

FABRIZIO MARCONDES MACHADO

TAXONOMIA, ANATOMIA E BIOLOGIA DE MICROBIVALVES DO SUDESTE BRASILEIRO: CYAMIIDAE G. O. SARS, 1878 E SPHENIOPSIDAE J. GARDNER, 1928

TAXONOMY, ANATOMY AND BIOLOGY OF MICROBIVALVES FROM SOUTHEASTERN OF BRAZIL: CYAMIIDAE G. O. SARS, 1878 AND SPHENIOPSIDAE J. GARDNER, 1928

Campinas 2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

FABRIZIO MARCONDES MACHADO

TAXONOMIA, ANATOMIA E BIOLOGIA DE MICROBIVALVES DO SUDESTE BRASILEIRO: CYAMIIDAE G. O. SARS, 1878 E SPHENIOPSIDAE J. GARDNER, 1928

Orientador: Prof. Dr. Flávio Dias Passos

TAXONOMY, ANATOMY AND BIOLOGY OF MICROBIVALVES FROM SOUTHEASTERN OF BRAZIL: CYAMIIDAE G. O. SARS, 1878 AND SPHENIOPSIDAE J. GARDNER, 1928

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Dissertation submitted to the Institute of Biology, UNICAMP to obtain the title of Master in Ecology.

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação defendida pelo candidato: Fabrizio Marcondes Machado curve of this anno e aprovada pela comissão julgadora.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Dias Passos

Campinas 2013 Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca do Instituto de Biologia Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

 Machado, Fabrizio Marcondes, 1984-Taxonomia, anatomia e biologia de microbivalves do sudeste brasileiro : Cyamiidae G. O. Sars, 1878 e Spheniopsidae J. Gardner, 1928 / Fabrizio Marcondes Machado. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.
Orientador: Flávio Dias Passos. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.
Molusco. 2. Bivalve. 3. Campos, Bacia de (RJ). 4. Anatomia. I. Passos, Flávio Dias, 1971-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Taxonomy, anatomy and biology of microbivalves from southeastern Brazil : Cyamiidae G. O. Sars, 1878 and Spheniopsidae J. Gardner, 1928 Palavras-chave em inglês: Mollusks Bivalves Campos, Bacia de (RJ) Anatomy Área de concentração: Ecologia Titulação: Mestre em Ecologia Banca examinadora: Flávio Dias Passos [Orientador] Ricardo Silva Absalão Lenita de Freitas Tallarico Data de defesa: 11-07-2013 Programa de Pós-Graduação: Ecologia Campinas, 11 de julho de 2013

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Flavio Dias Passos (orientador)

Profa. Dra. Eliane Pintor De Arruda

Prof. Dr. Ricardo Silva Absalão

mo Assinatura

Assinatura

Assinatura

Profa. Dra. Gisele Orlandi Introini

Assinatura

lairo n

Dra. Lenita De Freitas Tallarico

Assinatura

Esta Tese é dedicada a duas pessoas admiráveis:

A primeira delas chama-se Elizete, uma mulher honrada de caráter ilibado que além de ser minha genitora é também minha melhor amiga;

E ao meu calmo e pacato primo, Marcelo Cardillo (*in memoriam*), que foi pra mim a personificação da humildade e da alegria de viver.

Obrigado por sempre acreditarem em mim. Serei eternamente grato a vocês.

"O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho, é no dicionário". (Albert Einsten)

"Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim". (Chico Xavier)

O Senhor é o meu pastor; e nada me faltará. Ele me faz repousar em pastos verdejantes. Leva-me para junto das águas de descanso; refrigera-me a alma. Guia-me pelas veredas da justiça por amor do seu nome. Ainda que eu ande pelo vale da sombra da morte, não temerei mal nenhum, porque tu estás comigo; o teu bordão e o teu cajado me consolam. Preparas-me uma mesa na presença dos meus adversários, unges-me a cabeça com óleo; o meu cálice transborda. Bondade e misericórdia certamente me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na Casa do Senhor para todo o sempre.

Bíblia sagrada: Salmo 23

Agradecimentos

Ao orientador e amigo, Prof. Dr. Flávio Dias Passos, pela confiança e por ter sido um exemplo de humildade, inteligência e paciência.

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado durante o decorrer dessa pesquisa.

À PETROBRAS SA/ CENPES pelo Projeto HABITATS, pela ajuda financeira e pela concessão dos espécimes estudados nessa tese.

Ao Departamento de Biologia Animal, pela utilização da infraestrutura.

Aos membros do grupo de Malacologia da Unicamp, Dra. Gisele, Dra. Lenita, Amanda e Ariane, pela amizade plena e sincera.

À bióloga Adriane Cristina Sarti Sporgis, pelo auxílio e extrema habilidade no manuseio do Microscópio Eletrônico de Varredura.

A todos os amigos da Ecologia pelas risadas, em especial aos amigos, Pedro Ribeiro Piffer, Nathalia Padovani e Rachel Furioso por terem muitas vezes transformado momentos tristes em alegres.

À Profa. Dra. Cecília Amaral pelo uso de seus equipamentos (microscópio e micrótomo) e por diversas vezes ter me adotado como um de seus alunos.

À Profa. Fosca Pedini Leite e a todos os seus alunos pelo companheirismo.

Aos Profs. Drs. Paulo Oliveira (Paulinho) e André (Baku), pela amizade e pelas excelentes conversas.

À bióloga Silvana (Sil), por sempre ter me tratado com carinho e atenção.

À Célia (Pós de Ecologia), pelo seu profissionalismo e competência.

À querida amiga Noemy, pelos ensinamentos filogenéticos.

A todos os companheiros de laboratório: João, Cris, Marjorie, Paulo (Aplacophora), Paola, Paulo (Gastropoda), Pedro e aos demais alunos de iniciação científica pelo apoio.

A toda minha família pelo carinho e apoio de sempre.

À minha linda Luana, por fazer parte da minha vida.

ÍNDICE

RESUMO		1
ABSTRACT		2
INTRODUÇÃO GERAL		3
OBJETIVOS		7
MATERIAIS E MÉTODOS		8
1	Obtenção dos espécimes estudados	9
2	Preparação do material para a histologia e MEV	10
CAPÍTULO 1 - OS CYAMIIDAE E O GÊNERO CYAMIOCARDIUM 12		
3	Introdução	13
4	Objetivos específicos	15
5	A new species of Cyamiocardium Soot-Ryen, 1951 (Bivalvia-Cyamioidea)	17
	from shallow waters of Brazil, with a discussion on the anatomical characters of the Cyamiidae	
CAPÍTULO 2 - OS SPHENIOPSIDAE		42
6	Introdução	43
7	Objetivos específicos	46
8	A família Spheniopsidae J. Gardner, 1928 no Brasil: novas espécies e	47
	considerações sobre o seu posicionamento filogenético dentre os Anomalodesmata	
CONSIDERAÇÕES FINAIS		91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		95

RESUMO

A conservação da biodiversidade marinha e o pouco conhecimento sobre a ecologia das espécies que habitam regiões mais profundas são temas atuais e amplamente discutidos. Com o objetivo geral de conhecer as espécies e a ecologia dos organismos marinhos bentônicos da Bacia de Campos - RJ, foi implantado o programa HABITATS- "Avaliação da Heterogeneidade Ambiental da Bacia de Campos". Apoiado pela Petrobras S.A./CENPES, o programa HABITATS foi realizado no período de fevereiro/2009 a julho/2009 e foi composto por nove transectos perperdiculares a linha da costa, localizados principalmente entre a Plataforma e o Talude Continental, totalizando 149 estações de coleta em faixas batimétricas que variaram de 25 a 3.000 metros de profundidade. O presente trabalho se baseia em espécimes obtidos a partir desse programa e tem como objetivos principais, o registro de duas famílias de bivalves (Cyamiidae e Spheniopsidae) para o Brasil, além da análise taxonômica e da descrição de três novas espécies de microbivalves. Após cerca de dois anos de triagens mais de 5.000 espécimes de bivalves provindos da Plataforma Continental foram analisados. Desse total foram identificadas 180 espécies, agrupadas em 47 famílias. Nesse trabalho foram descritas três novas espécies de microbivalves: Cyamiocardium sp. n. pertencente à família Cyamiidae; Grippina sp. n. e Spheniopsis sp. n. pertencentes à família Spheniopsidae. Ambas, devido ao tamanho diminuto (1,75 – 4,5 mm de comprimento), não puderam ter a sua anatomia descrita apenas por técnicas manuais de dissecção, sendo submetidas então a um processo de descalcificação e posteriormente a microscopia eletrônica de varredura e a histologia. Foram analisados 356 indivíduos de Cyamiocardium sp. n. sendo 25 destes com parte mole e coletados em uma faixa de 26-75m de profundidade. Para as espécies de Spheniopsidae, foram analisados 58 indivíduos de Grippina sp. n. sendo 20 com parte mole e coletados entre 21-53 m de profundidade e 189 indivíduos de Spheniopsis sp. n. sendo 2 com parte mole e coletados entre 17-148 m de profundidade. Para a família Cyamiidae cujas espécies eram até então distribuídas somente em águas australianas, neozelandesas, antárticas, subantárticas e magelânicas, o presente trabalho ampliou sua distribuição, fazendo o primeiro registro da família para águas brasileiras, além de descrever uma nova espécie. Já para a família Spheniopsidae além de um novo registro e da descrição de duas novas espécies, foi realizada a primeira descrição anatômica do grupo além de uma discussão sobre sua posição filogenética dentre os Anomalodesmata.

ABSTRACT

The conservation of marine biodiversity and little knowledge about the ecology of the species inhabiting deeper regions are current topics widely discussed. With the overall aim of knowing the species and ecology of benthic marine organisms in the Campos Basin, Rio de Janeiro, was implemented the HABITAT program "Assessment of Environmental Heterogeneity in the Campos Basin. Supported by Petrobras SA / CENPES, HABITAT program was conducted from February/2009 to July/2009 and was composed of nine transects perpendicular to shoreline, located mainly between the shelf and the continental slope, totaling 149 sampling stations in bathymetric ranges that varied from 25 to 3.000 meters deep. This study is based on specimens obtained from that program and aims general registration of two new families of bivalves (Cyamiidae and Spheniopsidae) for Brazil, besides the taxonomic analysis and description of three new species of microbivalves. After two years of triage, more than 5.000 specimens of bivalves from Continental Shelf were analyzed, of these about 180 species were identified and grouped into 40 families. In this work three new species of microbivalves were described: Cyamiocardium n. sp. belonging to the family Cyamiidae; Grippina n. sp. and Spheniopsis n. sp. belonging to the family Spheniopsidae. Because of their small size (1.75 - 4.5 mm in)length), both not have their anatomy described by classical techniques of dissection and then subjected a process of descalcification and subsequent to scanning electron microscopy and histology. Were analyzed 356 individuals of Cyamiocardium n. sp. with 25 of these being soft part and collected in a range of 26-75 meters deep. To species Spheniopsidae, 58 individuals were analyzed Grippina n. sp. with 20 the soft part and collected between 21-53 meters deep and 189 individuals of Spheniopsis n. sp. with two the soft part and collected between 17-148 meters depth. For family Cyamiidae whose species were previously distributed only in Australian, New Zealand, Antarctic, Subantarctic and Magelanic waters, this study has expanded its distribution by making the first record of the family to Brazilian waters, and describe a new species. Already to the family Spheniopsidae addition of a new record and description of two new species, was held the first anatomical description of the group as well as a discussion of its phylogenetic position among Anomalodesmata.

INTRODUÇÃO GERAL

A fauna de moluscos bentônicos do Brasil pode ser caracterizada como bastante diversa, sendo representada principalmente por gastrópodes e bivalves, que se distribuem desde a faixa entremarés até grandes profundidades. Na plataforma continental concentram-se as espécies mais conhecidas, embora com o avanço das pesquisas feitas através de grandes projetos como o REVIZEE e Biota/FAPESP, ano a ano sejam acrescidas descrições de novas espécies e registros de novas ocorrências, demonstrando que mesmo para áreas bem exploradas cientificamente, permanecem ainda grandes lacunas no conhecimento sobre estes moluscos (GONÇALVES & LANA 1991; PIRES-VANIN 1993). Assim, pode-se vislumbrar que provavelmente existe uma parte dessa diversidade ainda por ser descoberta, isso sendo particularmente evidente para grupos de taxonomia confusa, ou para outros onde suas espécies são raras, ocorrendo em pequenas densidades. Outros fatores que também dificultam essas descobertas são a ocorrência de espécies em locais restritos, associadas a nichos ecológicos específicos, ou em grandes profundidades, fatores estes que dificultam bastante as suas coletas (BOUCHET 1997). Além disso, espécies de pequenas dimensões, designadas de maneira geral como "micromoluscos", também são pouco conhecidas e frequentemente confundidas com jovens de outras. Assim, até mesmo grupos grandes de moluscos, como superfamílias ou famílias, permanecem subestimados em estudos que visam descrever essa importante diversidade brasileira.

Para os Bivalvia marinhos brasileiros, especificamente, são conhecidas atualmente cerca de 450 espécies (RIOS 2009), sendo 368 delas registradas para a plataforma continental, distribuídas em 38 superfamílias e 67 famílias (PASSOS) & MAGALHÃES 2011), sendo os bivalves, o segundo maior grupo de moluscos do Brasil, quanto ao número de espécies. Algumas de suas espécies são bem conhecidas sob os diversos aspectos, principalmente aquelas de interesse econômico e ecológico, como alguns venerídeos, mytilídeos e ostreídeos. Embora os bivalves apresentem uma grande diversidade específica, o conhecimento sobre o grupo é proporcionalmente escasso e cerca da metade das espécies da costa brasileira ainda são desconhecidas, e a outra metade, guase sem exceção, carece de estudos que ofereçam um melhor embasamento aos táxons (SIMONE 1999). Essa falta de conhecimentos básicos se reflete principalmente nos microbivalves, grupo que reúne espécies onde os adultos alcançam poucos milímetros de comprimento de concha. Para esses animais, a concha muito diminuta dificulta muito as observações de caracteres taxonômicos importantes, como cicatrizes musculares, características da charneira e, pior ainda, detalhes anatômicos, ou seja, das partes moles, fundamentais para o entendimento dos diversos aspectos da biologia desses organismos.

Segundo MIKKELSEN (2011) durante o período de 2000 a 2009 foram descritas 381 novas espécies de bivalves em todo o mundo, sendo que mais da metade dessas espécies possuia dimensões acima de 1 cm. Percebe-se que na maioria das vezes os malacólogos optam por descrever aquelas espécies possíveis de ver a "olho nu" (27,99 \pm 50,82 mm de comprimento). Além disso, do total de novas espécies descritas para o período, apenas 13 foram descritas para

a América do Sul, sendo oito delas para o Brasil e dentre essas, somente quatro, tiveram sua descrição baseada nos aspectos anatômicos.

Nesse contexto, desenvolveu-se o presente trabalho, com o intuito maior de preencher uma lacuna importante no conhecimento dos microbivalves brasileiros. Através de um grande Projeto de Pesquisa, o HABITATS - "Avaliação da Heterogeneidade Ambiental da Bacia de Campos" apoiado pelo CENPES/Petrobras, foi feito um intenso esforco de coleta na Bacia de Campos, Rio de Janeiro/Espirito Santo, com amostragens realizadas em profundidades que variaram de poucos a até 3.000 metros, cujas espécies de bivalves da plataforma continental foram encaminhadas ao orientador do presente trabalho, para triagem e identificação. Foram cerca de 180 espécies identificadas, sendo algumas delas pertencentes a famílias nunca antes registradas para águas brasileiras.

Duas dessas famílias foram os objetos de estudo da presente Dissertação de Mestrado: Cyamiidae G.O. Sars, 1878 e Spheniopsidae J. Gardner, 1928. Ambas compostas por espécies de bivalves cujos adultos são muito diminutos, não ultrapassando 5 mm de comprimento, motivo pelo qual talvez nunca tenham sido registradas para o Brasil. Para a família Cyamiidae são conhecidos atualmente cinco gêneros, Cyamium Phillippi, 1845; Cyamiocardium Soot-Ryen, 1951; Cyamiomactra Bernard, 1897; Pseudokellia Pelseneer, 1903 e Perrierina Bernard, 1897 (CHAVAN 1969; PONDER 1971; ZELAYA 2008), cujas espécies são distribuídas em águas australianas, neozelandesas, antárticas, subantárticas (PONDER 1968; PONDER 1969; PONDER 1971) e magelânica, (CARCELLES 1950: CARCELLES & WILLIAMSON 1951; CARCELLES 1953). Os conhecimentos acerca da anatomia dos cyamiídeos são escassos e restritos aos

trabalhos de MORTON (1979) e ZELAYA & ITUARTE (2009), sendo isso ainda mais grave para a família Spheniopsidae, que também possui espécies de dimensões bem reduzidas (1 a 4,5 mm de comprimento). Nessa última família são conhecidos somente dois gêneros na fauna Recente, Spheniopsis Sandberger, 1863 e Grippina Dall, 1912 (COAN 1990), o primeiro com três e o segundo com oito espécies descritas, a maioria delas registradas para o Oceano Pacífico. As informações sobre a anatomia dos Spheniopsidae são muito escassas, sendo restritas a citações sobre cicatrizes musculares presentes na concha e sobre as partes moles secas de espécimes de Grippina californica Dall, 1912, que ocorre do litoral da Califórnia até a Costa Rica (COAN 1990; COAN et al. 2000; MIKKELSEN & BIELER 2008). Associado a isso, o posicionamento filogenético dessa família tem sido alvo de debates. Anteriormente, era relacionada aos Heterodonta (COAN 1990; MARSHALL 2002), mas no momento, devido a características presentes na concha (como o ligamento) e microesculturas, tem sido associada aos Anomalodesmata; entretanto, persistem dúvidas em relação à sua proximidade com os Thracioidea ou os Cuspidarioidea (MARSHALL 2002; HARPER et al. 2006; BIELER et al. 2010). Deve-se ressaltar que, como no caso de outras espécies presentes no material do HABITATS, percebe-se que os Cyamiidae e Spheniopsidae podem ser considerados raros e que só foram de fato obtidos devido ao grande esforço de coleta feito por este projeto. Com isso o presente trabalho teve como objetivo principal ampliar os conhecimentos sobre esses bivalves tão diminutos, registrando pela primeira vez a ocorrência dessas duas famílias para o Brasil, a partir de um material biológico valioso, bem preservado e obtido em uma importante área do litoral brasileiro.

A presente dissertação de mestrado foi dividida em dois capítulos, um deles relacionado a uma espécie de Cyamiidae, e outro, abordando dois representantes dos Spheniopsidae.

OBJETIVOS

Objetivo principal

O presente trabalho teve como finalidade registrar e ampliar o conhecimento sobre a taxonomia, a anatomia e a biologia de duas famílias de bivalves, Cyamiidae e Spheniopsidae, até então desconhecidas para o litoral brasileiro.

Objetivos específicos

Foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Descrever conquiliologicamente as novas espécies pertencentes a essas famílias a partir de um material procedente da Bacia de Campos, Rio de Janeiro;
- 2- Descrever detalhadamente as características anatômicas de três novas espécies de microbivalves brasileiros, acrescentando à literatura informações inéditas sobre suas partes moles, enfatizando os órgãos do complexo palial;

3- Discutir sobre a importância dos aspectos taxonômicos e anatômicos para o entendimento da biologia dos Cyamiidae e da biologia e sistemática dos Spheniopsidae.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Obtenção dos espécimes estudados

Todos os espécimes analisados são oriundos da Bacia de Campos, localizada entre os Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo (Brasil), e foram coletados a partir de amostras do sedimento de fundo, pelo Projeto "HABITATS"-Avaliação da Heterogeneidade Ambiental da Bacia de Campos, executado pelo CENPES/PETROBRAS. Essas coletas ocorreram no período de fevereiro/2009 a julho/2009 e foram compostas por doze estações para cada um dos nove transectos perpendiculares a linha da costa. Esses transectos eram localizados em áreas específicas da Bacia de Campos, como: Talude e Plataforma Continental, Foz do Rio Paraíba do Sul e os cânions Grussaí e Almirante Câmara, totalizando mais de 140 estações de coleta em faixas batimétricas que variaram de 25 a 3.000 metros de profundidade (Fig. 1). Os espécimes analisados pela presente dissertação foram em sua maioria coletados na Plataforma Continental. As amostras de sedimento foram obtidas com o auxílio de pegadores de fundo do tipo Van Veen (Fig. 2) e Box corer (Fig. 3). Após a triagem do sedimento, os espécimes já fixados em formol 4% foram então preservados em álcool 70%.



Figura 1: Área de amostragem do Projeto- HABITATS, na Bacia de Campos-RJ/ES. São destacadas as isóbatas de 25, 50, 75, 100, 150, 400, 700, 1000, 1300, 1900, 2500 e 3.000 metros, onde foram estabelecidas as 12 estações, em cada um dos nove transectos (A-I) perpendiculares à linha da costa.



Figura 2: Pegador do tipo Van Veen.



Figura 3: Pegador do tipo Box corer

2. PREPARAÇÃO DO MATERIAL PARA HISTOLOGIA E MEV

O maior desafio em descrever essas três novas espécies foi a dimensão de seus indivíduos. Os indivíduos adultos pertencentes a espécie da família Cyamiidae variam de 1.9 a 3.1 mm de comprimento, enquanto os indivíduos adultos das duas espécies de Spheniopsidae variam de 1,51 a 1,76 mm para primeira espécie e 1,75 a 2,56 mm de comprimento para a segunda. Devido a isso foi elaborada uma descrição conquiliológica e anatômica, baseada principalmente na MEV e na histologia. No entanto, para manter a integridade das partes moles dessas espécies previamente fixadas, além da utilização dos métodos clássicos de dissecção (com bisturis, tesouras e pinças), os espécimes foram submetidos a um método conhecido como descalcificação. Esse método consiste basicamente em dissolver lentamente a concha do bivalve, mantendo em perfeito estado o ligamento, o manto, os órgãos da cavidade palial, além da massa visceral. O protocolo usado para descalcificar as conchas dessas espécies foi baseado no trabalho de DIETRICH & FONTAINE (1975) e consiste em uma solução de 100 ml de água destilada acrescida de 0,877 g de NaCl + 1,02 g de ácido ascórbico 1M. A partir daí cada espécie apresentou uma sequência e um tempo diferente para sua total descalcificação (Fig. 4).

Alguns indivíduos foram ainda dissecados manualmente para expor órgãos específicos e posteriormente enviados para MEV (Modelo- Jeol JSM-5800LV) onde inicialmente foram submetidos ao processo de ponto crítico. Os indivíduos previamente descalcificados foram embebidos em Historesina® e submetidos a cortes seriados de 5µm e corados com Azul de Toluidina (AT) solução de 2%.

A opção por este corante, ao invés, da hematoxilina eosina (HE) comumente usada na maioria dos trabalhos de histologia, justifica-se pela facilidade de utilização do (AT) e por sua capacidade metacromática. O (AT) é considerado um corante catiônico metacromático que marca seletivamente grupos ácidos de componentes teciduais (radicais carboxílicos, sulfatos e fosfatos), apresentando principalmente uma afinidade pelo DNA dos núcleos celulares e pelo RNA presente no citoplasma.



Figura 4: Processo de descalcificação de *Spheniopsis* sp. n. (a) espécime antes da descalcificação. (b) após 1 hora e 30 minutos na solução descalcificante; (c) após 2 horas e 20 minutos; (d) após 4 horas e 10 minutos; (e) indivíduo totalmente descalcificado, 8 horas depois. Escala=1 mm.



OS CYAMIIDAE E O GÊNERO CYAMIOCARDIUM



3. INTRODUÇÃO

A superfamília Cyamioidea G. O. Sars, 1878, compreende um diverso grupo de bivalves, em que as famílias que a compõem apresentam grandes problemas taxonômicos. Esses problemas se refletem diretamente em sua classificação, sendo atualmente difícil afirmar quantas e/ou quais são as famílias que compõem esse grupo. Segundo ROSENBERG (2009) essa superfamília é composta por quatro famílias: Cyamiidae G. O. Sars, 1878; Neoleptonidae Thiele, 1934; Perrierinidae Bernard, 1897 e Sportellidae Dall, 1899. No entanto, outros trabalhos como BIELER *et al.* (2010), por exemplo, propõem uma classificação bem diferente da anterior, considerando, Cyamiidae G. O, Sars, 1878; Basterotiidae Cossmann, 1909; Galatheavalvidae Knudsen, 1970 e Sportellidae, Dall, 1899 como sendo de fato, as famílias constituintes dessa superfamilia. Para os Cyamioidea, incertezas como estas existem também ao nível de gênero, provavelmente devido formato simples de suas conchas e ao pequeno tamanho das espécies que os compõem.

A família Cyamiidae, em particular, alvo do presente estudo é conhecida por ser amplamente distribuída no Hemisfério Sul, sendo representada por espécies na Austrália, Nova Zelândia, Antártica e região Magelânica (POWELL 1951, 1979; BOSS 1982). Na área mais ao sul da América do Sul, essa distribuição é conhecida como sendo restrita para Patagônia e para algumas ilhas subantarticas (CARCELLES 1950, 1953; CARCELLES & WILLIAMSON 1951; ZELAYA 2005).

Dentre os gêneros conhecidos para essa família destaca-se *Cyamiocardium* Soot-Ryen, 1951, em particular, que possui duas espécies registradas para essa área, *Cyamiocardium dahli* Soot-Ryen, 1957 e a espécie tipo *Cyamiocardium denticulatum*. Além dessas, existem ainda mais duas espécies, *Cyamiocardium rotundatum* (Thiele, 1912) registrada para a Terra Adélia (Leste da Antártica) e *C. crassilabrum* (Thiele, 1912) registrada para as Ilhas Falkland.

Recentemente, mais de 350 espécimes de uma nova espécie de *Cyamiocardium*, foram coletados entre 25 e 75 metros de profundidade pelo Projeto- HABITATS, oriundos da Bacia de Campos- RJ/ES. Esse capítulo mostrará todos os resultados referentes à descrição conquiliológica e anatômica de uma nova espécie pertencente ao gênero *Cyamiocardium* e o primeiro registro da família Cyamiidae para o Brasil. A distribuição geográfica das espécies de *Cyamiocardium* e da nova espécie brasileira estão apresentadas abaixo (Figs. 5,6).



Figura 5. Distribuição geográfica de *C. denticulatum* e *C. rotundatum.*



Figura 6. Distribuição geográfica de C. denticulatum, C. dahli e Cyamiocardium sp. n.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Além dos objetivos específicos propostos anteriormente para a dissertação como um todo, foram exclusivos desse capítulo os seguintes objetivos:

- Registrar pela primeira vez a ocorrência da família Cyamiidae para o litoral brasileiro, ampliando sua distribuição para a América do Sul;
- Descrever uma nova espécie brasileira pertencente ao gênero Cyamiocardium (Cyamioidea-Cyamiidae), baseados em seus aspectos conquiliológicos e anatômicos;
- Elaborar uma discussão sobre os aspectos da anatomia e biologia da família Cyamiidae.

5. A new species of *Cyamiocardium* Soot-Ryen, 1951 (Bivalvia, Cyamioidea) from shallow waters of Brazil, with a discussion on the anatomical characters of the Cyamiidae

Abstract

The Cyamioidea G. O. Sars, 1878 comprises a diverse group of bivalves, in which its constituent families are entangled in a confusing taxonomy. A recent classification suggests that the superfamily is composed by four families: Cyamiidae G. O. Sars, 1878, Basterotiidae Cossmann, 1909, Galatheavalvidae Knudsen, 1970 and Sportellidae Dall, 1899. The family Cyamiidae, in particular, is mainly distributed in the Southern Hemisphere, represented by species in Australian, New Zealand, Antarctic, Subantartic and Magellan waters. Recently were collected in brasilian coast, well preserved specimens of a new species belonging to the genus Cyamiocardium (Cyamiidae). This rare material collected in shallow waters of the coast of Rio de Janeiro and Espirito Santo states, allowed us to describe in detail the new species, adding conchological and anatomical data still unknown for the genus and the family Cyamiidae. This study aims to record for the first time a member of the Cyamiidae from Brazil, based on the conchological and anatomical description of a new species of *Cyamiocardium*. The new species is characterized mainly by presenting, shell thin, translucent, small (maximum of 3.1 mm in length), with produced umbones, suborbicular in adults and orbicular in young individuals. Prodissoconch I large, circular in outline. Hinge plate narrow and short; right valve with two diverging cardinal teeth, one elongated, robust anterior (3a) and other short posterior (3b); left valve with three cardinal teeth, a small, thin, curved dorsally posterior (4b), a prominent median, robust and hook-like (2), and a thin, laminate, curved dorsally anterior (4a). Ligament opisthodetic, with an inner greater in a narrow resilifer. Already about their anatomy we can highlight features as: three well-defined pallial openings (pedal, inhalant and exhalant), a foot with a well pronounced ventral groove and the presence of glands of bissogenic complex with statocysts of type B1.

Introduction

The Cyamioidea G. O. Sars, 1878 comprises a diverse group of bivalves, in which its constituent families are entangled in a confusing taxonomy. Recent classifications (e.g. BIELER *et al.* 2010) group the Cyamiidae G. O. Sars, 1878, Basterotiidae Cossmann, 1909, Galatheavalvidae Knudsen, 1970 and Sportellidae Dall, 1899, to form this superfamily, but other families, however, are also frequently included in it. This is the case, for example, of the Neoleptonidae Thiele, 1934 (THIELE 1934; McCORMICK and MOORE 1969; CHAVAN 1969; BOSS 1982; PONDER and KEYZER 1998; COAN *et al.* 2000; BIELER *et al.* 2010), which otherwise was proposed to be better placed in the Veneroidea Rafinesque, 1815 by SALAS and GOFAS (1998). The family Gaimardiidae Hedley, 1916 is another example, considered within the cyamioideans by some authors (PONDER 1971; MORTON 1979; BOSS 1982; PONDER and KEYZER 1998; BIELER *et al.* 2010), or as a separate superfamily by others (THIELE 1934; McCORMICK and MOORE 1969; FLEMING 1969). Debates like these exist at the genus level too, this related to the relatively small, simple shells their species have.

Knowledge on the anatomy of the cyamioidean species is very restricted, and for this most discussions on the phylogenetic relationships among its families are based on only shell characters. PONDER (1971) was the first to examine the anatomical characters in more detail through an investigation of numerous species, with the main objective to establish the subfamily Gaimardiinae under the Cyamiidae. For him, the hinge dentition of the former can be interpreted as a modification from of the more presumably primitive cyamiids, originated by teeth reduction or loss. Latter, the study on the functional anatomy of *Gaimardia (Neogaimardia) finlayi* Powell, 1933 (MORTON 1979) confirmed this closed relatedness. Similarly, the relationship of the Perrierinidae Marwick, 1928 with Cyamiidae was also discussed by PONDER (1971), who considered the marginal "taxodont-like" hinge dentition of *Perrierina* Bernard, 1897 as secondarily acquired; then it was used to establish the former family as a synonym of the latter, contrary to older opinions (FLEMING, 1948; MARWICK, 1928). Apart from these discussions on the taxonomy, there are only a few observations about the anatomy of cyamiid species, as those of *Pseudokellya cardiformis* (Smith, 1885) (Pelseneer 1903), *Cyamiocardium denticulatum* (Smith, 1907) (Soot-Ryen 1951), and *Pseudokellya franki* Zelaya & Ituarte, 2009 (ZELAYA and ITUARTE 2009).

Mainly distributed in the Southern Hemisphere, cyamiids are represented by species in Australian, New Zealand, Antarctic and Magellanic waters (POWELL 1951, 1979; BOSS 1982). In the southernmost area of the South America, its distribution is known as restricted to the Patagonia and to the subantarctic Islands of the Scotia Arc (CARCELLES 1950, 1953; CARCELLES and WILLIAMSON 1951; ZELAYA 2005). Cyamiocardium Soot-Ryen, 1951, in particular, has two species recorded for this area, Cyamiocardium dahli Soot-Ryen, 1957 described from Chile (SOOT-RYEN 1957), and its type-species C. denticulatum, known from off the Tierra del Fuego, Bouvet Islands, Falklands Islands and some of the Scotia Arc islands (Burdwood Bank and South Shetlands Islands), also extending to the Antarctica (Palmer Archipelago, Peter I Islands and Ross Sea) and to the subantarctic Kerguelen Islands (e.g. DELL 1964, 1990; NARCHI et al. 2002). There are only two other living species which are also referred to this genus, Cyamiocardium. rotundatum (Thiele, 1912), restricted to the Gauss Station (Adelie Land, East Antarctica), and Cyamiocardium crassilabrum Dell, 1964 from Falkland Islands; however, Soot-Ryen (1951) suggested that the former is a synonym of C. denticulatum, and ZELAYA (2008) transferred C. crassilabrum to Perrierina. Apart from these records of Cyamiocardium, the presence of the Cyamiidae in the southwestern Atlantic is also known by species of Cyamium Philippi, 1845 (CARCELLES and WILLIAMSON 1951; CARCELLES 1950, 1953; DELL 1964) and *Pseudokellya* Pelseneer, 1903 (ZELAYA 2005), all of them restricted to Argentina.

This study aims to record for the first time a member of the Cyamiidae from Brazil, based on the description of a new species of *Cyamiocardium* from shallow waters off Rio de Janeiro and Espirito Santo States. Some specimens have soft parts, and then an anatomical study was performed, providing comparisons with other Cyamiidae. The examined animals are very small (up to ~3mm long), limiting the dissections of the visceral mass, and so there was an emphasis on the structure of the pallial organs.

Materials and Methods

Individuals of the new species were obtained from bottom samples collected by a box corer through the activities of the "Habitats Project – Campos Basin Environmental Heterogeneity", in the summer and winter periods from February/2009 to July/2009. Nine transects were stablished in the shelf and continental slope of the Campos Basin, an area of intense exploitation of oil and natural gas off the Rio de Janeiro State and Espirito Santo states, in the southeastern Brazilian coast. Hundreds sediment samples were obtained by the Habitats Project from 25 to 3000 m, and sieved through a 0.5 mm mesh. From 42 of these samples collected in 26 to 75 m depths, 331 empty shells and 25 whole animals of the new species were obtained, initially fixed in 40% formalin and then later preserved in 70% alcohol. Well preserved specimens were selected for examination under the scanning electron microscopy (SEM). For histology, four animals were decalcified in a solution of 100 ml distilled water containing 0.877 g of NaCl and 1.02 g of ascorbic acid; they were embeded in Historesin® in order to obtain serial transverse and sagital sections of 5µm thick.

Voucher specimens of this new species will be deposited in the Museum of Zoology-University of São Paulo (MZUSP), the Museum of Zoology "Prof. Adão José Cardoso" State University of Campinas (ZUEC) and in the National Museum of Rio de Janeiro (MNRJ).

RESULTS

Sistematics

Subclass Heterodonta Neumayr, 1884

Order Veneroida H. Adams and A. Adams, 1856

Superfamily Cyamioidea G. O. Sars, 1878

Family Cyamiidae G. O. Sars, 1878

Genus Cyamiocardium Soot-Ryen, 1951

The new species is placed in the genus *Cyamiocardium* (type-species, by original designation, *Cyamium denticulatum*), based on the original description of genus given by SOOT-RYEN (1951), who listed as external shell diagnostic characters the small roundish contour of the valves, their radial sculpture and the presence of a distinct prodissoconch. For the hinge structure, he pointed out as diagnostic: left valve with three cardinals (one central, bifid, named "2", and other two diverging teeth, "4a" and "4b"), an oblique, narrow resilium, and a long posterior lateral-like ridge; and the right valve with a central bifid cardinal ("3a", "3b"), a long, oblique resilium and lateral ridges (resembling lateral teeth). Among the anatomical characters, SOOT-RYEN (1951) also listed as diagnostic the presence of an open mantle with papillae, two subequal adductors sitting high in the shell, a

digitiform foot without a ventral groove, and outer demibranchs attached to the mantle. The new species has most of these characters, as described and discussed bellow.

Cyamiocardium new species

Measurements of the holotype Length: 2.55 mm; Height: 2.52 mm; Width: 1.7 mm.

Type-locality: Campos Basin, off Rio de Janeiro and Espirito Santo states (22°0'S, 40°40'W), Brazil; 26-75 meters.

Diagnosis

Shell thin, translucent, small (maximum of 3.1 mm in length), with produced umbones, suborbicular in adults; orbicular in young individuals. Prodissoconch large, circular in outline. Hinge plate narrow and short; right valve with two diverging cardinal teeth, one elongated, robust anterior (3a) and other short posterior (3b); left valve with three cardinal teeth, a small, thin, curved dorsally posterior (4b), a prominent median, robust and hook-like (2), and a thin, laminate, curved dorsally anterior (4a). Ligament opisthodetic, with an inner greater portion placed in a narrow resilifer. Three well-defined pallial openings present (pedal, inhalant and exhalant); foot with a well pronounced ventral groove communicating with glands of the bissogenic complex. Statocysts of type B1.

Description

Shell small (length: 2.55 mm; height: 2.52 mm; width: 1.7 mm), suborbicular, subtle inequilateral, equivalve, inflated; shell valves thin, whitish, translucent, not gaping (Figs. 2A, 2B, 2D). Umbones central, slightly prosogyrate, inflated in adults by the proeminence

of well preserved larval shells; low in smaller individuals (Figs. 2C, 2G, 3H). Prodissoconch I large (mean length: $556\pm24 \ \mu\text{m}$; n=16), circular and smooth (Fig. 3E); limits of the prodissoconch II not visible. Anterior dorsal margin short in individuals larger than ~1 mm, slightly convex, and uniformly rounded and confluent with the anterior margin; posterior dorsal margin longer than the anterior, straight and uniformly confluent with the posterior margin; ventral margin almost uniformly rounded, confluent with the anterior margin, and slightly pronounced in the confluence with the posterior margin. In young individuals, the dorso-anterior, anterior, ventral, posterior and dorso-posterior margins are all uniformly rounded and confluent, giving a rounded profile to the valves (Figs. 2A-C).



Figure 2 – *Cyamiocardium* n. sp. A: Holotype, external view, left size; B, C, G: SEM external views, left size; D: SEM dorsal view; E, F: SEM detailed views of the limit between the pro- and dissoconch, and of the periostracum folds, respectively; H: SEM external view of a juvenile incubated. Scale bars: A-D and G= 1000 μ m; E-F= 500 μ m; H= 200 μ m.

Lunule and escutcheon absent. Periostracum thin, translucent. External surface of the valves with submicroscopic growth lines (Figs. 2E-F); individuals more than ~1 mm with also about 35 radial shallow ribs, closely spaced to each other (Figs. 2A-C). Inner surface of the shell whitish, smooth; anterior, ventral and posterior margins with slight crenulations corresponding in position with the external ribs (Figs. 3A-D). Hinge plates short and narrow. Right valve with two diverging cardinal teeth, the anterior 3a elongated, robust, and almost paralel to the anterior dorsal margin of the valve, and the posterior 3b

laminate or bifid, shorter than the anterior and inclinated ventro-posteriorly; a lateral posterior lamina (lt) is present parallel the posterior dorsal edge (Figs. 3F-G). Left valve with three cardinal teeth: a small, thin, curved dorsally, and oblique posterior (4b), located anterior to the ligament and extending postero-ventrally from the umbo; one prominent median, robust and hook-like (2); and a thin, laminate, curved dorsally anterior teeth (4a) (Figs. 3H-I). No tubercles near the hinge. Ligament opisthodetic, with a thin outer portion, and an inner greater portion located in a narrow resilifer (Figs. 3F-I, 6H). Anterior adductor muscle scar elongated; posterior adductor scar elliptical-oval. Pallial line entire.



Figure 3. Cyamiocardium n. sp. A: Holotype, Inner view, left valve; B. Inner view of right valve;

C: SEM inner view, left valve; D: SEM inner view, right valve; E: SEM dorsal view of prodissoconch I (PI); F-G: SEM detail of hinge plate of right valve, ligament (L) and teeth (3a), (3b) laminate or bifid and lateral tooth (lt); H-I: SEM detail of hinge plate of left valve, ligament (L) and teeth (4b), (2) and (4a). Scale bars: A-B= 1000µm; C-D= 100µm; F-H= 200µm; I= 300µm.

Anatomy

The mantle lobes have three marginal folds (inner, middle and outer), which are largely unfused antero-ventrally, resulting on an ample pedal opening. Posteriorly, there are no siphons but the opposing inner folds are fused in two points (fusion "type A" of YONGE 1957), one of which isolating a dorsal exhalant from a ventral inhalant aperture, and other ventro-posteriorly separating the inhalant opening from the pedal aperture (Figs. 4A, 5A). In this latter tissue fusion there are crossing muscle fibers attached to the valves, like orbital muscles. Tentacles are present in the middle marginal folds bordering the anteriormost part of the pedal opening and the inhalant and exhalant apertures (Figs. 4A, 5A, 5C). Fibers of the pallial muscles were observed through histological sections, attached to in the inner surface of the shell valves and running inside these tentacles (Fig. 6A); these fibers cause strong contractions, observed by the SEM. Also, by the SEM it was possible to observe a ciliary tract (Fig. 5A) parallel and near to the mantle margins of the pedal opening, ending in the ventral edge of the inhalant aperture; it must be rejectory, conveying material posteriorly, to be accumulated as pseudofaeces before its expulsion from the mantle cavity through the inhalant aperture.

Cyamiocardium n. sp. has eullamelibranchiate, homorhabdic, complete ctenidia. The inner demibranch is larger, about three times the outer when observed in fixed animals (Fig. 4B). The ascending part of the filaments of the inner demibranch has a half of the length of the descending, and is attached by tissue junction to the visceral mass; a shallow marginal food groove is present in this demibranch. The filaments of outer demibranch have a supraaxial extension with about the same length of the infraaxial, and are fused by tissue junction to the mantle (Figs. 4B, 6A); a marginal food groove is absent. There are interfilamentar junctions in both demibranchs (Fig. 5D), but interlamellar junctions are only present in the outer demibranchs and near the free margin of the inner demibranchs. The remaining space left between the lamellae of this latter demibranch then forms a spacious cavity for brooding (Figs. 7A, 7H). This is further enlarged by the postero-ventral fusion of the inner demibranchs, joining the right and left cavities behind the foot. The examined specimens present the filaments of the outer demibranch in a contorted configuration, instead of a relaxed straight position; also, the inner demibranchs appears to be strongly contracted. This contraction is due to a pair of muscle fibers which are attached dorsally to the valves and run ventrally inserting in the ventralmost point of junction of the demibranchs; it is a ctenidial retractor muscle (Fig. 7A). Each filament has frontal, lateral and eulaterofrontal cilia (Fig. 6E); prolaterofrontals and abfrontals were not observed neither by the SEM, nor through histological sections. When compared to the gills, the labial palps are small, ciliated and very contracted in the examined specimens being hardly visible even through the histological sections (Figs. 6B, 6D). The anterior end of each inner demibranch is inserted between the palps, characterizing this association as of the "category III" of STASEK (1963).

In the examined animals the foot is much contracted, digitiform, pointed anteriorly and with a narrow sole and a defined heel (Figs. 5B, 6C). Its epithelium is densely ciliated, except dorsally and ventrally. Cilia are absent in the sole. Near the heel, there is a deep ventral groove extending anteriorly up to two thirds of the length of the sole (Figs. 5B, 6C, 6F). This groove is associated with a bissogenic complex, which is formed by three developed glandular regions, viewed with different colours in histological sections (Fig. 6C); no byssal threads were observed. Anterior and posterior pairs of retractor muscles with similar size and shape are present, attached dorsally to the anterior and posterior adductors, respectively; protractors muscles are absent (Figs. 4B, 6G, 7A, 7H).



Figure 4. Details of the anatomy of *Cyamiocardium* n. sp. A: Ventral view, showing the inhalant (ia) and exhalant apertures (ea), the points of mantle fusion (f1) and (f2) and pedal open (po); B: Animal dissected, left valve removed, anterior (aam) and posterior (pam) adductor muscles, inner (id) and outer (od) demibranchs, showing outer demibranch fused on the mantle (odf); C: Inner demibranch with some stages of development attached by stalks (s); D-G: Sequence of stages of embryonic development, (sd1), (sd2), (sd3), and juvenile (ju). Scale bars: A and B= 1000µm; C= 600µm; D-E= 200µm.
As the animals are very small, the organs of the visceral mass were only observed by histological sections. From the mouth, a fairly long esophagus joins the antero-dorsal part of the globular stomach (Figs. 6A, 6I); developed right and left caeca were also visible communicating the stomach to the digestive diverticula (Fig. 6I). Furthermore a cristaline style sac projects ventrally, conjoined with the beginning of the midgut. A simple intestine is then formed, bending dorsally toward and crossing the pericardium cavity, and ending in a rectum that opens in an anus located ventral to the posterior adductor muscle.



Figure 5. Details in SEM of the anatomy of *Cyamiocardium* n. sp. A: A piece of the mantle margin, with a pedal open (**po**), fusion two (**f2**), cilia tracts (**ct**), and the tentacles (**t**) in the inhalant aperture (**ia**); **B**: Detail of foot with pedal groove (**pg**); **C**: Detail of tentacle; **D**: Abfrontal surface of inner

demibranch, interfilamentar junction (ifj), lateral cilia (lc); E: Detail of stage of development 3 (sd3), showing stalk (s). Scale bars: A, B = 300µm; C= 10µm; D= 30µm; E= 100µm.

A typical bivalve nervous system is present, with circunesophagic (cerebro-pleural) (Fig. 7E), visceral and pedal ganglia (Figs. 7F-G). Apposed and dorsally to the pedal ganglia there is a pair of separated statocysts (Fig. 7F), each one characterized by a great multicelular ciliated capsule (with 130 μ m in diameter) bearing one free round, solid statolith with 39 μ m in diameter; it is similar to the statocysts "type B1" described by Morton (1985). Details of the heart and kidneys could not be observed.



Figure 6. Histology of *Cyamiocardium* n. sp. A: Transversal serial section, showing the stomach (**sto**), embryo (**e**), ascending lamella of inner (**alid**) and outer (**alod**) demibranchs, outer demibranch (**od**), tissue fusion between outer demibranch and the mantle (**odf**), pallial fibers (**pf**) and tentacle

(t); B: Transverse section of anterior region, with anterior aductor muscle (aam), esophagus (eso) and anterior labial palp (alp); C: Sagital section of foot, three glandular regions (gr1, gr2, gr3) and pedal groove (pg); D: Sagital section, posterior labial palp (plp); E: Filaments of ctenidia, with frontal, lateral and eulaterofrontal cilia; F: Foot, with pedal groove (pg) and cilia (ci); G: Transversal serial section, showing the gonad (go), posterior retractor muscle of foot (prm) and posterior adductor muscle (pam); H: Outer (lo) and inner (li) portion of ligament; I: Globular stomach (sto), digestive diverticule (dd) and mid gut (md). Scale bars: A and G= 200μm; B, D, E, F, H = 100μm; C= 500μm; I= 200μm.

Cyamiocardium n. sp. is dioecious and ovoviviparous. Broods in different phases of development were observed in the same parental individual, held until the juvenile stage in the spacious cavity between the lamellae of ventrally fused inner demibranchs. A continuum of distinct phases can be recognized, the earliest one being orange spheres measuring $150\pm5\mu$ m in diameter (n=10) (Figs. 4C, 4D, 7J, 7K), composed by yolk masses with developing embryos in one pole. The latter phases are distinguished by the presence of a conspicuous shell, smooth, whitish and very similar to the adult prodissoconch; they are juveniles, which on average reaches $500 \pm 15\mu$ m (n = 10) in length (Fig. 4G). The remaining phases are actually intermediate phases. The first of them characterized by being a yolk mass (orange sphere) increased in length, showing the beginning of the formation of the shell of the juvenile (Figs. 2H, 4E); and the second, characterized by having a shell much like the juvenile, however, thinner and more transparent (Figs. 4F, 5E). In some phases of development (embryos and intermediate phases) were observed a stalk, which maintain them fixed to the inner demibranchs (Fig. 4C).

To count the number of embryos and juveniles, three individuals of different lengths were used, two sectioned animals presented 16 embryos and 9 juveniles (tranversal section, 1,96 mm length) and 9 embryos and 5 juveniles (sagital section, 1,73 mm length), and third dissected (2,76 mm length) contained 34 embryos and 33 juveniles, moreover, many oocytes were observed in their gonads.

In a general way the female gonads (ovary) of the new species is formed by an acinus organ that harbors within itself, typical cells of oogenesis (Figs. 7B-D). Among these cells stand out, early pre-vitellogenic, pre-vitellogenic and vittelogenic oocytes all these covered by follicular cells (Fig. 7D).



Figure 7. Histology of *Cyamiocardium* n. sp. A: Transversal serial section, showing the gonad (go), midgut (mg), posterior retractor muscle of foot (prm), ctenidial retractor muscle (crm), pedal ganglia (pg) and posterior aductor muscle (pam); B: Transverse section of gonad, showing the acinus (ac), early pre-vitellogenic oocyte (evo) and pre-vittelogenic oocyte (pvo); C: Gonad, with vittelogenic oocyte (vo) covered with follicular cells (fc), early pre-vitellogenic oocyte (evo), pre-vittelogenic oocyte (pvo) and digestive divertula (dd); D: Gonad showing a early pre-vittelogenic oocyte (evo) all covered by follicular cells (fc); E: Esophagus (eso), and circunesophagic ganglia

(ceg); F: Transversal section of foot, showing the pedal ganglia (pg), with a pair of statocysts (sta) and a single statolith (st); G: Detail of pedal ganglia, with axon branches (ax); H: Transversal serial section showing, anterior aductor muscle, incubated embryo and juvenile, spacious cavity for brooding (scb) in inner demibranch, and tentacle (t). I,J,K: Incubated juvenile (ju), and embryo (e) with stalk (s). Scale bars: A and H= 200µm; B, D, E, F, G, I, J, K= 100µm; C= 200µm.

Discussion and conclusions

Conchiliological remarks

The shell of *Cyamiocardium* n. sp. has the main external characters of a Cyamiidae, who is generally characterized as bearing small, thin, equivalve shells, composed by rounded to elongate valves, with a smooth or weak radial sculpture (BOSS 1982; PONDER and KEYZER 1998). Its suborbicular contour and centrally located umbones differs from the more elliptical or rectangular (with anteriorly dislodged umbones) species of *Cyamium* known from the Magellanic, Scotia Arc and Antarctic waters [see DELL (1964) for a discussion on the taxonomy and validity of these species]. Comparing with *Pseudokellya*, the distinction from new species can be easily performed by both external and internal characters: the species of *Pseudokellya* from the Southwestern Atlantic have shells with subcircular to subtrapezoidal outlines and their hinge plate is narrow (ZELAYA and ITUARTE 2009), contrasting with the suborbicular shells with heavier hinges of *Cyamiocardium*.

The hinge structure of *Cyamiocardium* n. sp. is developed and similar to other species already referred to *Cyamiocardium*, being basically composed of two cardinal teeth in the right valve, and three in the left. PONDER (1971) characterized the hinge of cyamiids with well developed teeth as the most primitive type in the Cyamioidea, present in species of *Cyamium*, *Cyamiomactra*, and *Cyamiocardium*. The hinge dentition in these

genera has been named and characterized in different ways, and for this comparisons with other species can be very difficult. In *Cyamiocardium*, for example, the left cardinal teeth originally named as "4a", "2" and "4b" by Soot-Ryen (1951) were referred to as "t", "s" and "r" by PONDER (1971), respectively; and in the right valve the teeth "3a" and "3b" of SOOT-RYEN (1951) were "s" and "r", respectively, for PONDER (1971). Further, in the left valve SOOT-RYEN (1971) pointed out the occurrence of a "long posterior lateral ridge formed by the radial sculpture", and in the right valve the presence of simpler "lateral ridges". All these teeth are present in *Cyamiocardium* n. sp., but the "lateral ridges" of the right valve are very subtle.

Cyamiocardium n. sp. can be easily distinguished from the type-species of the genus, *C. denticulatum*, who has been frequently collected and illustrated by researchers dealing with subantarctic and Antarctic benthic samples. The shell of the latter reaches more larger dimensions (for example, up to 6 mm in length, as recorded by NARCHI *et al.* (2002) and has a thin greenish-gray to yellowish-gray periostracum (SOOT-RYEN 1951; NICOL 1964; NARCHI *et al.* 2002); *Cyamiocardium* new species is smaller (up to 3,1 mm) and has a much more fragile, thin, and translucent shell. In the left valve the cardinal "2" of *C. denticulatum* is triangular, while in the new species is hook-like; further, the cardinals "3a" and "3b" of the right valve diverges in an open angle in the latter, and are more next each other in the former. In addition, the cardinal "3b" is bifid is some specimens of *Cyamiocardium* n. sp. Comparisons between *Cyamiocardium* n. sp. and *C. rotundatum* are very difficult to be done, as the latter was incompletely described and illustrated. THIELE (1912) did not characterize its hinge structure. However, based on his original description and illustration, *C. rotundatum* appears to be more inequilateral than the new

species. SOOT-RYEN (1951) suggested that this species, only described from the Eastern Antarctica, is probably a synonym of *C. denticulatum*.

The South American *C. dahli* was not originally illustrated by SOOT-RYEN (1957), who also did not mention details about its hinge structure. He characterized the shell of this species as thick, covered by a thin periostracum, and bearing a pearl-like lustre. The pictures furnished by FORCELLI (2000) fairly show these characteristics, permitting to distinguish the shell of *C. dahli* from the thin, translucent shell of *Cyamiocardium* n. sp.

Although very similar to *Perrierina* F. Bernard, 1897 in relating to the cardinal dentition, *Cyamiocardium* n. sp. does not have the additional marginal "taxodont-like" dentition of the perrierinids; this is the main character which differs it from *Perrierina crassilabrum*, formerly placed in *Cyamiocardium*.

This finding of a cyamiid from the coast of Rio de Janeiro is here representing the extension of the geographical distribution of this family further north in southwestern Atlantic Ocean. As the few empty shells and the whole specimens of new species were obtained from a large collection of bottom samples, the occurrence of this species can be here characterized as "rare". As so, its distribution must not be restricted to the coast of Rio de Janeiro, its occurrence being not detected until now because of its scarce occurrence and small, simple shells.

Anatomical remarks

Although relatively few species of Cyamioidea were observed regarding their soft parts, patterns on the anatomy of its constituent taxa were already recognized (e.g., PONDER 1971; BOSS 1982; PONDER and KEYZER 1998; COAN *et al.* 2000), with

35

some variations occurring at the family and the genus levels. For the cyamiids, for example, PONDER (1971) paid attention to some differences in the anatomy of species of *Cyamium*, *Cyamiocardium* and *Cyamiomactra* F. Bernard, 1897, despite recognizing similarities among their hinge dentition. Here, with additional data on a *Cyamiocardium* species, these variations are discussed, stressing some which have taxonomic and functional importance.

In cyamioideans species, fusion of the mantle lobes is currently observed in the posterior part of the body, forming simple siphons without retractor muscles, surrounded by tentacle-like papillae (PONDER 1971; BOSS 1982; PONDER and KEYZER 1998). In cyamiids, specifically, only one point of fusion occurs between the exhalant and inhalant apertures, or two, with an additional second point also separating the latter from the pedal aperture. Cyamium antarcticum Philippi, 1845, Cyamiomactra problematicum (Bernard, 1897), Perrierina taxodonta Bernard, 1897 and Cyamiomactra laminifera (Lamy, 1906) are recorded as having two fusions (SOOT-RYEN 1951; PONDER 1971), and in *Pseudokellya* both conditions are found, with one fusion observed in P. franki (ZELAYA and ITUARTE 2009), and two in *P. cardiformis* (PELSENEER 1903). A situation guite similar to this of *Pseudokellya* is here revealed for *Cyamiocardium*, with only one point of fusion recorded in C. denticulatum (SOOT-RYEN 1951; personal observation), a condition differing from *Cyamiocardium* new species, where there are three mantle apertures separated by two points of fusion. This variation within Cyamiocardium recalls for a better definition of one of the anatomical diagnostic characters of the genus Cyamiocardium given by SOOT-RYEN (1951): instead of an "open mantle with papilla" (as characterized by him), species of this genus can have two or three mantle openings (the condition of C. denticulatum being a secondary feature, as suggested by PONDER 1971), with tentacle-like papilla located in the middle marginal fold in both anterior and posterior extremities of the body. Tentacles are restricted to the surroundings of the posterior pallial openings of species of *Cyamium*, *Cyamiomactra* and *Pseudokellya* (PELSENEER 1903; SOOT-RYEN 1951; PONDER 1971; ZELAYA and ITUARTE 2009), and absent in *Perrierina* (PONDER 1971), distinguishing all these genus from *Cyamiocardium*.

When compared to the mantle structure, the ctenidia of the cyamiids can be characterized as less variable, but some minor differences can be noted. Both demibranchs are present, but the outer is more reduced than the inner (PELSENEER 1903; SOOT-RYEN 1951; PONDER 1971; ZELAYA and ITUARTE 2009). In the latter, the ascending lamella is shorter than the descending, and a marginal food groove can be recorded (PONDER 1971). The outer demibranchs have a supraaxial extension distally attached to the mantle and are reduced in different degrees: they can be more developed and bear a marginal food groove, as recorded in Cyamium antarcticum (PONDER 1971), or is more reduced, as observed in C. (Cyamiomactra) problematicum and P. taxodonta by PONDER (1971), in P. franki by ZELAYA and ITUARTE (2009), and in Cyamiocardium denticulatum by SOOT-RYEN (1951). The ctenidia of Cyamiocardium n. sp. are very similar to those of *C. denticulatum*. They are used for brooding, which only occurs between the lamellae of the inner demibranchs, in a large cavity left by the absence of interlamellar junctions. Brooding in these demibranchs was also observed for other Cyamiidae (PELSENEER 1903; PONDER 1971; ZELAYA and ITUARTE 2009), and the evolution of this character in this bivalve lineage is probably related to the small shells they have. It has eventually lead to the reduction of the outer demibranchs, culminating in the condition found in Gaimardiinae, where there are only the inner demibranchs (MORTON 1979). This pattern is paralleled to other bivalve groups, as suggested for other bivalve groups (e.g. PASSOS and DOMANESCHI 2009).

The brooding behavior observed in new species, come to confirm what had already been inferred indirectly by measuring of the prodissoconch I (length: $556\pm24 \mu$ m; n=16) corresponding to the bivalves with direct development (see OCKELMANN 1965). Furthermore, the different stages of development that are incubated for *Cyamiocardium* n. sp., have a stalk that the attached to inner demibranch. The presence of this stalk was also observed for *Pseudokellya franki* (ZELAYA and ITUARTE 2009), *Gaimardia trapezina* (ITUARTE 2009) and *Gaimardia bahamondei* (CHAPARRO *et al.* 2011). According to ITUARTE (2009) the function of stalk is simply mechanical, providing support, and possibly allowing for the accommodation of a large number of embryos, maximizing the space available for brooding. However we believe also that another possible function of the stalk would prevent embryos and juveniles are released from the incubatory chamber before the end of its development, in this case functioning like a "safety belt". This possible function is directly linked to the fact that *Cyamiocardium* n. sp. is possibly a species very active that can move quickly.

Another important characteristic reproductive is the presence of a layer follicle cells around each of oogenesis development stage. According to GLAVINIC *et al.* (2013) the presence of a layer of follicle cells surrounding the oocyte during the all stages of oogenesis, classifies this reproductive process as truly follicular type. So far this type of oogenesis had only been reported for *Pseudokellia cardiformes* and *Gaimardia trapezina* (ZELAYA and ITUARTE 2004; ITUARTE 2009).

The structure of the foot appears to be variable in the Cyamioidea and here, for *Cyamiocardium*, variations also were also detected. The foot is generally described as a digitiform organ (this being diagnostic for *Cyamiocardium*, as described originally by SOOT-RYEN (1951), bearing a more or less defined heel. The absence of protractor pedal

muscles is reported as a general character for the Cyamioidea (PONDER 1971). The occurrence of ventral sole, with a groove associated to a byssal gland is not universal. It was established as diagnostic for *Cyamiocardium* by SOOT-RYEN (1951), based on the observation of *C. denticulatum*, but it was not observed in the new species.

Apart from the anatomical characters which have taxonomical importance, some of the observations made by the dissections and histology can be here discussed to envisage the mode of life of *Cyamiocardium* n. sp. even not having been observed in alive specimens. According to MORTON (1985) bivalve species that have statocysts type B1, as observed for the new species, has the ability to orient themselves through more precise movements and are usually present in some bivalve carnivores of deep waters (Poromyidae and Verticordiidae). The presence of this type of statocyst in *Cyamiocardium* n. sp. could indicate a more active behavior, related to free-living crawler of shallow-burrower mode of life, as already recorded for *Cyamiomactra* (Cyamiidae) (W.F. PONDER personal observation). As this, *Cyamiocardium* n. sp. would also be a suspension feeder, this being related to the presence of a eullamelibranchiate, homorhabdic and complete ctenidia.

References

- BIELER, R.; CARTER, J. G. & COAN, E. V. 2010. Part 2. Classification of bivalve families. <u>Malacologia 52(2)</u>: 1-184.
- BOSS, K. J. 1982. Mollusca. *In*: PARKER, S. P. (Ed.). <u>Synopsis and classification of living</u> organisms, Vol. 1. McGraw-Hill, New York.
- CARCELLES, A. R 1950. Catalogo de los Moluscos Marinos de la Patagonia. <u>Anales del Museo</u> <u>Rahuel Huapí</u>, Bueno Aires, <u>2</u>: 41-99.
- CARCELLES, A. R; WILLIAMSON, S. I. 1951. Catalogo de los Moluscos Marinos de la Provincia Magallanica. <u>Revista del Instituto Nacional de Investigacion de las Ciências Naturales</u>, Ciências Zoológicas, Buenos Aires, <u>2</u>(5): 225-383.
- CARCELLES, A. R. 1953. Catalogo de La Malacofauna Antartica Argentina. <u>Anales del Museo</u> <u>Nahuel Huapí</u>. Buenos Aires, <u>3</u>: 150-250.
- CHAPARRO, O. R; SCHIMIDT, A. J; PARDO, L. M; ANDRADE, P. V; WAGNER, C. E; CUBILLOS, V. M. 2011. Reproductive strategy of the semelparous clam *Gaimardia bahamondei* (Bivalvia: Gaimardiidae). <u>Invertebrate Biology</u> 130(1): 49-59.
- CHAVAN, A. 1969. Superfamily Cyamiacea Philippi, 1845. Pp. 537–543. <u>Treatise on invertebrate</u> paleontology. Lawrence, Kansas. Geological Society of America& University of Kansas.
- COAN, E. V; SCOTT, P. V and BERNARD, F. R. 2000. <u>Bivalve seashells of Western North</u> <u>America</u>. Santa Barbara Museum of Natural History. Monographs number 2, Studies in Biodiversity n°2, 764 pp.
- DELL, R. K. 1964. Antarctic and subantarctic Mollusca: Amphineura, Scaphopoda and Bivalvia, <u>Discovery Rep 33</u>:93-250.
- DELL, R. K. 1990. <u>Antarctic Mollusca-with special reference to fauna of the Ross sea</u>. Bulletin 27, The Royal Society of New Zealand Pp. 47-51.
- FLEMING, C. A. 1948. New species and genera of marine Mollusca from the Southland Fiords. <u>Transactions of the Royal Society of New Zealand</u> <u>77</u>(1): 72–92.
- FLRMING, C. A. 1969. Superfamily Gaimardiacea Hedley, 1916. Pp. N644 in MOORE, R. C. (ed) <u>Treatise on Invertebrate Paleontology</u>. Part N. Mollusca 6. Vol. 2. Bivalvia. Geological Society of America & University of Kansas press: Boulder, Colorado & Lawrence, Kansas.
- FORCELLI, D. O. 2000. <u>Molluscos Magallánicos: Guia de los Moluscos de la Patagônia y Sur de</u> <u>Chile, Vol. 2. Vazquez Mazzini Editores, Buenos Aires.</u>
- GLAVINIC, A; BENKENDORFF, K and ROUSE, G. W. 2013. Oogenesis and ultrastructure of the ovary in *Neotrigonia margariatacea* (Lamarck) (Bivalvia, Mollusca). <u>Invertebrate Reproduction</u> <u>& Development 56(2)</u>: 111-123.

- ITUARTE, C. 2009. Unusual modes of oogenesis and brooding in bivalves: the case of *Gaimardia trapezina* (Mollusca: Gaimardiidae). Invertebrate Biology 128(3): 243-251.
- MARWICK, J. 1928. The Tertiary Mollusca, Catham Islands. <u>Transactions and Proceedings of the</u> <u>New Zealand Institute 58(4)</u>: 432–506.
- McCORMICK, L & MOORE, R. C. 1969. Outline of classification. In <u>Treafise on invertebrate</u> <u>paleonfology</u>. *Purr N*,1. *Molluvca 6, Bivalvia*: N218-221. Moore, R. C. (Ed.). Kansas: The Geological Society of America and University of Kansas Press.
- MORTON, B. 1985. Statocyst structure in the Anomalodesmata (Bivalvia). Journal of Zoology 206: 23-34.
- MORTON, B. 1979. The biology, functional morphology and taxonomic status of *Gaimardia* (*Neogaimardia*) finlayi (Bivalvia: Gaimaidiidae). Journal of Zoology 188: 123-142.
- NARCHI, W; DOMANESCHI, O & PASSOS, F. D. 2002. Bivalves Antárticos e Subantárticos coletados durante as Expedições Científicas Brasileiras à Antartica I a IX (1982-1991). <u>Revista</u> <u>Brasileira de Zoologia 19</u>(3): 645-675.
- NICOL, D. 1964. A new species of *Cyamiomactra* (Pelecypoda) from the Ross Sea, Antarctica. <u>Nautilus 78(2)</u>: 60-64.
- OCKELMANN, K. W. 1965. Developmental types in marine bivalves and their distribution along the Atlantic coast of Europe, In: COX, L. R; PEAKE, J. F (eds) <u>Proc. First Eur Mal Congr</u> 1962: 25-35.
- PASSOS, F. D; DOMANESCHI, O. 2009. The anatomical characters related to the brooding behavior of two Antartic species of *Mysella* Angas, 1877 (Bivalvia, Galeonmatoidea, Lasaeidae), with direct and indirect evidences of ovoviviparity. <u>Polar Biology 32</u>: 271-280.
- PELSENEER, P. 1903. Mollusques (Amphineures, Gastropodes et Lamellibranches). Resultats du Voyage du S.Y. 'Belgica'. Expedition Antarctique Belge 1897–1899, <u>Zoologie 3(9)</u>: 1–85.
- PONDER, W. F. 1971. Some New Zealand and Subantarctic bivalves of the Cyamiacea and Leptonacea with descriptions of new taxa. <u>Records of the Dominium Museum 7(13)</u>: 119-141.
- PONDER, W. F. and KEYZER, R. G. 1998. Superfamily Cyamioidea. Pp. 318-322. *In*: Beesley, P. L.; Ross, G. J. B. & Wells. A. (Eds.) <u>Mollusca: The Southern Synthesis. Fauna of Australia</u>, Vol. 5. CSIRO Publishing, Melbourne, Part A xvi 563 p.
- POWELL, A. W. B. 1951. Antarctic and Subantarctic Mollusca: Pelecypoda and Gastropoda collected by the ships of the Discovery Committee during the years 1926–1937. <u>Discovery</u> <u>Reports 26</u>: 49–196, pls. 5–10.
- POWELL, A. W. B. 1979. <u>New Zealand Mollusca. Marine, land and freshwater shells</u>. Auckland, William Collins Publishers, 500 pp.

- PURCHON, R. D. 1987. The stomach in the Bivalvia. <u>Philosophical Transactions of the Royal</u> <u>Society of London</u>. Series B, Biological. <u>360</u>:183-276.
- SALAS, C; GOFAS, S. 1998. Description of four new species of *Neolepton* Monterosato, 1875 (Mollusca: Bivalvia: Neoleptonidae), with comments on the genus and on its affinity with the Veneracea. <u>Ophelia 48(1)</u>: 35-70.
- STACEK, C. R. 1973. Synopsis and discussion of the association of ctenidia and labial palps in the bivalved Mollusca. <u>Veliger 6</u>: 91-97.
- SOOT-RYEN, T. 1951. <u>Antarctic Pelecypods</u>. Scientific Results of the Norwegian Antarctic Expeditions 1927–1928, <u>32</u>: 1–46.
- SOOT-RYEN, T. 1957. Preliminary diagnoses of new genera and species of Pelecypods from Chile. <u>Astarte 16</u>: 1-5.
- THIELE, J. 1912. <u>Die Antarctischen Schnecken und Muscheln</u>. Deustsche Sud-polar-Expedition 1901-1903. *Bd. XIII. Zoologie* V. P. 183-285. Berlin
- THIELE, J. 1934. Handbuch der systematischen Weichtierkunde. Jena 2(3).
- ZELAYA, D. G. 2008. Reallocation of *Cyamiocardium crassilabrum* Dell, 1964, into *Perrierina* Bernard, 1897 (Bivalvia, Cyamiidae). <u>The Nautilus</u> 122(1): 52-55.
- ZELAYA, D. G & ITUARTE, C. 2004. The genus *Neolepton* Monterosato, 1875 in Southern South America (Bivalvia: Neoleptonidae). J. Moll. Stud 70: 123-137
- ZELAYA, D. G & ITUARTE, C. 2009. A redefinition of *Pseudokellya* Pelseneer, 1903 (Bivalvia: Cyamiidae) and the description of a new species from the Southern Ocean. <u>The Nautilus</u> 123(1): 1-8.



CAPÍTULO 2

OS SPHENIOPSIDAE

6. INTRODUÇÃO

A família Spheniopsidae J. Gardner, 1928 surgiu no período Paleógeno, mais especificamente no Oligoceno intermediário, e possui atualmente dois gêneros, Spheniopsis e Grippina (NEUFFER 1973; COAN 1990). Esse último é o mais representativo, com nove espécies descritas, todas elas registradas para o Oceano Pacífico, especificamente para águas neozelandezas (DALL 1912; KENN 1971; POWELL 1937; MARSHALL 2002). Além disso, REDFERN (2001) e MIKKELSEN & BIELER (2008) registraram mais cinco espécies de Grippina ainda não descritas formalmente, para a região da Flórida e Bahamas. O gênero Spheniopsis possui oito espécies conhecidas, sendo cinco delas fósseis (BRAUN 1851; MEYER 1887; DALL 1903, COAN 1990); dentre as da fauna Recente, duas são registradas para o Atlântico norte, sendo a primeira para a Carolina do Norte-EUA e a outra para a República do Senegal-África (VERRIL & BUSH 1898; COSEL 1995); e uma para o Pacífico, especificamente para o litoral do Panamá (COAN 1990) (Fig. 7). Segundo MARSHALL (2002) existem ainda muitas espécies de Spheniopsis a serem descritas em coleções de substratos bioclásticos depositados no Museu de História Natural da França, MNHN.

As espécies pertencentes ao gênero *Grippina* são caracterizadas por apresentar conchas com um formato oval-trigonal, com a margem posterior curta e truncada, podendo ou não apresentar microesculturas externas. Possuem um ligamento profundo e calcificado. Sua valva direita possui dois dentes semelhantes em formato, sendo um deles anterior e outro posterior; a valva esquerda é edêntula. Além disso, possui um seio palial curto (COAN 1990; MARSHALL 2002).

44

Já as espécies de *Spheniopsis* são caracterizadas por possuírem conchas com formato subtrigonal, margem posterior alongada e rostrada com presença de finas estrias concêntricas na superfície externa. Sua valva direita também apresenta dois dentes, um posterior e outro anterior, no entanto, ao contrário do observado em *Grippina*, estes são diferentes entre si; valva esquerda edêntula. Presença de um ligamento calcificado e seio palial curto (COAN 1990; COSEL 1995).

Atualmente sabemos que a família Spheniopsidae é um grupo formado exclusivamente por microbivalves que variam de 1 a 4,5mm de comprimento de concha (BOSS 1982) e que são encontrados apenas em águas quentes de regiões tropicais (COAN *et al.* 2000). A anatomia dos Spheniopsidae é pouco conhecida, sendo as únicas informações disponíveis baseadas nas cicatrizes musculares e nas partes moles secas de espécimes de *Grippina californica* Dall, 1912 (COAN 1990; COAN *et al.* 2000; MIKKELSEN & BIELER 2008). Algumas observações feitas por COAN *et al.* (2000) a partir desse material mostram que os Spheniopsidae possuem a margem do manto fundida formando uma pequena abertura pediosa, dois sifões curtos e unidos, além de incubar sua prole na cavidade do manto.

Contudo esse escasso conhecimento sobre os aspectos anatômicos do grupo gera não só lacunas no entendimento taxonômico como também incertezas sobre o posicionamento filogenético da família Spheniopsidae. Além disso, podemos perceber que as pequenas dimensões, o formato simples de suas conchas, a falta de conhecimento sobre as partes moles, associado à dificuldade

45

em coletar espécimes vivos, fazem com que os Spheniopsidae sejam pouco estudados, e até agora completamente desconhecidos para o litoral brasileiro.

Portanto esse capítulo mostrará os resultados referentes às descrições conquiliológicas e anatômicas de duas novas espécies de Spheniopsidae, o primeiro registro da família para o Brasil, além de uma discussão sobre o posicionamento filogenético desse grupo dentre os Anomalodesmata. Todos os resultados foram baseados nas observações de mais de 250 espécimes de Spheniopsidae bem preservados, alguns deles com partes moles, coletados entre 21 e 148 m de profundidade pelo Projeto HABITATS, na Foz do Rio Paraíba do Sul e na Plataforma Continental da Bacia de Campos-RJ/ES.



Figura 7: Distribuição geográfica de todas as espécies de Spheniopsidae (Fauna Recente) conhecidas, além das duas novas espécies brasileiras.

7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1- Registrar a primeira ocorrência da família Spheniopsidae para águas brasileiras, ampliando sua distribuição para o oceano Atlântico;

2- Elaborar a primeira descrição anatômica da família Spheniopsidae, através da descrição de duas novas espécies, sendo uma pertencente ao gênero *Grippina* e outra ao gênero *Spheniopsis*;

3- Discutir o atual posicionamento filogenético da família Spheniopsidae, dentre os Anomalodesmata, propondo um teste cladístico.

8. A família Spheniopsidae Gardner, 1928 no Brasil: novas espécies e considerações sobre o seu posicionamento filogenético dentre os Anomalodesmata.

Resumo

A família Spheniopsidae é composta exclusivamente por microbivalves sendo atualmente representada por cinco espécies fósseis e onze espécies pertencentes à fauna Recente ambas agrupadas nos gêneros Grippina Dall, 1912 e Spheniopsis Sandberger, 1861. Dentre todas as espécies recentes, nove delas são registradas para o Oceano Pacífico e apenas duas são registradas para o Atlântico. Pouco se conhece sobre a anatomia dos Spheniopsidae, conhecimentos estes necessários para discussões acerca do posicionamento filogenético dessa família dentre os demais grupos de Bivalvia; atualmente considera-se que esteja dentre os Anomalodesmata. Com o objetivo de reunir elementos para uma discussão sobre este assunto, foram examinadas as conchas e as partes moles de espécimes obtidos na Foz do Rio Paraíba do Sul e na plataforma continental da Bacia de Campos-RJ/ES pelo "Projeto HABITATS" - Heterogeneidade Ambiental da Bacia de Campos. Duas novas espécies de Spheniopsidae estão presentes nesse material, uma de Spheniopsis e outra de Grippina, distinguidas principalmente pelo contorno das valvas e detalhes da dentição da charneira. Dentre os resultados anatômicos destacam-se características como: brânquias reduzidas a septos musculares, septos perfurados por quatro pares de poros, um complexo aparato sifonal e um estômago Tipo II com presas em seu interior, indicando que além de serem Septibranchia e possuir o hábito carnívoro, os Spheniopsidae são filogeneticamente próximos dos Cuspidariidae, formando um grupo-irmão. Além disso, o presente trabalho registrou pela primeira vez a família Spheniopsidae para o litoral brasileiro por meio da descrição de duas novas espécies.

Abstract

The family Spheniopsidae is exclusively composed by microbivalve currently being represented by five species considered fossil and 11 species of recent fauna, both grouped in two genus, Grippina Dall, 1912 and Spheniopsis Sandberger, 1861. Among all recent species, nine of them are registered to the Pacific Ocean and only two are recorded for Atlantic. Few is known about the anatomy of Spheniopsidae, knowledge necessary for these discussions on the phylogenetic position of this family among the other groups Bivalvia, currently considered to be among the Anomalodesmata. In order to gather information for a discussion about this, we examined the shells and soft parts of specimens obtained on the river mouth Paraíba do Sul and Continental shelf of Campos Basin-RJ/ES by "Project HABITATS" - Evaluation of Environmental Heterogeneity in the Campos Basin. Two new species of Spheniopsidae are present in this material, one of Spheniopsis and another Grippina, distinguished by the outline of the valves and details of the hinge plate. Among the anatomical results stand out characteristics as: gills reduced the septum muscle, septum pierced by four pairs of pores, a complex apparatus siphonal and a stomach Type II with prey in its interior, indicating that besides being Septibranchia and possess the habit carnivorous the Spheniopsidae are phylogenetically close to Cuspidariidae, forming a sister group. Furthermore, this paper first reported the family Spheniopsidae to the Brazilian coast by describing two new species.

Introdução

A família Spheniopsidae Gardner, 1928 reúne espécies de bivalves cujas conchas possuem tamanhos diminutos, variando entre 1,0 a 4,5 mm de comprimento (BOSS, 1982), todas elas marinhas e provavelmente infaunais, vivendo em sedimentos não consolidados (MIKKELSEN & BIELER 2008). Nessa família são conhecidos somente dois gêneros na fauna Recente, *Spheniopsis* Sandberger, 1863 e *Grippina* Dall, 1912 (COAN 1990), o primeiro com três e o segundo com oito espécies descritas, a maioria delas do Oceano Pacífico (Tabela 1). Para o Oceano Atlântico, existem registros da ocorrência de *S. senegalensis* Cosel, 1995 da costa oeste africana (COSEL 1995), *S. triquetra* (Verril & Bush, 1898) da Carolina do Norte-EUA, além de espécies de *Grippina* da Flórida e das Bahamas (REDFERN 2001; MIKKELSEN & BIELER 2008), estas últimas ainda não formalmente descritas. Além de espécies da fauna Recente, a família Spheniopsidae possui também cinco espécies fósseis, pertencentes exclusivamente ao gênero *Spheniopsis* (COAN 1990).

Em relação à anatomia dos Spheniopsidae pouco se conhece, havendo apenas informações acerca das cicatrizes musculares deixadas na concha e sobre as partes moles secas de espécimes de *G. californica* Dall, 1912, que ocorre do litoral da Califórnia até a Costa Rica (COAN 1990; COAN *et al.* 2000).

Associado a isso, o posicionamento filogenético dessa família tem sido alvo de debates, sendo que antigamente ela era relacionada aos Heterodonta (COAN 1990; MARSHALL 2002). Atualmente, entretanto, está posicionada entre os Anomalodesmata, mas neste grupo persistem dúvidas em relação à sua proximidade com os Thracioidea ou os Cuspidarioidea (MARSHALL 2002; HARPER *et al.* 2006; BIELER *et al.* 2010). Com o objetivo de reunir elementos para uma discussão sobre este assunto e descrever duas novas espécies de Spheniopsidae, foram examinadas as conchas e as partes moles de espécimes coletados no litoral brasileiro, mais especificamente na Foz do Rio Paraíba do Sul e na Plataforma Continental da Bacia de Campos- RJ/ES, pelo "Projeto HABITATS" – Heterogeneidade Ambiental da Bacia de Campos.

Tabela 1: Espécies fósseis e da fauna Recente pertencentes aos gêneros *Spheniopsis* Sandberger, 1861 e *Grippina* Dall, 1912 (Spheniopsidae) com a localidade tipo e a distribuição batimétrica.

Espécies (Fauna Recente)	Oceano Atlântico
Spheniopsis triquetra (Verril & Bush, 1898)	Carolina do Norte-EUA (79m)
Spheniopsis senegalensis Cosel, 1995	Senegal- África (170-2000m)
Spheniopsis sp. n.	Rio de Janeiro e Espirito Santo- Brasil (17-148m)
<i>Grippina</i> sp. n.	Rio de Janeiro e Espirito Santo- Brasil (21-53m)
Espécies (Fauna Recente)	Oceano Pacífico
Spheniopsis frankbernardi Coan, 1990	Panamá (13-91m)
Grippina californica Dall, 1912 – espécie tipo	Califórnia a Costa Rica (5-37m)
Grippina berryana Kenn, 1971*	Panamá ao México (12-30m)
Grippina aupouria (Powell, 1937)	Nova Zelândia (100-805m)
Grippina rex Marshall, 2002	Nova Zelândia (91-805m)
<i>Grippina globosa</i> Marshall, 2002	Nova Zelândia (100-550m)
Grippina punctata Marshall, 2002	Nova Zelândia (63-805m)
Grippina spirata Marshall, 2002	Nova Zelândia (63-200m)
Grippina acherontis Marshall, 2002	Nova Zelândia (40m)
<i>Grippina pumila</i> Marshall, 2002	Nova Zelândia (55-183m)
Espécies fósseis	Tempo geológico
Spheniopsis scalaris (Braun, 1851)- espécie tipo	Oligoceno intermediário (Alemanha)
Spheniopsis daimeriesi E. Vicent, 1923	Terciário Europeu
Spheniopsis americana Dall, 1903	Início do Mioceno (Flórida-EUA)
Spheniopsis curvata Koenen, 1894	Terciário Europeu
Spheniopsis mississippiensis (Meyer, 1887)	Baixo Mioceno (EUA)

*Segundo COAN (1990), Grippina berryana é muito similar a G. californica podendo ser um sinônimo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Identificação e descrição anatômica:

Os exemplares pertencentes aos gêneros Spheniopsis e Grippina foram coletados por meio do "Projeto HABITATS", a partir de amostras do sedimento do fundo marinho obtidas em profundidades que variaram de 21 a 148 metros, utilizando-se Box Corer. O "Projeto Habitats"-Avaliação da Heterogeneidade Ambiental da Bacia de Campos foi realizado por uma empresa petrolífera brasileira, Petrobras, no período de fevereiro/2009 a julho/2009 e foi composto por doze estações para cada um dos nove transectos perpendiculares a linha da costa. Esses transectos foram localizados em áreas específicas da Bacia de Campos, como: Talude e Plataforma Continental, Foz do Rio Paraíba do Sul e os cânions Grussaí e Almirante Câmara, totalizando mais de 100 estações de coleta em faixas batimétricas que variaram de 25 a 3.000 metros de profundidade. Os exemplares analisados no presente trabalho foram coletados em duas regiões: na Foz do Rio Paraíba do Sul (22º 11'S; 40° 32'W) e na Plataforma Continental da Bacia de Campos (21° 59' S; 40° 25' W), ambos localizados entre os Estados do Rio de Janeiro e Espirito Santo, Brasil. Inicialmente, os espécimes foram fixados em formol 40% e posteriormente preservados em álcool 70%. Após exame com o auxílio de estereomicroscópio, foram selecionados os exemplares mais bem preservados com e sem partes moles, para preparações a serem observadas sob a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pela histologia. Quanto à histologia, devido a pequena quantidade de exemplares com parte mole, foram selecionados três espécimes, sendo dois de Grippina sp. n. e um de Spheniopsis sp. n. Ambos foram previamente descalcificados em solução de 100 ml de água destilada contendo 0,877g de NaCl + 1,02 g de ácido ascórbico 1ML, e posteriormente embebidos em Historesina®. Afim de, obter cortes seriados os espécimes foram seccionados seriadamente em espessura de 5µm, utilizando-se um micrótomo Leica RM 2245. Foram analisados 58 indivíduos de *Grippina* sp. n. e 189 de *Spheniopsis* n. sp. e a identificação ao nível de espécie foi confirmada através de comparações com figuras e descrições de outras espécies das faunas Recente e fóssil publicadas na literatura.

Análise Cladística

Com o intuito de discutir o posicionamento filogenético dos spheniopsídeos dentre os Anomalodesmata, o presente trabalho utilizou-se de uma matriz de dados previamente elaborada por HARPER et al. (2000), onde é apresentado um teste cladístico baseado em 17 espécies e composto por 43 caracteres morfológicos (anatômicos e conquiliológicos) que buscou entender as relações filogenéticas existentes entre 14 famílias que compõem a subclasse Anomalodesmata. A partir disso, o presente trabalho repetiu o teste cladístico utilizando-se da mesma matriz, acrescentando agora os dados anatômicos e conquiliológicos observados nas duas novas espécies de Spheniopsidae. Além disso, para a análise de máxima parcimônia (MP) adotamos uma metodologia mais atual, substituindo o programa PAUP versão 4.0 b2 Macintosh, pelos programas NONA/ Winclada (NIXON 2002) e TNT (GOLOBOFF et al. 2008), sendo que os caracteres tiveram o mesmo peso/valor. A estabilidade de cada ramo foi determinada utilizando-se de Bootstrap nãoparamétrico, com 10.000 replicações e com ordem aleatória de adição de caracteres e táxons. As análises de parcimônia foram realizadas usando-se o comando New Technology Search, implementados pelo programa TNT, empregando-se os quatro métodos de buscaratchet, tree-fusing, tree-swapping e sectorial. Os índices de consistência (CI) e de retenção

(RI) foram efetuados no programa NONA/ Winclada. A tabela contendo as espécies analisadas a lista com os 43 caracteres utilizados, assim como, a matriz de dados encontram-se no final desse capítulo (Apêndices 1-3).

Resultados e discussão

Sistemática

Subclasse Anomalodesmata Dall, 1889

Ordem Pholadomyoida Newel, 1965

Superfamília Cuspidarioidea Dall, 1886

Família Spheniopsidae J. Gardner, 1928

Gênero Spheniopsis Sandberger, 1863

A nova espécie foi classificada como pertencente ao gênero *Spheniopsis* Sandberger, 1863 (espécie-tipo *Corbula scalaris* Braun, 1851) baseada na descrição original do gênero e na figura da espécie-tipo dada por WALCHNER (1851). Segundo SANDBERGER (1863) *Spheniopsis* caracteriza-se por apresentar uma concha alongada, com a extremidade posterior pronunciada e truncada. Valva direita com dentes anterior e posterior, sendo o posterior alongado e curto; valva esquerda edêntula. Presença de um ligamento lateralmente alongado. Escultura externa composta por costelas concêntricas finas ou grossas, algumas vezes apresentando raios radiais que definem a inclinação posterior da valva. Seio palial curto e amplo.

Além da descrição original, as discussões propostas por COAN (1990) e COSEL (1995), mostram que as espécies pertencentes ao gênero *Spheniopsis* também podem ser caracterizadas por apresentar uma concha subtrigonal com margem posterior alongada e levemente rostrada, com finas estrias concêntricas na superfície externa. Valva direita com dois dentes, sendo um anterior e outro posterior, diferentes entre si e valva esquerda

edêntula. Ligamento presente com um resilífero entre os dentes da charneira. Seio palial curto e amplo.

Spheniopsis nova espécie (Figs. 1a-b).

Medidas do holótipo Comprimento: 1,85 mm; Altura: 1,5 mm; Largura: 0,8 mm.

Localidade-tipo Plataforma Continental (22° 57' 28''S; 40° 50' 30''W) e Foz do Rio Paraíba do Sul (22° 1' 22''S; 40° 20' 15''W) ambos localizados na Bacia de Campos-RJ/ES, Brasil.



Figura 1. *Spheniopsis* **sp. n. a**. Vista externa da valva esquerda, mostrando o contorno subtrigonal, com a região posterior alongada e levemente rostrada; **b**. MEV da vista externa da valva direita mostrando finas linhas de crescimento. **Escalas a= 1 mm, b= 100µm**.

Diagnose Concha pequena (comprimento máximo = 2,56 mm), com contorno subtrigonal, com a margem posterior alongada e rostrada. Através da MEV é possível observar a presença de poros microscópicos distribuídos aleatoriamente por toda a superfície externa da dissoconcha, e ausentes na protoconcha. Placa da charneira curta e estreita, com dois dentes fortes e divergentes na valva direita, sendo um deles anterior, robusto, com "formato de vírgula" e bem curvado, com sua porção mais ventral terminando em uma lamela subdorsal que se estende até a cicatriz do adutor anterior; e outro posterior, menor que o primeiro e curvado dorsalmente; valva esquerda edêntula. Ausência de lamela subdorsal posterior na valva direita. Ligamento calcificado (litodesma). Brânquias

reduzidas a septos musculares perfurados por quatro pares de poros. Palpos labiais reduzidos a tratos ciliares. Presença de um aparato sifonal, composto por uma bainha muscular e sifões inalante e exalante, ambos circundados por sete tentáculos sensoriais.

Descrição dos aspectos da concha Pequena, fina, delicada e esbranquiçada (medidas L= 2,05 \pm 0,23 mm; H= 1,3 \pm 0,3 mm; W= 0,7 \pm 0,1 mm, n=10). Formato subtrigonal, fortemente inequilateral e levemente inequivalve sendo a valva direita um pouco maior que a esquerda. Concha levemente inflada com contorno caracterizado pela presença de uma margem dorsal posterior reta terminando em um rostro bem pronunciado e arredondado confluente com a região postero-ventral também levemente arredondada (Figs. 2A, 2C, 2E). Margem dorsal anterior apresentando uma leve concavidade inicial tornando-se arredondada na região ântero-ventral. Umbos centrais e baixos, levemente prosógiros com prodissoconcha medindo $173\mu m \pm 16$ (n=10), bem preservada e lisa nos indivíduos adultos (Fig. 2G). Lúnula e escudo presentes (Fig. 2E). Perióstraco deiscente. Linhas de crescimento presentes por toda a superfície externa das valvas. Em MEV a superfície externa da dissoconcha mostra-se inteiramente coberta por poros que não atravessam a concha e que se distribuem aleatoriamente (Fig. 2H). Placa da charneira curta e estreita, com dois dentes fortes e divergentes na valva direita, sendo um deles anterior, robusto, com um "formato de vírgula" e curvado, com sua porção mais ventral terminando em uma lamela subdorsal que se estende até a cicatriz do adutor anterior; e outro posterior, menor que o primeiro e curvado dorsalmente; valva esquerda edêntula (Fig. 2B, 2D). Presenca de ligamentos primário e secundário, sendo o primário (Fig. 2F) calcificado (litodesma) interno e profundo localizado entre os dentes da valva direita e o secundário muito fino e

delicado sendo observado somente através da histologia (Fig. 9D). Superfície interna das valvas esbranquiçada quase translúcida, com margem lisa, sem crenulações. Cicatrizes dos músculos adutores e dos retratores do pé presentes. Seio palial curto e amplo, não ultrapassando a linha do umbo.



Figura 2. Spheniopsis sp. n. em MEV. A. Vista interna da valva direita; B. Charneira da valva

direita mostrando os dentes, anterior (**da**) e posterior (**dp**); **C**. Vista interna da valva esquerda; **D**. Charneira da valva esquerda, edentula; **E**. Vista dorsal, mostrando a lúnula (**lu**), o escudo (**es**) e a prodissoconcha (**pr**); **F**. Litodesma; **G**. Prodissoconcha convexa e lisa; **H**. Interface entre a prodissoconcha (**pr**) lisa e a dissoconcha (**di**) com numerosos poros; **Escalas**. **A**-**E** = 100 μ m, **F**-**H**= 10 μ m.

Observações taxonômicas

Atualmente existem três espécies de *Spheniopsis* pertencentes à fauna Recente, duas delas registradas para o Oceano Atlântico, *Spheniopsis triquetra* (Verril & Bush, 1898) e *Spheniopsis senegalensis* Cosel, 1995, e uma delas para o Oceano Pacífico, *Spheniopsis frankbernardi* Coan, 1990. O gênero em questão tem sua origem através da descrição da espécie-tipo fóssil, *Spheniopsis scalaris*, além disso, o gênero possui mais espécies fósseis (5 spp) do que da fauna Recente (3 spp). Para tal, *Spheniopsis* sp. n. foi inicialmente comparada com todas as espécies fósseis, *S. scalaris* (Braun, 1851), *S. curvata* Koenen, 1894, *S. mississippiensis* (Meyer, 1887), *S. daimeriesi* E. Vicent, 1923 e *S. americana* Dall, 1803 através das descrições originais, fotos e das discussões sobre os aspectos conquiliológicos disponíveis na literatura. Contudo *Spheniopsis* sp. n. mostrou ser muito diferente das espécies fósseis, pricipalmente em relação ao contorno da concha e a escultura externa. No entanto, quando comparada às espécies da fauna Recente, algumas semelhanças foram observadas.

Comparada à nova espécie, *S. frankbernardi*, por exemplo, possui uma concha mais inflada, com uma prodissoconcha menor e uma charneira mais robusta com os dentes da valva direita mais próximos entre si, terminando em lamelas subdorsais posterior e anterior, sendo a posterior inexistente em *Spheniopsis* sp. n.

Entre *Spheniopsis* sp. n. e *S. senegalensis*, considerada endêmica para a República do Senegal (oeste africano) por COSEL (1995), as principais diferenças observadas foram

quanto as dimensões da concha, refletindo diretamente no contorno das valvas e quanto a escultura externa. *Spheniopsis senegalensis* apresenta um comprimento maior (2,9mm) quando comparada a nova espécie (1,85mm), essa diferença considerável entre suas dimensões se reflete diretamente em uma região posterior maior e mais pronunciada na espécie africana. A superfície externa da concha de *S. senegalensis* é caracterizada por apresentar uma escultura concêntrica em forma de ondas, sendo fracas e bastante estreitas desaparecendo ao longo da região posterior. Para a nova espécie essas mesmas ondas concêntricas, descritas no presente estudo, como linhas de crescimento concêntricas, são observadas ao longo de toda superfície externa da concha, além disso, é característico de *Spheniopsis* sp. n. a presença de microesculturas caracterizadas por centenas de poros, sendo estes ausentes em *S. senegalensis*.

Já entre *S. triquetra* Verril & Bush, 1898 e a nova espécie, foram notadas diferenças quanto à dentição da charneira e quanto à presença de lamelas subdorsais, ou "margens da charneira", como chamado originalmente pelos autores. *Spheniopsis triquetra* possui o dente anterior da valva direita mais robusto e mais curvado do que em *Spheniopsis* sp. n., além de possuir lamelas subdorsais, anterior e posterior, sendo a posterior ausente na nova espécie.

Contudo, além das três espécies previamente mencionadas, pertencentes à Fauna Recente, ainda existem mais quatro espécies de *Spheniopsis* ainda não descritas formalmente, registradas para Flórida e Bahamas. Essas espécies foram ao que tudo indica, confundidas como pertencentes ao gênero *Grippina* por MIKKELSEN & BIELER (2008), quando comparavam espécies de Spheniopsidae encontradas na Florida Keys, com espécies registradas para Abaco-Bahamas por REDFERN (2001).

59

Sistemática

Subclasse Anomalodesmata Dall, 1889 Ordem Pholadomyoida Newel, 1965 Superfamília Cuspidarioidea Dall, 1886 Família Spheniopsidae J. Gardner, 1928 Gênero *Grippina* Dall, 1912

Essa espécie é classificada como pertencente ao gênero Grippina Dall, 1912 (espécie-tipo Grippina californica Dall, 1912) baseado na descrição original do gênero e na figura da espécie-tipo (ver COAN 1990 fig 7-10 ou COAN et al. 2000 pg.482 prancha103). De acordo com DALL (1912), Grippina é caracterizada por ser semelhante a Spheniopsis, mas por possuir a extremidade posterior amplamente truncada e não pronunciada. Declive posterior definido por duas costelas radiais baixas. Presença de dentes laterais curtos na valva direita, anterior e posterior; valva esquerda sem dentes. Escultura com costelas concêntricas, finas ou grossas; ou lisa. Seio palial curto, e amplo. Além disso, discussões elaboradas por COAN (1990) e MARSHALL (2002) acrescentam características importantes à descrição original do genero, mostrando que as espécies de Grippina também podem ser caracterizadas por possuir uma concha com formato oval-trigonal, com margem posterior curta, truncada, e sem a presença de costelas radiais. Externamente podem ou não possuir microesculturas. Presença de um ligamento profundo e calcificado (litodesma). Valva direita com dois dentes curtos, sendo um anterior e outro posterior semelhantes entre si; valva esquerda edêntula. Seio palial curto e amplo.

Grippina nova espécie (Figs. 3a-b).

Medidas do holótipo Comprimento: 1,5 mm; Altura: 1,35 mm; Largura: 0,8 mm.

Localidade-tipo Plataforma Continental (21° 44' 18''S; 40° 17' 14''W) e Foz do Rio Paraíba do Sul (21° 17' 51''S; 40° 3' 59''W) ambos localizados na Bacia de Campos-RJ/ES, Brasil.



Figura 3. *Grippina* **sp. n. a.** Vista externa da valva esquerda, mostrando o contorno oval trigonal, com a margem posterior curta e truncada; **b.** MEV da valva esquerda, superfície externa lisa. **Escalas a= 1 mm, b= 100μm.**

Diagnose Concha pequena (comprimento máximo=1,76 mm), apresentando um contorno elíptico-oval com margem posterior curta e truncada. Prodissoconcha grande, pronunciada e bem preservada apresentando duas elevações centrais bem evidentes. Através da MEV foi possível observar a presença de poros microscópicos por toda a superfície das valvas, distribuídos de maneira aleatória e ausentes na prodissoconcha. Charneira curta com dois dentes semelhantes entre si na valva direita; valva esquerda edêntula. Ligamento interno, profundo e calcificado (litodesma). Pé muscular ciliado com um sulco ventral raso. Palpos labiais, anterior e posterior, reduzidos a tratos ciliares. Branquias modificadas em septos musculares. Septos perfurados por quatro pares de poros e rodeados por cílios.

Descrição dos aspectos da concha Pequena (medidas L= $1,61 \pm 0,2$ mm; H= $1,1 \pm$

0,4 mm; W= 0,65 \pm 0,2 mm, n=10), com formato elíptico-oval, levemente inequilateral, equivalve e levemente inflada; valvas finas, delicadas e esbranquiçadas. Contorno elípticooval caracterizado por apresentar uma margem dorsal posterior descendente, levemente côncava na proximidade com o umbo, tornando-se mais retilínea à medida que se aproxima do truncamento. Truncamento amplo localizado na região postero-ventral; margem dorsal anterior levemente arredondada confluente com a margem ventral também arredondada (Figs, 4A, 4C). Umbos proeminentes levemente deslocados para a região posterior, prosógiros. Prodissoconcha grande ($254\mu m \pm 14 n=7$) quando comparada a *Spheniopsis* sp. n., pronunciada e bem preservada apresentando duas elevações centrais bem evidentes, fazendo com que a concha larval se assemelhe a uma coroa (Figs. 4B, 4G). Lúnula e escudo presentes (Fig. 4E). Perióstraco deiscente, superfície das valvas lisas sem linhas de crescimento aparentes. Superfície externa semelhante à de Spheniopsis sp. n. com presença de poros microscópicos por toda dissoconcha exceto na prodissoconcha (Fig. 4F). Placa da charneira pequena, curta e simples. Valva direita com dois dentes, um posterior e outro anterior, bem espaçados e semelhantes entre si em tamanho e formato, sendo o posterior um pouco mais robusto que o anterior (Fig. 4B); valva esquerda edêntula (Fig. 4D). Ligamento interno, profundo e calcificado (litodesma) localizado entre os dentes da valva direita (Fig. 4H). Superfície interna da concha esbranquiçada, lisa e praticamente translúcida, com margem lisa. Cicatrizes dos músculos adutores presentes, sendo a do posterior levemente arredondada e do anterior mais alongada. Linha palial presente, sendo mais curta e menos ampla quando comparada a Spheniopsis n. sp.



Figura 4: *Grippina* sp. n. em MEV. A. Vista interna da valva direita; B. Charneira da valva direita; C. Vista interna da valva esquerda; D. Charneira da valva esquerda, edêntula; E. Vista dorsal

mostrando a lúnula (lu), o escudo (es) e a prodissoconcha (pr); F. Interface entre a prodissoconcha (pr) lisa e a dissoconcha (di) com numerosos poros; G. Prodissoconcha com duas elevações centrais; H. Valva direita com o ligamento (litodesma) (li) entre os dentes da valva direita. Escalas. A-E= 100μm, F-H= 10μm.

Observações taxonômicas

Atualmente existem oito espécies formalmente descritas para o gênero Grippina, todas elas pertencentes à fauna Recente, sendo sete delas registradas para a Nova Zelândia e uma para a Califórnia (Tabela 1). Dentre as espécies conhecidas, Grippina globosa Marshall, 2002, registrada para Nova Zelândia é a que mais se assemelha a nova espécie, devido ao formato de sua concha. Segundo MARSHALL (2002) além do formato ovaltrigonal de sua concha, G. globosa é caracterizada por ser muito menor (comprimento máximo de 1,43mm) do que as demais espécies de *Grippina* já descritas, por apresentar uma espessura moderada e ser fortemente inflada; externamente apresenta finas linhas de crescimento comarginais, e pequenas covas (poros) no início da dissoconcha; sua prodissoconcha é relativamente grande (400µm de comprimento), lisa e amplamente convexa; além de, possuir uma saliência bem característica em frente ao dente posterior da valva direita, chamado pelo autor de "boss". Em comparação a espécie neozelandesa, Grippina sp. n. é relativamente maior em comprimento (comprimento máximo 1,76mm) e também mais alta. Possui uma prodissoconcha menor ($254\pm14 \mu m$ (n=7)), com uma escultura bem característica formada por duas elevações centrais bem evidentes, sendo mais larga e mais pronunciada que G. globosa. Além disso, possui a placa da charneira mais curta com os dentes da valva direita mais próximos entre si e não apresenta nenhum tipo de saliência (boss) em frente ao dente posterior.
Descrição anatômica de Spheniopsis sp. n. e Grippina sp. n.

Spheniopsis sp. n. e *Grippina* sp. n. são muito semelhantes entre si quanto aos seus aspectos anatômicos e, por isso, a estrutura dos órgãos que compõem o complexo palial e a massa visceral são aqui descritos em conjunto, comparativamente.

Em ambas as espécies o manto é fino, transparente e formado por três pregas, a interna, a mediana e a externa. A margem do manto é fundida somente através da prega interna, caracterizando-as como sendo do Tipo A (ver YONGE 1982) (Fig. 6D, 7A). Presença de uma única e ampla fusão, separando as aberturas, pediosa e sifonal. Ao longo da porção ventral da margem do manto foram observados tratos ciliares que possivelmente atuam como tratos de rejeição. Durante a histologia não foram observadas glândulas arenofílicas nas margens do manto. Presença de sifões inalante e exalante, altamente modificados.

Devido as dificuldades no momento da dissecção desses microbivalves, não conseguimos obter resultados precisos a cerca da anatomia dos sifões de *Grippina* sp. n. então apenas as informações sobre os sifões da nova espécie de *Spheniopsis* serão apresentados. No entanto, observações feitas através de estereomicroscópio mostam que os sifões de *Grippina* sp. n. são muito semelhantes aos de *Spheniopsis* sp. n.

Diferentemente da maioria dos bivalves, *Spheniopsis* sp. n. apresenta sifões bem modificados, muito semelhantes ao de algumas espécies de bivalves carnívoros. O aparato sifonal da nova espécie é formado por dois sifões posteriores, inalante e exalante, separados entre si na maior parte de sua extenção e localizados dentro de uma extensão posterior do manto, chamada de bainha sifonal. Os sifões são formados pela fusão da prega interna do manto, sendo caracterizado como Tipo A (ver YONGE 1982), enquanto a bainha é formada

pela fusão das pregas externa e mediana. Esse aparato sifonal apresenta sete tentáculos em sua base, sendo quatro ventrais ao redor do sifão inalante (Figs, 5E, 9A) e três dorsais em volta do exalante (Figs. 5E, 9B). Por meio da MEV foi possível observar alguns cílios saindo através das aberturas desses tentáculos (Fig. 5F). Os músculos retratores dos sifões, também estão presentes e são bem reduzidos, partindo dos sifões e se inserindo na concha onde formam um seio palial raso e curto.

As novas espécies não possuem brânquias filamentares, ao invés disso, possuem um septo muscular horizontal que divide a cavidade palial em duas câmaras, uma infraseptal (anterior) e outra supraseptal (posterior) (Figs. 5A, 6A, 8F). Esse septo aparentemente parece estar flutuando dentro do bivalve, no entanto, a histologia nos mostrou que ele está fixo, através de um par de músculos retratores, bem desenvolvidos conhecidos na literatura como músculos septais, anterior e posterior (Figs. 7B, 8G). Esses músculos estão fixos à concha, próximos e dorsais ao seu respectivo músculo adutor. Nas novas espécies esses septos musculares são caracterizados por serem perfurados ventralmente por dois pares de poros igualmente espacados, sendo dois no septo direito e outros dois no esquerdo (Figs. 5C, 6A). Além disso, uma grande quantidade de cílios pode ser observada na superfície dos septos ao redor desses poros (Figs. 6B-C). Esses cílios localizam-se lateralmente aos poros, conectando-os uns aos outros através de um trajeto ciliar bem definido que segue em direção à boca. O aparato bucal das novas espécies é constituído basicamente por uma boca ventral e anterior bem desenvolvida (Figs. 5D, 6A, 6E, 7C), Spheniopsis sp. n., $L = 190 \mu m$, W = 90 μ m, Grippina sp. n., L= 131 μ m, W= 80 μ m, apresentando dois pares de palpos labiais, anterior e posterior, bem reduzidos assemelhando-se em alguns casos a tratos cilares (Figs. 5D, 6E, 7C). A boca estreita-se dorsalmente, terminando no esôfago. Externamente, o esôfago aparece circundado por muitos feixes de musculatura circular e

longitudinal sendo que internamente é revestido por um epitélio, caracterizado por apresentar muitas dobras em forma de "dedos de luva", possuindo glândulas em seu interior (Figs. 7D, 9E). O esôfago por sua vez curva-se posteriormente entre os músculos retratores do septo, dando origem ao estômago.



Figura 5: Detalhes da anatomia de *Spheniopsis* sp. n. em MEV. A-. Vista panorâmica da região ventral, após a remoção da margem do manto, mostrando o septo muscular (sm), aparato sifonal (as), boca (bo) e pé (p); B. Ampliação do pé, mostrando os cílios (ci) e o sulco pedioso (sp); C.

Septo muscular perfurado por quatro poros (**ps**); **D.** Boca (**bo**), palpos labiais posteriores (**pp**), palpos anteriores (**pa**) e o pé; **E**. Ampliação do aparato sifonal, bem contraído, mostrando os sifões inalante (**si**), exalante (**se**) e os sete tentáculos (**t**) que os circundam na base; **F**. Tentáculo com cílios (**ci**) em sua abertura. **Escalas**. **A**, **C**, **D=100µm; B**, **E**, **F=10µm**.



Figura 6: Detalhes da anatomia de *Grippina* sp. n. em MEV. A. Vista panorâmica da região ventral, após a remoção da margem do manto, mostrando a abertura sifonal (as), septo muscular (sm), os quatro poros septais (ps) e a boca (bo); B. Ampliação da porção ventral, mostrando o pé (p) e seus cílios (ci), além de um poro septal (ps); C. Detalhe dos cílios superficiais ao redor dos poros septais; D. Margem do manto mostrando a prega interna (pi) fundida e a prega mediana (pm); E. Ampliação da boca, mostrando os palpos labiais posteriores (pp) bem reduzidos

localizados ventralmente a boca (bo), o septo muscular (sm) e o pé (p). Escalas. A=100μm, B, C, D, E=10μm.

O estômago dessas espécies é aparentemente bem simples, lembrando um grande saco oval que se localiza postero-ventralmente no interior da massa visceral. A porção anterior do estômago é recoberta por divertículo digestivo, enquanto a porção posterior é recoberta por gônada (Figs. 7E, 8B). Internamente o estômago é revestido por uma espessa camada, corada de azul claro, representando o escudo gástrico (Fig. 7E). Revestindo esse escudo gástrico é possível notar uma fina camada, corada de púrpura, o epitélio estomacal (Fig. 7E). Em comparação ao esôfago, o estômago apresenta ao seu redor uma fina camada muscular, caracterizada por feixes de musculatura circular. Em sua porção ântero-ventral aparece o saco do estilete e o estilete cristalino bem reduzido juntamente com a porção intermediária do intestino, ambos conectando-se ao assoalho estomacal (Figs. 7E-F). Dentro do estômago foram encontrados pequenos invertebrados ainda íntegros, em processo de digestão (Figs. 7E-H).



Figura 7: Detalhes da histologia de *Spheniopsis* **sp. n. e** *Grippina* **sp. n. A-** Margem do manto de *Spheniopsis* n. sp. mostrando a fusão da prega interna (**pi**), as pregas mediana (**pm**) e externa (**po**), perióstraco (**per**) e tratos ciliares (**tc**); **B-** Corte transversal, esôfago (**eso**), músculos retratores anteriores do pé (**mra**), músculos septais anteriores (**msa**), pé (**p**) e sulco pedioso (**sp**); **C-** Corte sagital de *Grippina* n. sp., com os palpos labiais posteriores (**pp**), a boca (**bo**), o esôfago (**eso**) e o estômago (**es**); **D-** Esôfago (**eso**) circundado por musculatura circular (**mc**); **E-** Corte transversal do estômago de *Spheniopsis* n. sp, mostrando o divertículo digestivo (**dd**), escudo gástrico (**eg**), epitélio estomacal (**ee**), uma presa (**pr**) em seu interior, saco do estilete (**sc**), estilete cristalino (**ec**) e, alguns óvulos (**ov**); **F-** Corte sagital do estômago de *Grippina* n. sp. mostrando duas presas (**pr**) em seu interior, além do saco do estilete (**sc**); **G-** Presa (**pr**) no interior do estômago; **H-** Detalhe de uma presa (**pr**), identificada como um Kinorhyncha. **Escalas. A, B, C, F, G, H =50µm; D=20µm; E=100µm**.

Em MEV, o pé das novas espécies aparece muito contraído devido à fixação, no entanto, pode ser caracterizado como sendo curto, levemente arredondado, externamente ciliado com presença de um sulco ventral, curto e estreito (Figs. 5B, 6B). Quanto à musculatura apresentam dois pares de retratores bem desenvolvidos, um deles anteriore e curto, passando ventralmente à massa visceral e se fixando na concha próximo ao músculo adutor anterior (Fig. 7B) e o outro posterior, mais robusto que o primeiro, fixando-se

próximo ao adutor posterior (Fig. 8G). Em seu interior foi possível observar ainda dois tipos de glândulas, uma anterior e outra posterior, possivelmente ligadas à produção de muco (Figs. 8A, 8E). Não foram observados fios de bisso em nenhum dos indivíduos analisados.

A descrição do sistema reprodutivo das novas espécies apresentada nesse capítulo, foi feita de maneira simplificada, baseada em apenas três indivíduos, que foram submetidos a cortes seriados, tanto transversais quanto sagitais. Mesmo assim pode-se perceber que todos os indivíduos analisados possuíam apenas gônadas femininas, o que poderia excluir a possibilidade de serem hermafroditas. Portanto o presente estudo parte do pressuposto de que as novas espécies são dióicas ou gonocóricas. A gônada feminina (ovário) observada em ambas às espécies está localizada na região postero-ventral da massa visceral, ao redor do estomago. Essa gônada é composta por grandes lobos (como bolhas) que são externamente recobertos por uma camada tecidual fina, formada por células achatadas ou pavimentosas (Fig. 8B). No interior dos lobos é possível observar alguns tipos celulares característicos da oogênese, como oogônias e grandes ovócitos, medindo de 75µm a 100µm de comprimento (Figs. 8B, 9G). O número de ovócitos dentro dos lobos varia de acordo com o tamanho do lobo e com o indivíduo analisado, no entanto, para todos os espécimes analisados cada lobo possuía em média dez ovócitos. Além disso, não foram observados ductos ou ovidutos conectando a gônada à câmara supraseptal. Também é importante notar que em nenhum momento foram encontrados embriões ou juvenis sendo incubados nas câmaras supra ou infraseptais (Fig. 8F).



Figura 8: Detalhes da histologia das duas novas espécies. A- Corte transversal em *Spheniopsis* sp. n. passando pela porção posterior do pé, mostrando a glândula posterior (**gp1**), o sulco pedioso (**sp**) e cílios (**ci**); **B-** Corte transversal de *Spheniopsis* sp. n., destaque para gônada feminina, formada por grandes lobos (**L**) preenchidos por células gaméticas, óvulos (**ov**) e oogônias (**oo**); **C-** Corte transversal de *Spheniopsis* sp. n. mostrando a porção mais posterior do pé com presença de estatocistos (**est**) e gânglio pedioso (**gp**); **D-** Músculo adutor anterior (**maa**), e os gânglios cerebropleurais (**gcp**) circundando o funil bucal (**fb**); **E-** Corte transversal da porção mais anterior do pé, mostrando dois tipos de glândulas (**ga1**) e (**ga2**); **F-** Secção sagital de *Grippina* sp. n., mostrando gônadas (**go**), estômago (**es**), boca (**bo**), esôfago (**eso**), câmaras supra (**css**) e infraseptal (**cis**), pé (**p**) e um dos quatro poros septais (**ps**); **G-** Corte transversal de *Spheniopsis* n. sp. destaque para os feixes de músculos septais posteriores (**msp**), retratores posteriores do pé (**mrp**) e adutor posterior (**map**), porção posterior do intestino (**ppi**), passando pela cavidade pericárdica (**cp**), gânglio visceral (**gv**) e sifão exalante (**se**); **H-** Corte transversal em *Grippina* sp. n. mostrando

principalmente o seio (s) passando por dentro da musculatura septal anterior (msa), além do esôfago (eso) e do pé (p). Escalas. A, C= 20µm B= 100µm D, F= 200µm G, H = 50µm; E= 100µm

O sistema nervoso encontrado nas novas espécies é típico ao da maioria dos bivalves, sendo formado por três pares de gânglios: o cerebropleural (cincunesofágico), o pedioso e o visceral. Os gânglios cerebropleurais são alongados e conectados por comissuras que circundam o funil bucal na porção anterior do bivalve (Fig. 8D). Os ganglios viscerais estão situados abaixo e ligeiramente na frente do adutor posterior, relativamente próximo do ânus e da bainha dos sifões (Figs. 8G, 9B). Já os gânglios pediosos localizam-se na porção mais posterior do pé, apresentando um par de estatocistos que não se fundem ao gânglio. Os estatocistos foram observados apenas em *Spheniopsis* sp. n., situados dorsalmente ao gânglio pedioso e caracterizados basicamente por serem formados por um conjunto de quatro a cinco células e um único estatólito. Essas células são caracterizadas por serem compridas, apresentando pouco citoplasma e núcleos muito pequenos. Em geral, o citoplasma aparece colabado à parede do estatocisto e as células ocupam praticamente todo o espaço disponível, mantendo o estatólito imóvel no centro (Figs. 8C, 9F).

A histologia também nos mostrou um sistema bem complexo de seios (cavidades), que inicialmente foram observados passando por dentro dos septos musculares (Fig. 8H) e posteriormente ramificando-se através da massa visceral, circundando o estômago e a gônada.



Figura 9: Detalhes da histologia das duas novas espécies. A- Corte transversal do sifão inalante (si) de *Spheniopsis* sp. n. mostrando os seus quatro tentáculos (t) ventrais; B- Corte transversal da região postero-dorsal de *Spheniopsis* n. sp. mostrando o gânglio visceral (gv), além do sifão exalante (se) e os seus três tentáculos (t) dorsais; C- Detalhe do poro septal (ps) de *Grippina* sp. n.; D- Detalhe para os ligamentos primário (Lp) e secundário (Ls) de *Spheniopsis* n. sp.; E- Esôfago (eso) e o seu epitélio interno, com glândulas esofágicas (ge); F- Ampliação do estatocisto (est) de *Spheniopsis* sp. n. e do gânglio pedioso (gp); G- Ampliação do óvulo das novas espécies, mostrando a camada referente a reserva nutritiva (rn), o núcleo (nu) e o nucléolo (n); Escalas. A, E= 50μm; B, C, D, F, G= 20μm.

Observações anatômicas

Como mencionado anteriormente algumas informações sobre a anatomia dos Spheniopsidae já existiam devido a observações feitas a partir de partes moles secas da espécie *Grippina californica*. Baseado nesse material, COAN *et al.* (2000) afirma que a família Spheniopsidae é caracterizada por ter a margem do manto fundida formando uma pequena abertura pediosa, dois sifões curtos e fundidos e por incubar sua prole na cavidade do manto. De fato as novas espécies possuem uma fusão da margem do manto que forma uma pequena abertura pediosa, entretanto, os sifões não são fundidos. Além disso, nenhum dos espécimes analisados apresentou juvenis e/ou embriões incubados na parte supraseptal da cavidade do manto. Durante as primeiras observações feitas através do estereomicroscópio, foi possível observar na região dorsal dos indivíduos, células alaranjadas e\ou esbranquiçadas de formato esférico (Figs. 10A-B), semelhantes a embriões incubados. Entretanto, a histologia mostrou que se tratava de células gaméticas (ovócitos), localizadas no interior da massa visceral.



Figura 10: Indivíduos após a descalcificação completa, mostrando por transparência, ovócitos (**ov**) em sua massa visceral. **A-** Indivíduo de *Spheniopsis* sp. n.; **B-** Indivíduo de *Grippina* sp. n., **Escalas A, B= 1 mm.**

Contudo, o hábito incubador, geralmente associado a espécies com desenvolvimento direto, não foi constatado para as novas espécies, corroborando em parte o que havia sido inferido pelas medidas da prodissoconcha de alguns espécimes, correspondendo a de bivalves com desenvolvimento não-planctotrófico (ver OCKELMANN 1965).

Sobre a margem do manto também é importante ressaltar que não foram observadas glândulas arenofílicas. Essas glândulas estão presentes em muitas espécies de Anomalodesmata, e atuam na produção de secreções mucóides que fazem com que grãos de

areia e outros materiais se fixem na superfície do perióstraco desses bivalves (SARTORI *et al.* 2006). De acordo com PREZANT (1985) essa cobertura externa de areia, pelo menos em alguns membros de Lyonsiidae, poderia fortalecer suas conchas muito finas, conferir estabilidade no substrato e até mesmo fornecer uma camuflagem contra predadores.

Quanto ao sistema digestivo das duas novas espécies, características como a presença de presas no interior do estômago, escudo gástrico e um saco do estilete reduzido, classificam o estômago dessas espécies como sendo do Tipo II (ver PURCHON 1956), além de, nos prover evidências diretas de um hábito alimentar do tipo carnívoro.

As observações sobre o estômago somadas à presença de um sistema de seios e brânquias reduzidas a septos musculares indicam que provavelmente os Spheniopsidae são carnívoros e que consequentemente pertencem ao clado dos Septibranchia. Segundo ALLEN & MORGAN (1981) e PURCHON (1956, 1987) todos os septibranchiados são carnívoros, possuindo estômago Tipo II, brânquias reduzidas a septos musculares e um sistema de seios que se abrem no coração e se estendem ao longo das gônadas e rins passando através dos septos e sifões. Atualmente o clado dos Septibranchia inclui três superfamílias: Cuspidarioidea Dall, 1886, Poromyoidea Dall, 1886 e Verticordioidea Stoliczka, 1870 (BIELER *et al.* 2010).

Conjuntamente a alguns aspectos da concha, as observações anatômicas revelaram uma grande similaridade entre as novas espécies e alguns membros da superfamília Cuspidarioidea. Por exemplo, a presença de septos musculares perfurados por quatro pares de poros e a presença de sete tentáculos localizados na base dos sifões. De acordo com PURCHON (1968) e ALLEN & MORGAN (1981) a maioria das espécies do gênero *Cuspidaria* (Cuspidarioidea-Cuspidariidae) possuem de quatro a cinco pares de poros septais, que exercem a função de regular a entrada de água em uma única direção, da câmara infra para supraseptal. Os autores dizem ainda que todas as espécies de *Cuspidaria* analisadas possuem sete tentáculos, sendo quatro ventrais ao redor do inalante e três dorsais na base do exalante, configuração idêntica a observada em *Spheniopsis* sp. n. Segundo ALLEN & TURNER (1974), esses tentáculos tem a função de percepção sensorial, auxiliando indiretamente na captura das presas. Aparentemente esses tentáculos conseguem perceber as vibrações na água causadas pelo deslocamento das presas (REID & CROSBY 1980).

Mesmo não tendo sido observados vivos, a presença do aparato sifonal nos permite inferir que as duas novas espécies possuem um mecanismo de captura de presas semelhante ao de outros Septibranchia, principalmente ao de alguns membros de Cuspidariidae. Segundo REID & REID (1974) e ALLEN & MORGAN (1981), os Cuspidariidae são predadores sedentários que permanecem imóveis, esperando por suas presas, que posteriormente são capturadas pelo sifão inalante. Todas as espécies de bivalves carnívoros capturam suas presas através do sifão inalante (MORTON 1987). De acordo com REID & REID (1974) o sifão inalante pode ser modificado, como em Poromya granulata (Poromyidae) e Lyonsiella formosa (Verticordiidae) possuindo um formato de gancho, ou não-modificado capturando suas presas por meio de sucção, como em Cuspidaria rostrata ou Cuspidaria cuspidata (Cuspidariidae). Ainda segundo o autor, esse mecanismo de sucção só é possível, devido à contração do septo muscular que cria uma pressão negativa na câmara infraseptal produzindo uma corrente inalante que suga a presa. A partir disso, é possível afirmar que as novas espécies de Spheniopsidae também podem ser consideradas predadores sedentários, sugando suas presas através do sifão inalante.

Quanto ao tipo das presas capturadas pelos Septibranchia, destacam-se em geral pequenos invertebrados, membros dos Crustacea, Foraminifera, Ostracoda e Anellida (MORTON, 1987). Para *Spheniopsis* sp. n. e *Grippina* sp. n. foram encontrados no interior do estômago presas que se assemelham a espécies de Kinorhrinca e Ostracoda.

Outras duas características anatômicas que relacionam os Spheniopsidae aos Cuspidariidae são os palpos labiais e os estatocistos. Nas duas novas espécies, por exemplo, a presença de palpos labiais pequenos e/ou reduzidos a tratos ciliares, também foi observada nas espécies *Cuspidaria cuspidata* e *Cuspidaria obesa* (Cuspidariidae) (YONGE 1928). Já quanto aos estatocistos, a histologia de *Spheniopsis* sp. n. nos mostrou que eles são formados por quatro a cinco células com pouco citoplasma e um único estatólito central (Fig. 9F). Segundo MORTON (1985), esses aspectos são característicos de estatocistos do Tipo C, conhecidos até então somente para espécies pertencentes à família Cuspidariidae.

Análise cladística

Na análise de parcimônia foram obtidas oito árvores diferentes entre si, mas igualmente parcimoniosas apresentando um comprimento de 124, com um índice de consistência (IC) de 48 e um índice de retenção (IR) de 58 (Fig. 11). A partir delas foi extraída a árvore de consenso estrito, que apresenta um comprimento de 155, um índice de consistência (IC) de 38 e um índice de retenção (IR) de 38 (Fig. 12). As porcentagens dos valores de suporte de bootstrap mostrados na árvore consenso foram apenas os superiores a 50%.

Comparada a árvore de evidência total (Fig. 13) encontrada por HARPER *et al.* (2000) a árvore consenso apresentou diferenças significativas. A mais importante delas foi o efeito de politomia, que gerou um aspecto de "pente" na árvore, causando incertezas sobre as relações de parentesco entre a maioria dos ramos. Além disso, os baixos valores de

bootstrap demostram uma inconsistência na manutenção dos ramos, com ausência de monofilia em todos os casos.



Figura 11: Árvores igualmente parcimoniosas (**a-h**) obtidas no presente teste cladístico. Círculos verdes indicam o grupo de interesse (Spheniopsidae + Cuspidariidae).

Os baixos valores de bootstrap e/ou a politomia observada na árvore consenso podem ser explicados por algumas incertezas quanto a alguns dos caracteres utilizados. Em nosso teste, dentre os 43 caracteres morfológicos, três deles não foram possíveis de serem observados é o caso do 1° *Microescultura da concha*, do 36° *Reto* e do 40° *Aparatos gonadais* que foram incluídos na matriz como "miss data", representados com um símbolo de interrogação (?). Além disso, o caráter 28° *Tipo do palpo*, gerou dúvidas quanto ao seu real estado. No caso desse caráter, em particular, os estados propostos pelos autores foram: (0) tipo normal de bivalves; (1) em forma de funil (2) curto, sem cílios. No entanto, para os Spheniopsidae, mesmo considerando o estado de contração dos espécimes estudados, um possível quarto estado de caracter foi observado, pequenos e/ou reduzidos a tratos ciliares, sendo incluído na matriz de dados com o código (3).

Mesmo com algumas incertezas o objetivo principal do teste cladístico foi atingido já que foi possível demonstrar ou pelo menos inferir o real posicionamento da família Spheniopsidae dentre os Anomalodesmata. Confirmando o que as similaridades anatômicas entre Spheniopsidae e Cuspidariidae já mostravam, a análise cladística corroborou as inferências feitas por MARSHALL (2002), onde o autor dizia que a família Spheniopsidae estava mais relacionada com os Cuspidarioidea do que com os Thracioidea, além disso, mostrou também que os Spheniopsidae são de fato um grupo irmão de Cuspidariidae.

Apesar da politomia da árvore consenso, observamos que os táxons que apresentavam maiores valores de bootstrap na árvore de evidência total se mantiveram, demonstrando a robustez de suas similaridades morfológicas. É o caso de (Laternulidae + Periplomatidae + Thraciidae), dos construtores de tubo (*Brechites + Clavagella*), de (*Myadora + Myochama*) e de alguns Septibranchia como (Lyonsiellidae + Verticordiidae). Além disso, os Poromyidae antes grupo-irmão dos Cuspidariidae, continuam relacionados a estes, mas agora como grupo irmão do clado Spheniopsidae + Cuspidariidae.



Figura 12: Árvore que representa o consenso estrito do presente teste, extraída dentre as oito árvores produzidas na análise de máxima parcimônia. Apenas os valores de bootstrap maiores de 50% são apresentados. O círculo verde indica o grupo de interesse.



Figura 13: Árvore de evidência total retirada de HARPER *et al.* (2000). Trata-se da única e mais parcimoniosa árvore produzida a partir das análises dos dados. Apenas os valores de Bootstrap maiores de 50% foram apresentados.

Conclusões

Até agora a família Spheniopsidae só havia sido registrada para águas do Pacífico e do Atlântico Norte, entretanto, o registro de novas espécies para o litoral brasileiro vem ampliar a distribuição dessa família para águas rasas e tropicais do Atlântico Sul, mais especificamente para a Bacia de Campos, localizada entre os Estados do Rio de Janeiro e Espirito Santo, ambos no sudeste do Brasil. O presente estudo acrescenta informações importantes sobre alguns caracteres conquiliológicos e descreve pela primeira vez na ciência os aspectos anatômicos dessa família. O conhecimento inédito sobre a anatomia dessa família permitiu não somente entender um pouco da biologia, como também discutir o posicionamento filogenético dos Spheniopsidae dentre os Anomalodesmata.

Mesmo não tendo sido observados vivos, os resultados obtidos a cerca das partes moles de *Spheniopsis* sp. n. e *Grippina* sp. n. sugerem que provavelmente essa família seja composta por espécies de microbivalves predadores e sedentários, que vivem enterrados superficialmente no sedimento, com a região posterior da concha voltada para a coluna d'água onde posicionam o seu aparato sifonal para a captura de suas presas.

Quanto ao posicionamento filogenético, os Spheniopsidae pertencem ao clado dos Septibranchia onde estão mais especificamente relacionados com a superfamília Cuspidarioidea. Nessa superfamília formam um grupo-irmão com os Cuspidariidae, conclusão essa reforçada pelas similaridades anatômicas observadas entre as novas espécies e alguns membros do gênero *Cuspidaria*.

Referências

- ALLEN, J. A; TURNER, J. F. 1974. On the functional morphology of the family Verticordiidae (Bivalvia) with descriptions of new species from the abyssal Atlantic. <u>Philosophical Transactions of the Royal Society of London</u>, Series B, <u>268</u>: 401-520.
- ALLEN, J. A; MORGAN, R. E. 1981. The Functional Morphology of Atlantic Deep Water Species of the Families Cuspidariidae and Poromyidae (Bivalvia): An Analysis of the Evolution of the Septibranch Condition. <u>Philosophical Transactions of the Royal Society of London</u>. Series B, Biological Sciences, <u>294</u>: 413-546.
- BOSS, K. J. 1982. Mollusca. In: PARKER, S. P. (ed.) <u>Synopsis and Classification of Living</u> Organisms. Vol. 1. pg 945-1166. McGraw-Hill, New York.
- BIELER, R.; CARTER, J. G. & COAN, E. V. 2010. Part. 2. Classification of Bivalves Families. <u>Malacologia 52(2)</u>: 113-184.
- COAN, E. V. 1990. The Eastern Pacific Species of the Bivalve Family Spheniopsidae. The <u>Veliger</u> <u>33(4)</u>: 394-401.
- COAN, E. V.; SCOTT, P. V. & BERNARD, F. R. 2000. <u>Bivalve Seashells of Western North</u> <u>America - Marine Bivalve Mollusks from Arctic Alaska to Baja California</u>. Santa Barbara Museum of Natural History, 764 pp.
- COSEL, R. von. 1995. Fifty-one new species of marine bivalves from tropical West Africa. <u>Iberus</u> <u>13(1)</u>: 1-115.
- DALL, W. H. 1912. New Californian Mollusca. The Nautilus 25(11): 127-129.
- DIETRICH, H. F.; FONTAINE, A. R. 1975. A decalcification method for ultrastructure of echinoderm tissues. <u>Stain Technology 50(5)</u>: 351-354.
- GARDNER, J. A. 1928. The molluscan fauna of the Alum Bluff group of Florida. Part V. Tellinacea, Solenacea, Mactracea, Myacea, Molluscoidea. <u>United States Geological Survey</u>, <u>Professional Paper 142</u>: 185-249.
- GOLOBOFF, P. A; FARRIS, J. S & NIXON, K. C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. <u>Cladistics 24</u>: 774-786.
- HARPER, E. M., HIDE, E. A. & MORTON, B. 2000. <u>Relationships between the extant</u> <u>Anomalodesmata: a cladistic test</u>. In *The evolutionary biology of the Bivalvia*. *Special Publications* <u>177</u>:129–143. Harper, E. M., Crame, J. A. & Taylor, J. D. (Eds). London: Geological Society.
- HARPER. E. M.; DREYER, H. & STEINER, G. 2006. Reconstructing the Anomalodesmata (Mollusca: Bivalvia): morphology and molecules. <u>Zoological journal of the Linnean Society</u> <u>148</u>: 395-420.
- MARSHAL, B. A. 2002. Some Recent Thraciidae, Periplomatidae, Myochamidae, Cuspidariidae and Spheniopsidae (Anomalodesmata) from the Nova Zelandia region and referral of *Thracia reinga* Crozier, 1966 and *Scintillona benthicola* Dell, 1956 to *Tellimya* Brown, 1827 (Montacutidae) (Mollusca: Bivalvia). Molluscan Research 22: 221-288.

- MIKKELSEN, P. M. & BIELER, R. 2008. <u>Seashells of Southern Florida: living marine mollusks of the Florida Keys and adjacent regions: Bivalves</u>. Princeton University Press, 503 pp.
- MIKKELSEN, P. M. 2011. Speciation in modern marine bivalves (Mollusca: Bivalvia): Insights from the published record. <u>American Malacology Society 29(1/2)</u>: 217-245.
- MORGAN, R. E & ALLEN, J. A. 1976. On the functional morphology and adaptations of *Entodesma saxicola* (Bivalvia: Anomalodesmacea). <u>Malacologia 15</u>: 233-240.
- MORTON, B. 1980. The anatomy of "living fossil" *Pholadomya candida* Sowerby, 1823 (Mollusca: Bivalvia: Anomalodesmata). *Videskabelige Meddelelser fra Dansk naturhistorik Forening i Kjobenhavn* 142: 7-102.
- MORTON, B. 1981. The biology and functional morphology of *Periploma (Offadesma) angasai* (Bivalvia: Anomalodesmata: Periplomatidae). Journal of Zoology, 193: 39-70.
- MORTON, B. 1982. The functional morphology of *Parilimya fragilis* (Grieg, 1920) (Bivalvia: Parilymiidae fam. nov) with a discussion of the origin and evolution of the carnivorous septibranchs and a reclassification of the Anomalodesmata. <u>Transactions of the Zoological Society of London 36</u>: 1-76.
- MORTON, B. 1984. The biology and functional morphology of *Clavagella australis* (Bivalvia: Anomalodesmata). Journal of Zoology, London, 202: 489-511.
- MORTON, B. 1985. Statocyst structure in the Anomalodesmata (Bivalvia). Journal of Zoology, London 206: 23-34.
- MORTON, B. 1987. Siphon structure and prey capture as a guide to affinities in the abyssal septibranch Anomalodesmata (Bivalvia). <u>Sarsia 72</u>:49-69. Bergen ISSN 0036-4827.
- MORTON, B. 1995. The ecology and functional morphology of *Trigonothracia jinxigae* (Bivalvia: Anomalodesmata: Thracioidea) from Xiamen, China. Journal of Zoology, London 237: 445-468.
- NIXON K. C. 2002. WinClada ver. 1.00.08. Published by the author, Ithaca, NY.
- OCKELMANN, K.W. 1965. <u>Developmental types in marine bivalves and their distribuition along</u> <u>the Atlantic coast of Europe</u>, In: COX, L. R; PEAKE, J. F (eds) Proc. First Eur Mal Congr 1962: 25-35.
- PREZANT, R. S. 1985. Derivations of arenophilic mantle glands in the Anomalodesmata. <u>Malacologia 26</u>: 273-275.
- PURCHON, R. D.1956. The stomach in the Protobranchia and Septibranchia (Lamellibranchia). Proceedings of the Zoological Society of London 127: 511-525.
- PURCHON, R. D. 1968. <u>The Biology of the Mollusca</u>. Pergamon press Ltd, Headington Hill Hall, Oxford. Chapter 1 pp. 7-12.
- PURCHON, R. D. 1987. The stomach in the Bivalvia. <u>Philosophical Transactions of the Royal</u> <u>Society of London</u>. Series B, Biological. <u>360</u>:183-276.

- REDFERN, C. 2001. <u>Bahamian Seashells</u>: A Thousand Species from Abaco, Bahamas. Bamianseashells.com, Inc., Boca Raton, Florida. 280 pp.
- REID, R. G. B; REID, A. M. 1974. The carnivorous habit of members of the septibranch genus *Cuspidaria* (Mollusca: Bivalvia). <u>Sarsia 56</u>:47-56.
- REID, R.G. B; CROSBY S. P. 1980. The raptorial siphonal apparatus of the carnivorous septibranch *Cardiomya planetica* Dall (Mollusca: Bivalvia) with notes on feeding and digestion. <u>Canadian Journal of Zoology</u> 58:670-679.
- SARTORI, A, F; PASSOS, F. D & DOMANECHI, O. 2006. Arenophilic mantle glands in the Laternulidae (Bivalvia: Anomalodesmata) and their evolutionary significance. <u>Acta Zoologica</u> <u>87</u>: 265-272.
- VERRILL, A. E. & BUSH, K. J. 1898. Revision of the deep water Mollusca of the Atlantic coast of North America, with descriptions of new genera and species. Part I.- Bivalvia. <u>Proceedings of the United States National Museum 20(1139)</u>: 775-901; pls. 71-97.
- YONGE, C. M. 1928. Structure and function of the organs feeding and digestion in the Septibranchs, *Cuspidaria* and *Poromya*. <u>Philosophical Transactions of the Royal Society of London</u>. Series B, Containing Papers of a Biological Character <u>216</u>: 221-263.
- YONGE, C. M. 1952. Structure and adaptation in *Entodesma saxicola* (Baird) and *Mytilimeria nuttallii* Conrad. <u>University of California Publications in Zoology</u> 55: 439-450.
- YONGE, C. M & MORTON, B. 1980. Ligament and lithodesma in the Pandoracea and Poromyacea with a discussion on the evolutionary history of the Anomalodesmata (Mollusca: Bivalvia). Journal of Zoology, London 191: 263-292.
- YONGE, C. M. 1982. Mantle margins with a revision of siphonal types in the Bivalvia. <u>Journal of Molluscan Studies</u> <u>48</u>: 102-103.

Apêndice 1: Lista atualizada, retirada de HARPER *et al.* (2000) contendo as famílias e as 19 espécies utilizadas no presente teste cladístico, incluindo as novas espécies de *Spheniopsis* e *Grippina*, além das principais referências bibliográficas.

Famílias	Espécies	Referências
Clavagellidae	Clavagella australis Sowerby, 1830 Brechites vaginiferus (Lamarck, 1818)	Morton (1984)
Cleidothaeridae	Cleidothaerus maorianus Finlay, 1827	Morton (1984)
Cuspidariidae	Cuspidaria cuspidata (Olivi, 1792)	Morton (1987); Yonge & Morton (1980)
Laternulidae	Laternula truncata (Lamarck, 1818)	Morton (1973)
Lyonsiellidae	Lyonsiella formosa (Jeffreys, 1881)	Morton (1984)
Lyonsiidae	Entodesma saxicola Baird, 1836	Yonge (1952); Morgan & Allen (1976)
Myochamidae	Myadora striata (Quoy & Gaimard, 1835) Myochama anomioides Stutchbury, 1830	Morton (1987); Harper & Morton (2000)
Pandoridae	Pandora inaequivalves (Linnaeus, 1789) Frenamya ceylanica Sowerby, 1853	Allen (1954); Morton (1984)
Parilimyidae	Parilimya fragilis (Grieg, 1920)	Morton (1982)
Periplomatidae	Periploma angasi Crosse & Fisher, 1864	Morton (1981)
Pholadomyidae	Pholadomya candida Sowerby, 1823	Morton (1980)
Poromyidae	Poromya granulata (Nyst & Westendorp, 1839)	Yonge (1928); Yonge & Morton (1980)
Thraciidae	Trigonothracia jinxingae Xu, 1980	Morton (1995)
Verticordiidae	Verticordia triangulares Locard, 1898	Allen & Turner (1974); Morton (1987)
Spheniopsidae	Spheniopsis sp. n. Grippina sp. n.	Presente trabalho

Apêndice 2- Lista de caracteres e seus estados, utilizados na presente análise cladística, propostos por HARPER *et al.* (2000).

Caráter A- Microescultura e morfologia geral da concha.

1- Microescultura da concha

Estado do caráter

(0) Prismática + microesculturas nacaradas;
(1) Fina e homogênea + microesc. nacaradas;
(2) Homogênea + microesc. homogênea;
(3) Grosseira (>µm) homogênea + microes. nacaradas.

2- Adesão de material estranho na parte externa da concha

3- Igualdade entre as valvas

4- Fenda dorsal na concha

5- Fenda permanente e posterior

6- Fenda permanente e anterior

7- Concordância entre as valvas

(0) ausente; (1) presente.

(0) equivalve;

- (1) levemente inequivalve;
- (2) fortemente inequivalve.

(0) ausente; (1) presente.

(0) ausente; (1) presente.

(0) ausente; (1) presente.

(0) concordante; (1) discordante.

B- Detalhes da charneira

8- Dentes da charneira

9- Ligamento primário

10- Ligamento e condróforo

11- Ligamento secundário

12- Litodesma

(0) presentes e fortes; (1) ausentes;(2) presentes e fracos.

(0) externo; (1) interno.

(0) não aprodundado ou mergulhado;(1) simples e mergulhado.

(0) fino; (1) espesso.

(0) ausente; (1) presente.

C- Características gerais do manto	(0) True $A \in (1)$ True D
13- Tipo de fusão do manto (Yonge 1982)	(0) Type A; (1) Type B; (2) Type C.
14- Glândulas arenofílicas	(0) ausente; (1) presente.
15- Presença da quarta abertura palial	(0) ausente; (1) presente.
D- Características dos sifões	(0) seio palial ausente;
16- Comprimento dos sifões	(1) selo pana presente mas quenão ultrapassa a linha do umbo;(2) Seio palial presente queultrapassa a linha do umbo.
17- Separação dos sifões	(0) separados; (1) fundidos.
18- Simetria dos sifões	(0) assimétrico; (1) simétrico.
19- Tipo de fusão dos sifões (Yonge 1952)	(0) Tipo A; (1) Tipo B; (2) Tipo C.
20- Orgãos ciliares sensoriais	(0) ausente; (1) presente.
21- Tentáculos sifonais	 (0) ausentes em ambos; (1) presentes somente no exalante; (2) presentes somente no inalante; (3) presente em ambos.
22- Sifão inalante	(0) forma tipica dos bivalves;(1) extensível em forma de capuz.
23- Revestimento externo de muco	(0) ausente; (1) presente.
E- Musculatura	
24- Músculus adutores	(0) isomiário; (1) o anterior maior;(2) o posterior maior.
25- Músculos da fenda do pé	(0) normal; (1) como em <i>Pholadomya;</i> (ver Morton, 1980)

26- Musculatura do pé	(0) normal; (1) reduzida; (2) ausente.
27- Presença de músculo Taenioide	(0) ausente; (1) presente.
F- Vísceras no geral 28- Tipo do palpo	(0) tipo normal de bivalves; (1) em forma de funil; (2) curto, sem cílios.
29- Brânquias	(0) plicada; (1) não plicada.
30- Brânquias	(0) Tipo E; (1) septibranquia.
31- Demibranquia interna fundida a massa visceral	(0) presente; (1) ausente.
32- Lábios	(0) simples e não fundidos;(1) lateralmente fundidos;(2) fundidos medianamente.
33- Estômago Tipo II (Purchon, 1956)	(0) ausente; (1) presente.
34- Superfícies de absorção no estomago	(0) ausente; (1) presente.
35- Reto	(0) acima do coração;(1) abaixo do coração;(2) penetrando no coração.
36- Reto	(0) passa por cima do rim;(1) penetra nos rim.
37- Tipo do estatocisto (see Morton 1985)	(0) A; (1) B1; (2) B2; (3) B3; (4) C.
38- Myadorid ray	(0) ausente; (1) presente.

G- Características reprodutivas

39- Reprodução	(0) hermafrodita simultâneo(1) dióico.				
40. America conside	(0) unidas; (1) separadas;(2) unidas com os ductos				
40- Aparato gonadal	urinarios.				

H- Outras características

41- Habilidade para cimentar	(0) ausente; (1) presente.
42- Habilidade para construir tubos calcáreos	(0) ausente; (1) presente.
42- Presença de bisso pós-larval	(0) ausente; (1) presente.

<u>Apêndice 3</u>- Matriz de dados, utilizada no presente teste cladístico.

	1	2	3	4	5	6	7
Brechites	0	0	0	0	?	1	?
Clavagella	0	0	0	0	?	1	?
Cleidothaeridae	0	0	2	0	1	1	1
Cuspidariidae	2	0	{01}	0	0	1	0
Laternulidae	0	1	1	1	0	0	0
Lyonsiellidae	0	1	0	0	1	1	0
Lyonsiidae	{03}	1	1	0	{01}	1	0
Myadora	0	0	2	0	1	1	1
Myochama	0	0	2	0	1	1	1
Pandoridae	0	0	2	0	1	1	1
Parilimyidae	0	0	0	0	0	0	0
Periplomatidae	0	1	2	1	0	0	0
Pholadomyidae	0	?	0	0	0	0	0
Poromyidae	{12}	0	0	0	1	1	0
Thraciidae	2	1	1	0	0	0	0
Verticordiidae	0	1	0	0	1	1	0
Spheniopsidae	?	0	{01}	0	0	0	0

	8	9	10	11	12	13	14
Brechites	1	0	0	1	1	2	1
Clavagella	1	{01}	0	1	{01}	2	1
Cleidothaeridae	0	1	3	1	1	0	0
Cuspidariidae	{01}	1	2	1	1	1	0
Laternulidae	1	{01}	2	1	1	1	0
Lyonsiellidae	1	1	1	?	1	1	1
Lyonsiidae	0	1	1	1	1	1	{01}
Myadora	0	1	1	0	1	2	?
Myochama	0	1	1	0	1	2	0
Pandoridae	0	1	1	1	{01}	1	0
Parilimyidae	{02}	0	0	0	0	0	1
Periplomatidae	1	1	2	1	1	{01}	1
Pholadomyidae	{02}	0	0	0	0	1	0
Poromyidae	0	0	0	0	0	0	0
Thraciidae	1	1	2	1	1	1	?
Verticordiidae	1	1	1	{01}	1	1	{01}
Spheniopsidae	{01}	1	1	0	1	0	0

	15	16	17	18	19	20	21
Brechites	1	0	0	0	2	1	3
Clavagella	1	{01}	0	0	2	1	3
Cleidothaeridae	1	0	0	0	0	0	2
Cuspidariidae	0	1	?	1	1	1	3
Laternulidae	0	0	1	0	2	1	3
Lyonsiellidae	0	0	0	?	0	1	?
Lyonsiidae	1	1	0	?	1	0	2
Myadora	1	0	1	0	0	0	3
Myochama	0	1	0	?	0	0	0
Pandoridae	0	0	1	0	1	0	3
Parilimyidae	1	1	1	1	1	0	0
Periplomatidae	{01}	1	0	0	0	0	3
Pholadomyidae	1	1	1	0	1	0	0
Poromyidae	{01}	0	?	1	0	1	3
Thraciidae	0	2	0	0	0	0	3
Verticordiidae	0	0	0	1	0	1	3
Spheniopsidae	0	1	0	1	0	1	3

	22	23	24	25	26	27	28
Brechites	0	0	2	0	1	0	0
Clavagella	0	0	2	0	1	0	0
Cleidothaeridae	0	0	1	0	2	0	0
Cuspidariidae	1	0	0	0	1	0	2
Laternulidae	0	0	2	0	1	0	0
Lyonsiellidae	1	0	0	?	1	1	1
Lyonsiidae	0	0	0	0	1	0	0
Myadora	0	0	0	0	1	0	0
Myochama	0	0	0	0	1	0	0
Pandoridae	0	0	0	0	1	0	0
Parilimyidae	1	0	0	1	2	1	1
Periplomatidae	0	1	0	0	1	0	0
Pholadomyidae	0	0	0	1	0	1	0
Poromyidae	1	0	0	0	1	0	1
Thraciidae	0	1	0	0	2	0	0
Verticordiidae	0	0	0	0	1	0	1
Spheniopsidae	1	0	0	0	0	0	3
	29	30	31	32	33	34	35
Brechites	0	0	0	0	0	?	2
Clavagella	0	0	0	0	0	?	2
Cleidothaeridae	0	0	0	0	0	1	0
Cuspidariidae	1	1	1	0	1	0	2
Laternulidae	0	0	0	0	0	1	2
Lyonsiellidae	0	?	?	2	1	?	2
Lyonsiidae	0	0	0	0	0	1	2
Myadora	0	0	0	0	0	1	2
Myochama	0	0	0	0	0	1	2
Pandoridae	0	0	0	0	0	1	0
Parilimyidae	0	0	0	?	1	?	2
Periplomatidae	0	0	0	1	0	1	2
Pholadomyidae	0	0	0	1	0	0	1
Poromyidae	1	1	1	0	1	?	2
Thraciidae	0	0	0	0	0	0	2
Verticordiidae	0	0	0	2	1	0	2
Spheniopsidae	1	1	1	0	1	0	2

	36	37	38	39	40	41	42	43
Brechites	0	3	0	0	1	0	1	0
Clavagella	0	3	0	0	1	0	1	0
Cleidothaeridae	0	2	0	0	1	1	0	0
Cuspidariidae	0	4	0	1	1	0	0	0
Laternulidae	1	{12}	0	0	2	0	0	0
Lyonsiellidae	1	1	0	?	?	0	0	1
Lyonsiidae	0	1	0	0	1	0	0	1
Myadora	0	{23}	1	0	1	0	0	0
Myochama	0	3	1	0	1	1	0	0
Pandoridae	0	1	0	0	0	0	0	0
Parilimyidae	0	0	{12}	0	0	0	0	0
Periplomatidae	1	2	0	0	0	0	0	0
Pholadomyidae	0	0	0	0	0	0	0	0
Poromyidae	0	1	0	0	0	0	0	0
Thraciidae	1	{12}	0	1	0	0	0	0
Verticordiidae	1	1	0	0	1	0	0	1
Spheniopsidae	?	4	0	1	?	0	0	0

Considerações finais

Apesar dos desafios metodológicos impostos principalmente pelas pequenas dimensões das três novas espécies descritas, o presente estudo conseguiu atingir os objetivos propostos, registrando também pela primeira vez as famílias Cyamiidae e Spheniopsidae para águas brasileiras.

Para os Cyamiidae até então a descrição da morfologia funcional de *Gaimardia* (Neogaimardia) *finlayi* elaborada por MORTON (1969), o registro dos aspectos reprodutivos de *Perrierrina crassilabrum* feito por ZELAYA (2008) e a descrição de *Pseudokellya franki*, feita por ZELAYA & ITUARTE (2009) eram as únicas informações anatômicas disponíveis sobre a família. Quanto ao gênero *Cyamiocardium*, em particular, desde o trabalho de SOOT-RYEN (1951), nenhuma informação sobre sua anatomia foi acrescentada à literatura.

Portanto, a descrição de *Cyamiocardium* sp. n. realizada pela presente Dissertação representa um importante papel científico, uma vez que disponibiliza dados anatômicos inéditos, obtidos por meio de uma descrição completa das partes moles (órgãos da cavidade palial e massa visceral) de um membro da família Cyamiidae. Mesmo tendo sido descrito a partir de espécimes fixados, o bom estado de preservação de seus órgãos somado a uma metodologia baseada em uma descalcificação prévia, MEV e histologia, permitiram não apenas entender um pouco mais sobre a biologia dessa nova espécie como também ampliar sua ocorrência para as águas quentes e rasas (26-75 metros) do Atlântico Sul.

Já para os Spheniopsidae, o acréscimo de informações sobre sua anatomia foi ainda mais relevante, já que o atual estudo elaborou pela primeira vez na

ciência, a descrição anatômica da família. Além de escassa, as poucas informações disponíveis na literatura sobre a anatomia dessa família também se mostraram, algumas delas, equivocadas.

Essa escassez de conhecimento gerava não só lacunas no entendimento taxonômico como também incertezas sobre o posicionamento filogenético dos Spheniopsidae dentre os Anomalodesmata. MARSHALL (2002) observando e descrevendo sete novas espécies de *Grippina* para a Nova Zelândia, sugeriu através de aspectos conquiliológicos que possivelmente os Spheniopsidae faziam parte dos Anomalodesmata, e que dentro deste existia ainda a dúvida sobre a proximidade com os Thracioidea ou Cuspidarioidea. Segundo HARPER *et al.* (2006) era necessária uma confirmação anatômica para corroborar as afirmações de MARSHALL (2002). Contudo, os resultados anatômicos mostraram, inicialmente, brânquias modificadas em septos musculares, descartando uma possível proximidade com os Thracioidea. Além disso, a alta similaridade dos aspectos anatômicos observados entre as novas espécies e alguns membros do gênero *Cuspidaria*, somados aos resultados do teste cladístico, mostraram que os Spheniopsidae formam um grupo irmão com os Cuspidariidae.

De maneira geral o conhecimento sobre a taxonomia, anatomia e biologia dos bivalves de pequenas dimensões, ainda é muito escasso. No Brasil, em particular, os trabalhos relacionados à anatomia e biologia de microbivalves são praticamente inéditos. Além disso, a maioria dos trabalhos atuais sobre a descrição de novas espécies de bivalves levam em conta apenas os aspectos da concha. Segundo PIFFER (2011) além da importância para sistemática (taxonomia e filogenia), a anatomia é uma ferramenta fundamental para se

entender como as espécies de bivalves estão inseridas no ambiente em que vivem e como interagem com os outros organismos que compõem as comunidades ao seu redor. Além disso, o conhecimento anatômico, ou seja, dos órgãos que compõem o complexo palial e massa visceral, nos fornecem dicas importantes sobre o hábito de vida, estratégias reprodutivas, captura de presas, entre outras, permitindo assim entender uma parte importante da biologia dos bivalves, muitas vezes, sem a necessidade de observá-los vivos.

Referências bibliográficas (excluindo as já citadas nos itens 5 e 8)

- BOUCHET, P. 1997. Inventoring the molluscan diversity of the world: what is our rate the progress?. <u>The Veliger</u> 40(1): 1-11.
- BRAUN, A. 1951. <u>Die fossile Fauna de Mainzer Beckens</u>. Wirbellose Thiere. Pp. 1112-1144. In WALCHNER (1851) (ver abaixo).
- DALL, W. H. 1903. Contributions to the Terciary fauna of Florida with special reference to the Silex beds of Tampa and the Pliocene beds of the Caloosahatchie River including in many cases a complete revision of the generic groups treated and their American Tertiary species. Pt IV. <u>Wagner Free Institute of Science Transactions</u> <u>3</u>(6): xiv + 1219-1654.
- DOMANESCHI, O. 1995. A comparative study of the functional morphology of *Semele purpuracens* (Gmelin, 1791) and *Semele proficua* (Pulteney, 1799) (Bivalvia: Semelidae). <u>The Veliger 38</u>(4): 323-342.
- GONÇALVES, E. M. & LANA, P. C. 1991. Padrões de distribuição batimétrica de Bivalvia e Gastropoda na Plataforma Continental da costa Sudeste do Brasil (24[°] S- 27[°] S). <u>Nerítica 6(1-2)</u>: 73-92.
- GUERÓN, C. O. C; NARCHI, W. 2000. Anatomia functional de *Protothaca (Leukoma) pectorina* (Lamarck) (Bivalvia, Veneridae). <u>Revista Brasileira de Zoologia</u> <u>17</u>(4): 1007-1039.
- KENN, A. M. 1971. <u>Sea shells of tropical West America: marine mollusks from Baja</u> <u>California to Peru</u>. 2nd Ed. Stanford University Press: Stanford, California. xiv + 1064pp; 22pls.
- MEYER, O. 1887. On invertebrates from the Eocene of Mississipi and Alabama. <u>Academy</u> of Natural Sciences of Philadelphia, Proceedings for 1887: 51-56.
- MORTON, B. 2003. The functional morphology of *Bentholyonsia teramachii* (Bivalvia: Lyonsiellidae): clues to the origin of predation in the deep water Anomadesmata. <u>Journal of Zoology</u>, London. (261): 363-380.
- NARCHI, W. 1972. On the biology of *Iphigenia brasiliensis* Lamarck, 1818 (Bivalvia, Donacidae). <u>Proc. Malac. Soc</u>. Lond. (40): 79-91.
- NEUFFER, F. O. 1973. <u>Die Bivalven des Unteren Meeressandes (Rupelium) im Mainzer</u> <u>Becken</u>. Abhandlungen der Hessinchen Landesamtes fur Bodenforschung (Wiesbaden) 68: 113pp; 13pls.
- POWELL, A. W. B. 1937. New species of marine Mollusca from New Zealand. <u>Discovery</u> <u>Reports</u> 15:153-222; pls. 45-56.
- PASSOS, F. D; DOMANESCHI, O. 2004. Biologia e anatomia funcional de *Donax gemmula* Morrison (Bivalvia, Donacidae) do litoral de São Paulo, Brasil. <u>Rev. Bras.</u> <u>Zoologia 21(4)</u>: 1017-1032.

- PASSOS, F. D; MAGALHÃES F. T. 2011. A comparative study of the Bivalvia (Mollusca) from the continental shelves of Antarctica and Brazil. <u>Biota Neotropica 11(1)</u>: 143-156.
- PIFFER, P. R; ARRUDA, E.P; PASSOS, F. D. 2011. The biology and functional morphology of *Macoma biota* (Bivalvia: Tellinidae: Macominae). <u>Zoologia</u> <u>28</u>(3): 321-333.
- PIFFER, P. R. 2011. Biologia e anatomia comparada de espécies de Tellinidae (Mollusca: Bivalvia) do litoral do Estado de São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- PIRES-VANIN, A. M. S. 1993. A macrofauna bentica da plataforma continental ao largo de Ubatuba, São Paulo, Brasil. <u>Publicações Especiais do Instituto Oceanográfico</u> <u>10</u>: 137-158.
- RIOS, E. C. 1994. <u>Seashells of Brazil</u>. 2nd ed. Museu Oceanográfico Prof. E.C. Rios, Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande, 368 pp., pls. 1-113.
- RIOS, E. C. 2009. Compendium of Brazilian Sea Shells. Evangraf, Rio Grande-RS, 668pp.
- ROSENBERG, G. 2009. Malacology 4.1.1: A Database of Western Atlantic Marine Mollusca. [WWW database (version 4.1.1)] URL <u>http://www.malacology.org</u>, acessado em 11 de Maio de 2013.
- SHARMA, P. P.; GONZÁLEZ, V. L; KAWAUCHI, G. Y; ANDRADE, S. C; GUZMÁN, A; COLLINS, T. M; GLOVER, E. A; HARPER, E. M.; HEALY J. M; MIKKELSEN, P. M; TAYLOR, J.D; BIELER, R; GIRIBET, G. 2012. Phylogenetic analysis of four nuclear protein-encoding genes largely corroborates the traditional classification of Bivalvia (Mollusca). <u>Molecular Phylogenetics and Evolution 65</u>(1):64-74.
- SIMONE, L. R. L. 1999. <u>Superfamily Carditoidea</u>. In: Miggoto, A. E; TIAGO, C. G (eds) Biodiversidade do Estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX, 3: invertebrados marinhos, Pp. 129-136, São Paulo-FAPESP.
- SKELTON, P. W; CRAME, J. A; MORRIS, N. J & HARPER, E. M. 1990. <u>Adaptative</u> <u>divergence and taxonomic radiation in post-Palaeozoic bivalves</u>. In: TAYLOR, P. D & LARWOOD, G. (Eds) Major Evolutionary Radiations. The Systematic Association Special. Claredon Press, Oxford, <u>42</u>: 91-117.
- WALCHENER, F. A. 1851 [1846-1851]. Handbuch der Geognosie zum Gebrauche…mit besonderer Berucksichtigung der geognostischen Verhaltnisse des Grossherzogthmus Baden & c. Zweite…Auflage. <u>Karlsruhe</u> (Gross) 1232 pp.[(1/2): 1-320 (1846); (3): 321-480 (1847); (4/6): 481-960 (1850); (7/8): 961-1232 (1851)].