatura, descrever duas espécies novas do gênero *Pseudolella* para ciência e analisar a variação morfométrica de *Pseudolella* sp. nov. 1 em estágios juvenil, fêmea e macho.

### 10. METODOLOGIA

A nematofauna foi coletada nos estuários do rio Mamanguape e rio Paraíba (6°43' e 6°51'S e 34°07' e 34°54'W), amostrados com tubo de PVC de 11 cm² de área interna em 10 cm de profundidade no sedimento e fixadas em formol 4%.

Os nematoides foram transferidos para glicerina com método de De Grisse (1969) e fixados em lâminas permanentes (Cobb, 1917). A análise morfométrica foi feita utilizando curvímetro, visualizado em microscópio Olympus CX 31 com um tubo de desenho. Os termos utilizados para as regiões do corpo são baseadas em Coomans (1979).

Equações de regressão lineares do tipo "y= a\*x+b" onde y são as características diagnósticas, a é a inclinação da reta e x o comprimento total do corpo foram utilizadas para descrever as relações entre as características métricas utilizadas frequentemente na identificação de espécies do gênero *Pseudolella* encontradas na literatura e utilizada na chave de identificação (Wang e Huang, 2015). A análise de covariância (ANCOVA) foi

utilizada para analisar as diferenças entre os estágios ontogenéticos (Zar, 2010) na morfometria de *Pseudolella* sp. nov. 1. As características utilizadas foram o comprimento do ramo dos anfídios, comprimento do ramo dos anfídios/comprimento da cavidade bucal, comprimento da cavidade bucal foram relacionadas com o comprimento total do corpo entre os estágios de desenvolvimento juvenil, macho e fêmea.

#### 11. RESULTADOS

Sistemática

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Araeolaimida Filipjev, 1918

Super Família Axonolaimoidea

Família Axonolaimidae Filipjev, 1918

Gênero Pseudolella Cobb, 1920

Pseudolella sp. nov. 1 (Fig. 5)

### Descrição do holótipo

Holótipo Macho (Fig. 5). Cutícula finamente anelada. Cabeça arredondada e fracamente afilada. Quatro cerdas cefálicas 2,4 μm. Três círculos de cerdas cervicais, arranjadas em dois grupos subdorsais e um subventral. Fóvea anfidial estriada, em forma de alça, se aproximando da extremidade anterior, com alça voltada ventralmente, no nível da odontia, com comprimento de 90 μm, cerca de 2,5 vezes o comprimento da cavidade bucal. Cavidade bucal cilíndrica 5,1 μm, arqueada na base, se estendendo 36 μm até o início da faringe, paredes esclerotizadas. Dois dentes curvados para dentro da cavidade bucal – um dente alongado ventral e um menor subventral, localizados na extremidade anterior da cavidade bucal. Faringe iniciando na base posterior da cavidade bucal, com um bulbo pouco desenvolvido. Cárdia pequena, cônico-arredondada. Glândula ventral posicionada posteriormente à junção faringe-intestino, com ducto alongado, estendendo até a parte mediana da cavidade bucal. Cauda cônica e curta 90 μm. Presença de glândulas caudais, abertas em um espinerete.

Sistema reprodutor dos machos possui um testículo estendido, espículas arqueadas 27 µm, cefaladas e gubernáculo de calha 11,6 µm. Apófise caudal. Suplementos presentes.

Fêmeas. Morfologia semelhante aos machos. Sistema reprodutor feminino didélfico anfidélfico, com ovários estendidos. Vulva posicionada no meio do corpo 56,6%.

### Habitat

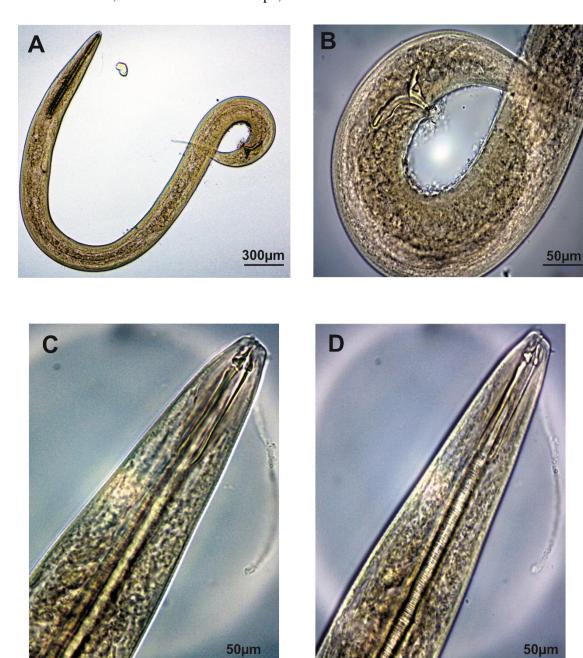
Estuário. Areia média – fina, 28.9 - 30.6°C, 12.7, salinidade 10 - 31, 0.7 - 20% de matéria orgânica, 5.4 - 10.9 mg/l de oxigênio dissolvido.

**Tabela 3.** Características morfométricas de *Pseudolella* sp. nov. 1. DP= desvio padrão.

			Machos	Fêmeas (N=20)	Juvenis (N=52)
Н	Iolótipo	Parátipo	(N=16)	média±DP	média±DP
Características I	Macho	Fêmea	média±DP	(min. e max.)	(min. e max.)
			(min. – max.)		
Comprimento total do	792	720	816,7±128,6	814,5±209,6	637±190,2
corpo			(552 - 1140)	(270 - 1260)	(288 - 1320)
Diâmetro máximo do	41	24	$36,9\pm6,8$	38,4±8,7	$30,9\pm9,3$
corpo			(24 - 45)	24 - 60	(19,8-63)
Diâmetro da cabeça	8,1	9	$9,1\pm1,9$	$10,3\pm2,6$	$8,9\pm2,6$
			(6,9-13,3)	(5,7-18,3)	(5,5-18,7)
Comprimento das cerdas	2,4	2,1	$2\pm0,4$	$2,6\pm0,4$	$2,2\pm0,4$
cefálicas			(1,5-2,4)	(1 - 3)	(1,2-3,3)
Diâmetro máximo da	4,8	3,6	$4,1\pm 1$	$3,7\pm0,8$	3,7±1
cavidade bucal			(3-6,6)	(2,1-5,4)	(2,1-6,6)
Comprimento da	39	30,2	34,1±4,6	32,5±3,6	$29,9\pm6,5$
cavidade bucal			(20,4-38,2)	(22,8-35,4)	(13,2-38,5)
Comprimento da fóvea	90	117	127,2±14,9	117,8±27,5	91,2±27,1
anfidial			(90 - 147)	(42 - 141,3)	(57 - 138)
Comprimento da fóvea	2,5	3,8	$3,6\pm0,6$	$3,6\pm0,7$	3±0,7
anfidial/Comprimento da			(2,5-5,5)	(1,8-4,6)	(1,7-5)
cavidade bucal					
Distância da alça da fóvea	1,5	1,9	2,3±0,9	2,3±1,2	2,2±0,9
anfidial à extremidade			1,5-2,5	(1,5 - 2,3)	(1,6-2,2)
anterior					

2,5	3,87	3,8±0,6	3,6-0,7	$2,84\pm0,7$
		2,5-5,5	(1,8-4,27)	(1,9-4)
96	138	103±32,9	122,1±26,5	91,7±30
		72-142,5	(75,2-152,2)	(55 - 142,6)
27	24	24,8±3,21	25,4±5,2	23±5,83
		18-33	(18 - 30)	(18 - 43)
90	74	$71,7\pm22,5$	67,4±26,4	69,1±29,8
		30-111	(30 - 126)	(40 - 150)
3,33	3,08	$2,94\pm0,9$	2,6±1,1	3,2±2
		1,6-4,6	1,2-5,2	(1,1-5,1)
-	408	-	312,9±159,8	-
			138 - 630	
-	56,6	-	49,5±4,7	-
			45,9 - 55,3	
27	-	24,5±3,5	-	-
		18,6 - 31,2		
8,6	-	11,3±2,8	-	-
		8,6 – 16,8		
29,33	30	$22,9\pm 5,7$	21,5±5	$21,1\pm 5,1$
		16,6 - 30,4	(9 - 30)	(13 - 36,3)
8,25	5,21	$8,2\pm3,1$	(5,2-13,7)	$7,7\pm2,3$
		3,68 - 9,3		(4,4-13)
8,8	9,79	12,5±0,9	13,6±4,8	11,6±7,9
		9,2-21,6	(7,6-15,5)	(3,2-16,4)
	96 27 90 3,33 - 27 8,6 29,33 8,25	96 138  27 24  90 74  3,33 3,08  - 408  - 56,6  27 -  8,6 -  29,33 30  8,25 5,21	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

**Figura 5.** *Pseudolella* sp. nov. 1. Holótipo - macho. A= Visão geral do corpo; B= Parte posterior, com ênfase na espícula; C= Parte anterior do corpo, evidenciando a estrutura da cavidade bucal com dois dentes; D= Parte anterior do corpo, evidenciando a fóvea anfidial estriada.



Pseudolella sp. nov. 2: Descrição do morfótipo

Fêmea grávida. Cutícula lisa. Quatro cerdas cefálicas 3,7 μm. Três círculos de cerdas cervicais subventral e subdorsal. Fóvea anfidial estriada, em forma de bengala, com a alça voltada ventralmente na linha do dente sub dorsal, se estendendo 127,9 μm até o meio da faringe, 3,5 vezes o comprimento da cavidade bucal. Cavidade bucal cilíndrica, esclerotizada e arqueada na base 6,6 μm, com 36,1 μm de comprimento. Seis dentes: um ventral e dois subventrais desenvolvidos horizontalmente e uma fileira vertical de dentes subdorsais na extremidade anterior (Fig. 4A-B). Faringe iniciando na base cavidade bucal e encerrando em um bulbo pouco pequeno Cárdia arredondada. Glândula ventral desenvolvida, com ducto se estendendo até o meio da cavidade bucal. Cauda cônicocilíndrica 150 μm; 4,3 vezes o diâmetro corpo na região o ânus (Fig. 4D-E). Fêmea didélfica, com ovários estendidos, e vulva posicionada no meio do corpo 53,5%. Fêmea grávida com ovo 2 μm (Fig. 4C).

### Habitat

Estuário lamoso. 50% de silt ou argila, salinidade 10, 20% de matéria orgânica, 5,6 mg/l de oxigênio dissolvido.

**Tabela 4.** Características morfométricas do *Pseudolella* sp. nov. 2

Características	Holótipo Fêmea	Parátipo Fêmea	Min e Max Fêmea (2)
Comprimento total do corpo	912	948	840-948
Diâmetro máximo do corpo	33	36	33-,39-7
Diâmetro da cabeça	10,2	10,8	10-10,8
Comprimento das cerdas cefálicas	3,4	3,4	2,4-3,4
Diâmetro máximo da cavidade bucal	9,6	5,4	5,1-9,6
Comprimento da cavidade bucal	37,8	39	30-39
Comprimento da fóvea anfidial	118,5	123,7	118,5-125
Distância da alça da fóvea anfidial à	2,4	2,4	2,4-2,9
extremidade anterior			
Comprimento da fóvea anfidial/	3,13	3,17	3,13-4,1
Comprimento da cavidade bucal			
Comprimento da faringe	91,5	126	91,5-126
Diâmetro anal	33	24	24-33
Comprimento da cauda	150	126	72-162
Comprimento da cauda/diâmetro anal	4,54	6,75	4,5-6,75
Distância da Vulva à extremidade	410	490	410-490
anterior			

V%	44,9	51	44,9-53,5
a	27,6	26,33	23,07-27,63
b	9,96	7,52	7,52-9,96
c	6,08	5,85	5,85-11,66

### 12. Análise morfométrica em Pseudolella sp. nov. 1

Todas as relações morfológicas foram baseadas em 88 espécimes, correspondendo a 52 juvenis, 16 machos e 20 fêmeas. As diferenças significativas nas variações das características entre os estágios ontogenéticos foram obtidas no comprimento dos anfídios (ANCOVA: F= 7,41; p > 0,001). A maior inclinação da reta de regressão linear foi visualizada no estágio juvenil e, entre os estágios adultos, a inclinação foi sutil (Fig. 7; Tabela 6). Outras características como o comprimento da cavidade bucal e o comprimento dos anfídios/comprimento da cavidade bucal tiveram não tiveram diferenças significativas nas variações entre os estágios ontogenéticos (ANCOVA: F= 1,12; p > 0,32; F= 2,35; p > 0,10, respectivamente). As medidas dos juvenis e fêmeas obtiveram uma maior inclinação na reta no comprimento da cavidade bucal e menos acentuada entre os machos (Fig. 7; Tabela 6). Os juvenis também obtiveram uma maior inclinação da reta no comprimento dos anfídios/comprimento da cavidade bucal e menos acentuada nos adultos (Fig. 7; Tabela 6).

**Tabela 5.** Equações de regressão linear ajustadas.

	Machos		Fêr	neas	Juven	Juvenis	
Característica Comprimento do anfídio/Comprimento da cavidade bucal	Equação y = 0,0006x + 3,346	R <sup>2</sup> 0,0107	Equação y = -0,0001x + 3,7248	R <sup>2</sup> 0,0012	Equação y = 0,0019x + 1,8751	R <sup>2</sup> 0,2192	
Comprimento da cavidade bucal	y = -5E-05x + 34,15	0,0898	y = 0.0096x + 24.712	0,3105	y = 0.0104x + 23.31	2E-06	
Comprimento da fóvea anfidial	y = 0.0101x + 119.01	0,0075	y = 0.0147x + 105.81	0,0126	y = 0.0823x + 38.8	0,3324	

**Figura 6.** Pseudolella sp. nov. 2. Holótipo. A= Visão geral do corpo; B= Parte anterior, evidenciando a cavidade bucal com seis dentes; C= Parte anterior, evidenciando a fóvea anfidial

estriada; D= Sistema reprodutor feminino, evidenciando a vulva e os ovários estendidos; E= Parte posterior, evidenciando a cauda cônico-cilíndrica. Escala ( $\mu$ m).









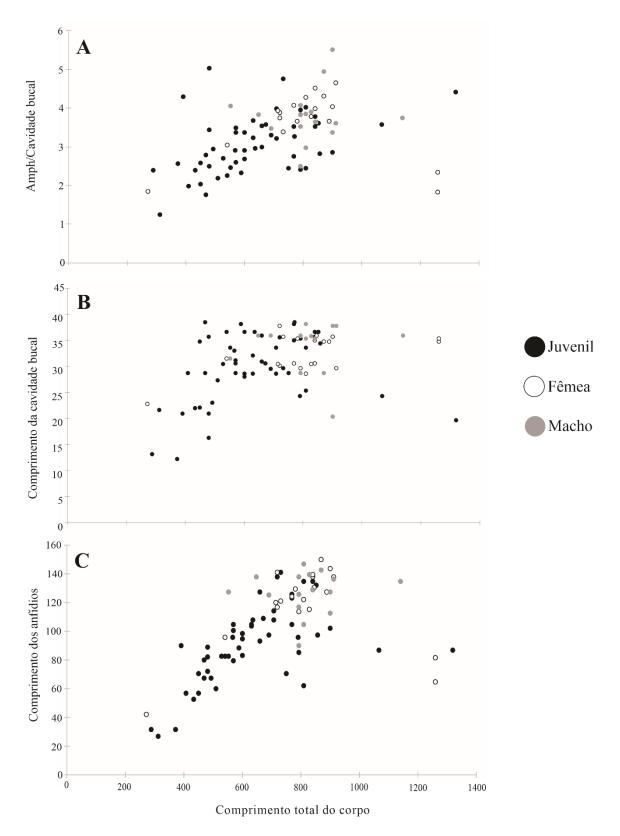


Tabela 6. Principais caracteres diagnósticos das espécies válidas do gênero *Pseudolella* Cobb, 1920.

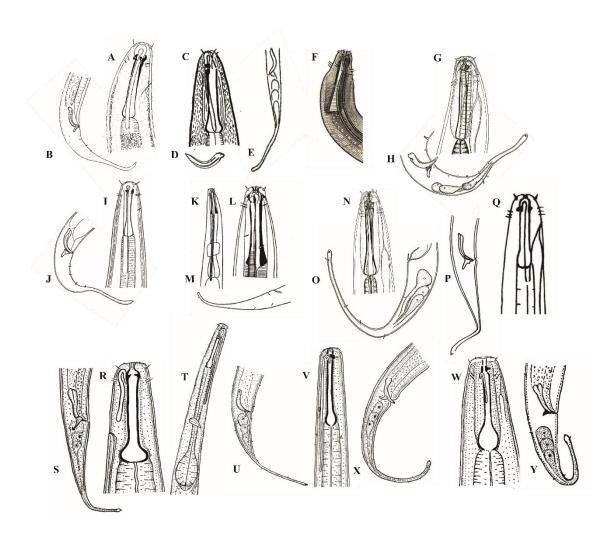
Espécies	Cutícula	Comprimento do	N° de	Tipo de	Dentes no	Espículas	Ovários	Suplementos
		ramo dos anfídios	dentes	anfídio	cheilostoma			
P. bengalensis (Timm,	Finamente	>1x comprimento da	3	Liso	Ausentes	Septadas	Refletidos	Ausentes
1957) Gerlach, 1962.	anelada	cavidade bucal						
P. cephalata Cobb, 1920	Anelada	>3x comprimento da	6	Liso	Ausentes	?	Estendidos	Ausentes
		cavidade bucal						
P. capera Tchesunov,	Anelada	>1x comprimento da	6	Estriado	Ausentes	Septadas	Estendidos	Ausentes
1978		cavidade bucal						
P. ferox Smolanko e	Finamente	>1x comprimento da	2	Liso	Ausentes	?	Estendidos	Ausentes
Belogurov, 1993	anelada	cavidade bucal						
P. granulifera Cobb, 1920	Anelada	>1x comprimento da	2	Liso	Ausentes	Septadas	Estendido/	Ausentes
		cavidade bucal					refletido	
P. intermedia Gerlach,	Lisa	>1x comprimento da	2	Liso	Ausentes	Septadas	Estendidos	Ausentes
1957		cavidade bucal						
P. parva Gagarin e	Finamente	<0,5x comprimento da	6	Liso	Ausentes	Septadas	Estendidos	Ausentes
Nguyen, 2006	anelada	cavidade bucal						
P. mangrovi Gagarin e	Finamente	<0,5x comprimento da	2	Liso	Ausentes	Septadas	Estendidos	Ausentes
Thanh, 2016	anelada	cavidade bucal						
P. major Wang e Huang,	Finamente	>1x comprimento da	3	Liso	Ausentes	Septadas	Estendidos	Ausentes
2016	anelada	cavidade bucal						
P. minor Gagarin e Thanh,	Lisa	>1x comprimento da	2	Estriado	Ausentes	?	Estendidos	Ausentes
2008		cavidade bucal						

P. norvegica Allgén, 1947	Lisa	>1x comprimento da	?	?	?	?	?	?
		cavidade bucal						
P. irritans Smolanko e	Anelada	Entre 0,5 e 1x	2	Estriado	Ausentes	Septadas	Estendidos	Presentes
Belogurov, 1993		comprimento da						
		cavidade bucal						
P. tenuis Gagarin e Tu,	Lisa	>1x comprimento da	2	Liso	Presentes	Não	Estendidos	Ausentes
2019		cavidade bucal				septadas		
Pseudolella. sp. nov. 1	Finamente	>3x comprimento da	2	Estriado	Ausentes	Septadas	Estendidos	Presentes
	anelada	cavidade bucal						
Pseudolella sp. nov. 2	Lisa	>3x comprimento da	6	Estriado	Ausentes	?	Estendidos	Ausentes
		cavidade bucal						

**Figura 7.** Relações entre o comprimento total do corpo em estágios ontogenéticos em *Pseudolella*. sp. nov. 1. Amph= Comprimento total do ramo dos anfídios.



**Figura 8.** Esboço de 12 espécies válidas do gênero *Pseudolella*. Reprodução das descrições originais. A-B: *P. bengalensis*; C-E: *P. capera*; F: *P. cephalata*; G-H: *Pseudolella ferox*; I-J: *P. granulifera*; K-M: *P. intermedia*; N-O: *P. irritans*; P-Q: *P. major*; R-S: *P. mangrovi*; T-U: *P. minor*; V-X= *P. tenuis*; W-Y= *P. parva*.



## 13. DISCUSSÃO

O gênero *Pseudolella* possui 12 espécies válidas, que são determinadas por características morfológicas e morfométricas: cutícula lisa *P. intermedia*; *P. minor*; *P. tenuis*, finamente anelada *P. bengalensis*; *P. ferox*; *P. parva*; *P. mangrovi*; *P. major*; *Pseudolella* sp. nov. 1 ou anelada *P. cephalata*; *P. capera*; *P. granulifera*; *P. irritans*, comprimento do ramo dos anfídios 0,5x o comprimento da cavidade bucal; *P. parva*; *P. mangrovi*, entre 0,5 e 1x *P. irritans*, >1x *P. bengalensis*; *P. capera*; *P. ferox*; *P. mangrovi*, entre 0,5 e 1x *P. irritans*, >1x *P. bengalensis*; *P. capera*; *P. ferox*; *P. capera*;

granulifera; P. intermedia; P. major; P. minor; P. tenuis, >3x P. cephalata; Pseudolella sp. nov. 1; número de dentes na região anterior da cavidade bucal pode variar entre 2 P. ferox; P. granulifera; P. intermedia; P. mangrove; P. minor; P. irritans; P. tenuis e Pseudolella sp. nov. 1; 3 P. bengalensis; P. major e 6 P. cephalata; P. capera e P. parva, podendo apresentar dentículos na parte posterior da cavidade bucal, como em P. tenuis. A estrutura interna dos anfidios pode ser lisa em P. bengalensis, P. cephalata, P. ferox, P. granulifera, P. intermedia, P. parva, P. mangrovi, P. major e P. tenuis ou estriada em P. capera, P. minor, P. irritans e Pseudolella. sp. nov. 1. As espículas são septadas na maioria das espécies e não septadas em P. tenuis. A maioria das espécies possuem ovários estendidos e ovários refletidos ocorrem em P. bengalensis e P. granulifera. Suplementos pré-cloacais ocorre em P. irritans e Pseudolella sp. nov. 1 (Tabela 5; Fig. 8).

Pseudolella sp. nov. 1 é caracterizada pelos seguintes atributos: cutícula fracamente anelada, quatro cerdas cefálicas, cavidade bucal cilíndrica, não arqueada na base, com dois dentes, um ventral maior e um subventral menor, faringe alongada e alargada na base, fóvea anfidial estriada e alongada até a base da faringe, suplementos presentes, espículas curvadas, cefaladas e septadas, gubernáculo em forma de calha, cauda cônico-cilíndrica com a parte posterior cilíndrica. Fêmeas didélficas anfidélficas com ovários estendidos.

Pseudolella sp. nov. 1 é relacionada com Pseudolella ferox Smolyanko e Belogurov, 1993 por possuir cutícula finamente anelada, dois dentes anteriores na cavidade bucal e fóvea anfidial estriada, mas difere de *P. ferox* no comprimento total do corpo (830 vs 1150 μm *P. ferox*), comprimento da faringe (índice b: 21,4 vs 14 *P. ferox*), pelo comprimento da fóvea anfidial em relação ao comprimento da cavidade bucal (3,5 vs 2x em *P. ferox*), comprimento da cavidade bucal (34,5 vs 77 μm *P. ferox*) e comprimento da cauda (índice c: 11,5 vs 16,6 *P. ferox*). A espécie também é relacionada com *Pseudolella intermedia* Gerlach, 1957 pela quantidade e padrão dos dentes e na forma e comprimento das espículas (27 vs 28 μm em *P. intermedia*), mas difere na forma da cutícula (finamente anelada e lisa em *P. intermedia*), no aspecto (estriado vs liso em *P. intermedia*), no comprimento da fóvea anfidial em relação ao comprimento da cavidade bucal (>3 vs >1x em *P. intermedia*).

No geral, as características morfométricas de *Pseudolella*. sp. nov. 1 foram variáveis (Fig. 7; Tabela 3). Dentre elas, as principais características diagnósticas tiveram variações morfométricas e não apresentaram diferenças significativas entre os estágios

juvenil, fêmea e macho (ANCOVA; p > 0,5). Essas variações podem estar relacionadas com o comprimento total do corpo (Fig. 7). Em nematoides, fatores ambientais podem ser responsáveis pelas variações morfométricas (Tita et al., 1999; Soetaert et al., 2009). *Pseudolella* sp. nov. 1 foi encontrada em uma variedade de habitats e a ocorrência desses indivíduos em diferentes tipos de habitats podem influenciar o padrão morfométrico da espécie.

Entre as características diagnósticas, o comprimento dos anfídios tiveram a maior variação (Fig. 7B) e diferiram significativamente entre os estágios juvenil, fêmea e macho (ANCOVA; p > 0,001). As características dos anfídios são variáveis (Armenteros et al., 2009), no entanto, quando proporcionados com o comprimento da cavidade bucal, há uma menor variação, diminuindo a relação com o comprimento total do corpo (Fig. 7A; Tabela 6) e não diferindo significativamente entre os estágios juvenil, fêmea (ANCOVA; p > 0,5). Características menos variáveis e pouco relacionadas com o comprimento total do corpo são bons diagnósticos para identificação de espécies de nematoides (Ahamed e Jairajpuri, 1969). Ou seja, o comprimento dos anfídios é uma característica variável, possuindo grandes relações com a variação do comprimento total do corpo. No entanto, quando é proporcionado com o comprimento total do corpo, indicando como um bom diagnóstico para o gênero *Pseudolella*.

Pseudolella sp. nov. 2, é caracterizada pelas seguintes características: cutícula lisa, cerdas cefálicas curtas, fóvea anfidial alongada, cavidade bucal cilíndrica, arqueada na base, com seis dentes: um ventral e dois subventrais desenvolvidos horizontalmente e uma fileira vertical de dentes subdorsais na extremidade anterior, faringe alongada e alargada na base, glândula ventral alongada, poro secretor-excretor situada na parte mediana da cavidade bucal, cauda cônico-cilíndrica, vulva situada na parte mediada do corpo 44,9-53,5%, ovários estendidos. Apenas fêmeas foram encontradas. Mantivemos a descrição como espécie nova como morfótipo-base para identificação do macho e descrição mais robusta da espécie.

Descrições de espécie de nematoides de vida livre, baseadas em estágios juvenil e fêmea, em parte, são invalidadas de forma arbitrária (e.g. Huang e Cheng, 2011), sobretudo quando características morfológicas ou morfométricas nos machos possam ser variáveis (veja Chitwood e Murphy, 1964; Fonseca et al., 2007) e passíveis de erros como em *Terschellingia longicaudata* (veja capítulo anterior), por exemplo e, com

detalhamento morfométrico (Fig. 7; Tabela 3), percebemos que as variações das características diagnósticas não diferem significativamente entre os estágios ontogenéticos (ANCOVA; p>0,5), o que sugere que essas características sejam conservadoras e robustas em tanto em machos quanto em fêmeas a jovens. De fato, algumas espécies são descritas, sem detalhamento morfológico ou morfométrico como *Pseudolella norvegica* Allgén (1947) (Tabela 5), considerada como *inquirenda* por Timm (1963). *Pseudolella norvegica* foi descrita, baseada em poucos indivíduos (um indivíduo juvenil) e características variáveis (comprimento total do corpo e no comprimento das cerdas). Nesse estudo, uma possível espécie nova do gênero *Pseudolella* foi determinado como Morfótipo 1, baseada em seis indivíduos fêmeas (Fig. 2).

### 14. CONCLUSÃO

Os indivíduos estudados do gênero *Pseudolella* de estuários tropicais (~7°S) foram identificados como duas espécies novas. *Pseudolella* sp. nov. 1 possui uma grande variação morfométrica. Na maioria das características, as variações não tiveram diferenças significativas entre estágios jovens e adultos. *Pseudolella* sp. nov. 2 foi descrito, baseada em seis fêmeas, havendo a possibilidade de ser espécie nova, com a necessidade de indivíduos machos para a descrição. O gênero *Pseudolella* possui 12 espécies válidas. A maioria características morfométricas do gênero são variáveis e são relacionadas com as variações do comprimento total do corpo. Quando proporcionados, o compromento dos anfídios/comprimento da cavidade bucal diminui a variação das medidas e a relação com o comprimento total do corpo, indicando um bom diagnóstico para o gênero.

### REFERÊNCIAS

AHMAD, N., & E JAIRAJPURI, M. S. (1981). Statistical analysis of variability in a population of *Parahadronchus shakili* (Nematoda). Nematologia Mediterranea.

ARMENTEROS, M., RUIZ-ABIERNO, A., VINCX, M., & E DECRAEMER, W. (2009). A morphometric analysis of the genus *Terschellingia* (Nematoda: Linhomoeidae) with redefinition of the genus and key to the species. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 89(6), 1257-1267.

AUSTEN, M. C. New species of *Terschellingia* (Nematoda: Linhomoeidae) from the Tamar Estuary, England and the Maldive Islands. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, v. 69, n. 1, p. 93-99, 1989.

BHADURY, P., AUSTEN, M.C., BILTON, D.T., LAMBSHEAD, P.J.D., ROGERS, A.D., & SMERDON, G.R., (2008). Evaluation of combined morphological and molecular techniques for marine nematode (*Terschellingia* spp.) identification. Marine Biology 154, 509–518.

CHITWOOD, B. G., & MURPHY, D. G. (1964). Observations on two marine Monhysterids - their classification, cultivation, and behavior. *Trans. Am. microsc. Soc.* 83 (3): 311-329.

CHINNADURAI, G., & FERNANDO, O. J. New records of free-living marine nematodes from India. Records of the Zoological Survey of India, v. 106, n. 2, p. 45-54, 2006.

COBB, N. A. (1917). Notes on Nemas. Contrib. to a Science of Nematology (Baltimore). 5: 117-128.

Cobb, N. A. (1920). One hundred new nemas (type species of 100 new genera). *Contributions to a science of nematology*. 9: 217-343.

COOMANS, A. A proposal for a more precise terminology of the body regions of a nematode. Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique, 108, 155–117pp, 1979.

COOMANS, A. Present status and future of nematode systematics. Nematology, v. 4, n. 5, p. 573-582, 2002.

DE GRISSE, A. T. Comparison of the filter method and the sugar centrifugal flotation method for the extraction of parasitic nematodes from soil. Mededelingen van de Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen te Gent, p. 57-69, 1969.

FONSECA, G., DERYCKE, S., & MOENS, T. Integrative taxonomy in two free-living nematode species complexes. Biological Journal of the Linnean Society, v. 94, n. 4, p. 737-753, 2008.

GHELLER, P, F., K., CORBISIER1AND, T. N., & TERUE C. Nematoda records from todos os santos bay (bahia, brazil). K of abstracts, 2010.

HUANG, Yong; WU, X. Q. Two new free-living marine nematode species of Xyalidae (Monhysterida) from the Yellow Sea, China. Journal of Natural History, v. 45, n. 9-10, p. 567-577, 2011.

LAMBSHEAD, P. J. D. (2003). Marine nematode biodiversity. In: Z.X. CHEN, S.Y., CHEN. E., & D.W. DICKSON, eds. Nematology: advances and perspectives. Nematode morphology, physiology and ecology. Wallingford: CABI Publishing, 2003, pp. 438-468.

LAWTON, J.H., BIGNELL, D.E., BOLTON, B., BLOEMERS, G.F., EGGLETON, P., HAMMOND, P.M., HODDA, M., HOLT, R.D., LARSEN, T.B., MAWDSLEY, N.A., STORK, N.E., RIVASTAVA, D.S. & WATT, A.D. (1998). Biodiversity inventories, indicator taxa and effects of habitat modi. -cation in tropical forests. Nature 391, 72-76. LEDUC, D. (2017). Four new nematode species (Araeolaimida: Comesomatidae, Diplopeltidae) from the New Zealand continental slope. Zootaxa, v. 4237, n. 2, p. 244-264.

MILJUTIN, D. M., & MILJUTINA, M. A. (2016). Intraspecific variability of morphological characters in the species-rich deep-sea genus *Acantholaimus* Allgén, 1933 (Nematoda: Chromadoridae). *Nematology*, *18*(4), 455-473.

PINTO, T. K., AUSTEN, M. C., WARWICK, R. M., SOMERFIELD, P. J., ESTEVES, A. M., CASTRO, F. J., ... & SANTOS, P. J. (2013). Nematode diversity in different microhabitats in a mangrove region. *Marine Ecology*, *34*(3), 257-268.

SMOLYANKO, O., & BELOGUROV, O. (1993). On the morphology of three marine species of the genus *Parascolaimus* (Nematoda, Araeolaimida, Axonolaimidae) from the Russian Far East. *Zoologičeskij žurnal*, 72(12), 5-14.

THAI, T. T., & QUANG, N. X. (2019). Seasonal Variability in The Genus-Family Structure of Free-Living Nematode Communities in Organic Shrimp Farming Ponds, Ca Mau Province. VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology, v. 35, n. 3, 2.

SILVA, S. T. Â. D. (2017). Diversidade e estrutura da nematofauna em regiões estuarinas tropicais (~ 7° S). Dissertação de Mestrado (Mestrado em Zoologia). João Pessoa, Paraíba. 92 p.

TIMM, R. W. (1963). Marine nematodes of the suborder Monhysterina from the Arabian Sea at Karachi. *Proc. helminth. Soc. Wash.* 30 (1): 34-49.

TITA, G., VINCX, M., & DESROSIERS, G. (1999). Size spectra, body width and morphotypes of intertidal nematodes: an ecological interpretation. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79(6), 1007-1015.

WANG, C., & HUANG, Yong. (2016). *Pseudolella* major sp. nov. (Axonolaimidae, Nematoda) from the intertidal zone of the East China Sea. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, v. 34, n. 2, p. 295-300.

ZAR, J. H. (2010). Biostatistical Analysis, fifth ed. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, N J, USA.W. Ounban et al. / Agriculture and Natural Resources 50 (2016) 48 e53 53. SOETAERT, K., FRANCO, M., LAMPADARIOU, N., MUTHUMBI, A., STEYAERT, M., VANDEPITTE, L., ... & VANAVERBEKE, J. (2009). Factors affecting nematode biomass, length and width from the shelf to the deep sea. *Marine Ecology Progress Series*, 392, 123-132.

# 15. CONCLUSÃO GERAL

Um total de três espécies foram encontradas, as quais uma pertence ao gênero *Terschellingia* e duas pertencem ao gênero *Pseudolella*. Esses gêneros possuem grandes variações morfométricas. No entanto, as análises morfométricas permitem avaliar a variação das principais características diagnósticas, tornando-se uma boa ferramenta para discutir as características de gêneros problemáticos do filo Nematoda. A ocorrência de características morfométricas, sem diferenças significativas na variação em estágio juvenil, fêmea e macho, aliados a dados morfológicos, permitem a identificação de espécies dos gêneros *Terschellingia* e *Pseudolella*, independente do estágio ontogenético.

### Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

B277e Barros, Fábio Lucas de Oliveira.

Estudo taxonômico e morfométrico dos gêneros Terschellingia e Pseudolella (Nematoda) em estuários tropicais no Brasil (7°S) / Fábio Lucas de Oliveira Barros. - João Pessoa, 2022. 73 f.: il.

Orientação: Miodeli Nogueira Júnior. Coorientação: Micheli Cristina Thomas. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Zoologia. 2. Terschellingia. 3. Pseudolella. 4. Nematoda. 5. Análise de morfometria. I. Nogueira Júnior, Miodeli. II. Thomas, Micheli Cristina. III. Título.

UFPB/BC CDU 59(043)

Elaborado por Larissa Silva Oliveira de Mesquita - CRB-15/746