

Universidade Federal de Juiz de Fora  
Pós-Graduação em Ciências Biológicas  
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Carlota Augusta Rocha de Oliveira

**TAXONOMIA INTEGRATIVA PARA A CARACTERIZAÇÃO E  
DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE VERONICELÍDEOS  
NEOTROPICAIS (MOLLUSCA, GASTROPODA, VERONICELLIDAE):  
RECARACTERIZAÇÃO DE *Latipes erinaceus* E DESCRIÇÃO DE UMA  
NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO *Phyllocaulis***

Juiz de Fora

2016

**CARLOTA AUGUSTA ROCHA DE OLIVEIRA**

**TAXONOMIA INTEGRATIVA PARA A CARACTERIZAÇÃO E  
DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE VERONICELÍDEOS  
NEOTROPICAIS (MOLLUSCA, GASTROPODA, VERONICELLIDAE):  
RECARACTERIZAÇÃO DE *Latipes erinaceus* E DESCRIÇÃO DE UMA  
NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO *Phyllocaulis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração: Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção de Mestre.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Sthefane D'Ávila de Oliveira e Paula

Juiz de Fora

2016

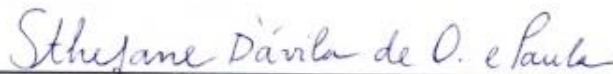
Carlota Augusta Rocha de Oliveira

**Taxonomia integrativa para a caracterização e diferenciação de espécies de Veronicelídeos neotropicais (Mollusca, Gastropoda, Veronicellidae):  
recharacterização de *Angustipes erinaceus* nov. comb. e descrição de uma nova espécie do gênero *Phyllocaulis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração: Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção de titulação de Mestre.

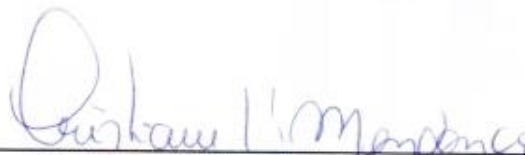
Aprovada em 07 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA




---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Stefane D'Ávila de Oliveira e Paula (Orientadora)  
Universidade Federal de Juiz de Fora



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Cristiane Lafetá Furtado Mendonça  
Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz



---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Suzete Rodrigues Gomes  
Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz

Dedico este trabalho ao meu esposo Geraldo,  
aos meus filhos Fernanda, Juliana e Tácio  
e meus pais Marilda e Olympio.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, agradeço muito mais do que pela vida! É a Sua presença que fez todas as dificuldades serem superadas, cada degrau ser calcado, cada questionamento ser sanado, ou ao menos aliviado quando não havia respostas imediatas.

Ao meu eterno amigo e esposo Geraldo, pela paciência, por compreender minhas ausências, cansaço e falta de bom humor. Obrigada por ouvir cuidadosamente todos os meus delineamentos, devaneios e empolgações, pelo incentivo. Te amo muito!

Aos meus filhos, Fernanda, Juliana e Tácio, aos meus pais Marilda e Olympio (*In memoriam*) por me fazerem lembrar que sempre há jeito pra contornar as dificuldades, e que o refúgio sempre existe quando a gente acha que deve parar.

A Professora Sthefane D'Ávila, pela pronta disponibilidade na orientação durante o mestrado, e pela oportunidade de vivenciar tantas experiências – muito mais do que se poderia prever para um período tão curto!

À Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Programa de Mestrado em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, e seu corpo docente, pela oportunidade de vivenciar estes dois anos de aprendizado e aperfeiçoamento profissional. É na relação entre as mentes que se evolui a capacidade de pensar.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e apoio à condução das atividades de pesquisa.

Ao Museu de Malacologia Professor Maury Pinto de Oliveira da UFJF pela concessão de toda a infra-estrutura necessários para a realização do trabalho.

Ao laboratório de Helminologia e Malacologia Médica (FIOCRUZ/René Rachou), pela parceria e ensinamentos na área de genética molecular.

Aos Professores Saulo Marçal, Luiz Fernando Cappa de Oliveira, Roberto Júnio P. Dias, Rodrigo Stephani, pelos conhecimentos transferidos e a colaboração nos trabalhos de citogenética e processamento de imagens em microscopia eletrônica.

Ao Professor José Willibaldo Thomé, que não conheço pessoalmente, mas que durante minha trajetória acadêmica tem sido meu mestre inspirador, por sua dedicação e trabalho nas pesquisas da Família Veronicellidae.

A curadora do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Zilda Margarete Lucena.

A Débora Kraemer pela presteza em enviar os tantos artigos solicitados.

À toda a equipe do Museu de Malacologia, Raquel, Ana Carolina, Maria Alice, Camilla, Flaviane e Cidinha, minhas amigas de coletas, desafios e sobremesas e aos secretários Osmar e Marlú.

A todos que permitiram que essa jornada se tornasse possível, meu sincero muito obrigada!

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”. (Isaac Newton)

## RESUMO

A família Veronicellidae Gray, 1840 inclui espécies facilmente reconhecíveis e amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, com maior representatividade na região Neotropical. A família inclui aproximadamente setenta e oito espécies neotropicais, divididas em dezessete gêneros. Algumas espécies atuam como hospedeiros intermediários de helmintos, ou como pragas de horticulturas, fruticulturas e floriculturas. Entretanto, apesar da importância médica e econômica da família, ainda existem significativas lacunas no conhecimento básico desses gastrópodes, particularmente no que concerne à morfologia, taxonomia e distribuição. Este trabalho objetivou estudar a variabilidade morfológica de espécimes de veronicelídeos, com uma abordagem taxonômica multidisciplinar, das espécies *Latipes erinaceus*, *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp. nov., incluindo uma abordagem comparativa com as demais espécies desses gêneros e a análise de sua distribuição geográfica. O presente estudo foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo foi realizada a recharacterização de *Latipes erinaceus* com base em indivíduos provenientes de duas populações, visando acessar a variabilidade morfológica da espécie. Através da análise de características morfológicas descritas na literatura, realizamos o estudo comparativo das espécies incluídas nos gêneros *Angustipes* e *Latipes*, e propomos a redefinição destes gêneros, elegendo como caracteres mais relevantes a morfologia do pênis e do ducto da bolsa de copulação e a posição relativa de entrada do ducto de ligação na bolsa. Com base nas características mencionadas, propomos a transferência das espécies *L. erinaceus*, *L. rosilus*, *L. ribeirensis* e *L. absumptus* para o gênero *Angustipes*. No segundo capítulo, é descrita uma nova espécie do gênero *Phyllocaulis* e realizado o estudo morfológico detalhado da espécie *P. boraceiensis*. As duas espécies apresentam similaridades morfológicas superficiais, entretanto, o estudo aprofundado da morfologia permitiu sua distinção com base nas características do complexo peniano e musculatura associada, glândula pediosa, glândula peniana, rádula, além da pigmentação corporal.

**Palavras-chave:** citogenética, distribuição geográfica, Minas Gerais, morfologia.



## ABSTRACT

The family Veronicellidae Gray, 1840 includes species that are easily recognizable and widely distributed along the tropical and subtropical regions. This family is specially rich in the neotropics. This family currently includes around 80 neotropical species placed in 17 genera. Some species act as intermediate host of helminths or as horticultural plagues. However, despite the medical and economic importance of this family, there are significant gaps in the knowledge of their morphology, taxonomy and distribution. Within this context, this study aimed to study the morphological variability of *Latipes erinaceus*, *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp. nov. including a comparative approach with other congeneric species, and also analyse their geographical distribution. This study is divided in two chapters. The first chapter includes a recharacterization of *Latipes erinaceus* based in sampling from two populations to assess the morphological variability. Based on literature, we compared all species included in the genera *Angustipes* and *Latipes*. Then we proposed the redefinition of these genera, electing as more taxonomy relevant characters: penis morphology, bursa copulatrix duct, and the relative position of the duct entrance in the Bursa. Based on those characters, we propose the transfer of *L. erinaceus*, *L. rosilus*, *L. ribeirensis* e *L. absumptus* to the genus *Angustipes*. Within the second chapter we described a new species of *Phyllocaulis* and perform a detailed morphological study with *P. boraceiensis*. Both species have superficial morphological similarities, however, an extensive morphological analysis showed their distinction. Their distinction are based on characters of penile complex and associated musculature, pedal and penile glands, radula, and also body pigmentation. Key words: cytogenetics, geographic distribution, Minas Gerais, morphology

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

<b>Figura 1</b>	Medidas lineares tomadas de <i>Latipes erinaceus</i> (Colosi, 1921) nov. comb.....	27
<b>Figura 2</b>	Morfologia externa da espécie <i>Latipes erinaceus</i> nov. comb. das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina, Minas Gerais, Brasil.....	31
<b>Figura 3</b>	Morfologia do complexo peniano e glândula peniana de <i>Latipes erinaceus</i> , das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina, MG, Brasil.....	32
<b>Figura 4</b>	Complexo peniano, sistema reprodutor feminino, sistema circulatório, glândula pediosa e glândula peniana de <i>Latipes erinaceus</i> , das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina, MG, Brasil .....	33
<b>Figura 5</b>	Posição relativa do músculo retrator do pênis.....	34
<b>Figura 6</b>	Mandíbula e rádula de <i>L. erinaceus</i> .....	35
<b>Figura 7</b>	PCA: Análise de componente principal – gráficos de dispersão e autovalores de 14 componentes de <i>Latipes erinaceus</i> de Juiz de Fora e Leopoldina.....	38
<b>Figura 8</b>	Distribuição geográfica e morfologia peniana das espécies dos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> . As Coordenadas geográficas foram geradas pelo aplicativo Google maps, baseadas nos registros de tipos, novas ocorrências e registros em Global Biodiversity Information facility (GBIF).....	42
<b>Figura 9</b>	Origem do músculo retrator do pênis em relação à bolsa de copulação.....	44
<b>Figura 10</b>	Bolsa de copulação e anexos (ducto deferente distal, ducto de ligação, canal da bolsa, canal do oviduto e reto) de espécies dos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> .....	46
<b>Figura 11</b>	Análise de agrupamento (bootstrop e. g. 10000) - distância Euclidiana - Coeficiente cofenético das características morfológicas de espécies dos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> , baseada nos caracteres morfológicos descritos.....	49
<b>Figura 12</b>	Sistema circulatório e pares de nervos de <i>Latipes erinaceus</i> (presente estudo).....	50
<b>CapítuloII</b>		
<b>Figura 1</b>	Medidas morfométricas tomadas de <i>Phyllocaulis</i> sp. nov. e <i>P. boraceiensis</i> ..	63

<b>Figura 2</b>	Morfologia externa das espécies A: <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> e B: <i>Phyllocaulis</i> sp.nov.....	67
<b>Figura 3</b>	Estruturas do sistema reprodutor de <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> e <i>Phyllocaulis</i> sp.nov.....	70
<b>Figura 4</b>	Complexo peniano (A e D) e glande (B e C) de <i>Phyllocaulis</i> sp. nov. e <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> .....	71
<b>Figura 5</b>	Microscopia eletrônica de varredura de rádulas de <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> e <i>Phyllocaulis</i> sp. nov.....	71
<b>Figura 6</b>	Dentes raquidianos de <i>Phyllocaulis</i> sp.nov. (A) e <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> (B) em sobreposição.....	72
<b>Figura 7</b>	Cariograma e preparação evidenciando célula em metáfase de <i>Phyllocaulis</i> sp.nov.....	72
<b>Figura 8</b>	Idiograma de <i>Phyllocaulis</i> sp.nov. (2x=34 cromossomos) (A) e <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> (2x=32 cromossomos) (B).....	73
<b>Figura 9</b>	Análise de componentes principais com 10.000 replicações. A: gráfico de dispersão das medidas lineares tomadas de <i>Phyllocaulis</i> sp.nov. e <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> .....	77
<b>Figura 10</b>	Distribuição geográfica e morfologia do complexo peniano das espécies do gênero <i>Phyllocaulis</i> .....	79
<b>Figura 11</b>	Morfologia do complexo peniano de <i>Phyllocaulis</i> sp. e <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> . Anexo.....	93

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

<b>Tabela I</b>	Morfometria de <i>Latipes erinaceus</i> das localidades Leopoldina e Juiz de Fora. Medidas em milímetros.....	37
<b>Tabela II</b>	Variância e autovalores de 14 componentes da morfometria de <i>Latipes erinaceus</i> de Juiz de Fora e Leopoldina.....	39
<b>Tabela III</b>	Descrição da morfologia do pênis e da glândula peniana das espécies incluídas nos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> .....	41
<b>Tabela IV</b>	Distribuição geográfica das espécies dos gêneros <i>Latipes</i> e <i>Angustipes</i> .....	43
<b>Tabela V</b>	Descrição da bolsa de copulação, ducto de ligação e canal da bolsa de espécies dos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> .....	45
<b>Tabela VI</b>	Matriz dos caracteres morfológicos dos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> . 0=dado não descrito para a espécie, 1=ausência do caractere, 2=presença.....	47
<b>Tabela VII</b>	Dados quantitativos e medidas de estruturas do pênis, sola, hiponoto, e túbulos da glândula peniana, descritos para as espécies dos gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> .....	51

### Capítulo II

<b>Tabela I</b>	Morfometria e classificação dos cromossomos de <i>Phyllocaulis</i> sp.nov. e <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> .....	74
<b>Tabela II</b>	Morfometria comparada das espécies <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> e <i>Phyllocaulis</i> sp.nov.....	76
<b>Tabela III</b>	Resultados da Análise de componentes principais: autovalores dos eixos 1 e 2, variância dos 14 componentes. Valores em %.....	78
<b>Tabela IV</b>	Dados de ocorrência das espécies do gênero <i>Phyllocaulis</i> , obtidas a partir da literatura e registros de coleções na rede SpeciesLink.....	80
<b>Tabela V</b>	Caracterização morfométrica do complexo peniano, glândula peniana e glândula pediosa de espécies do gênero <i>Phyllocaulis</i> Colosi, 1922.....	82
<b>Tabela V</b>	Caracterização qualitativa do complexo peniano, glândula peniana e glândula pediosa de espécies do gênero <i>Phyllocaulis</i> Colosi, 1922.....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAGP	Altura da abertura da glândula pediosa
AB	Aba laminar
BTL	Número de bifurcações de túbulos longos
C	Comprimento
CBC	Comprimento da bolsa de copulação
CE	Comprimento da espata
CG	Comprimento da glande
CGP	Comprimento da glândula pediosa
CMNH	Comprimento da média entre noto e hiponoto
CMRP	Comprimento do músculo retrator do pênis
CN	Comprimento do noto
CP	Comprimento do pênis
CP	Comprimento papila
CT	Comprimento dos túbulos
CTB	Cristas e tubérculos mudar na figura
CTC	Comprimento de túbulos curtos
CTGP	Comprimento total da glândula pediosa
CTL	Comprimento de túbulos longos
DC	Dobramento claviforme
GBIF	Global Biodiversity Information facility
L	Largura
LAGP	Largura da abertura da glândula pediosa
LAGP	Largura da abertura da glândula pediosa
LBP	Largura da base do pênis
LE	Largura da espata
LG	Largura da glande
LGPA	Largura da glândula pediosa abertura
LGPCP	Largura do corpo glândula pediosa proximal
LGPD	Largura do corpo da glândula pediosa distal
LHD	Largura do hiponoto direito
LN	Largura do noto

LP	Largura papila
LS	Largura da sola
LT	Largura dos túbulos
LTC	Largura dos túbulos curtos
LTL	Largura dos túbulos longos
LTMP	Largura do terço mediano do pênis
N	Número amostral
NT	Número de túbulos da glândula peniana
NTB	Número de túbulos com bifurcação
PBC	Perímetro da bolsa de copulação
PCA	Análise de componente principal
PP	Perímetro do pênis
QGIS	Informação geográfica livre
RCLE	Razão entre comprimento e largura da espata
RGPPD	Razão entre largura do corpo da glândula pediosa inicial e final
TTCL	Número total de túbulos curtos e longos

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	16
Família Veronicellidae Gray, 1840.....	19
Importância da Família.....	19
Escopo do trabalho.....	
CAPÍTULO I.....	21
ABORDAGEM MULTIDICCIPLINAR para a caracterização de <i>Latipes erinaceus</i> (COLOSI, 1921) (GASTROPODA, VERONICELLIDAE) E REDEFINIÇÃO DOS GÊNEROS <i>Angustipes</i> (COLOSI, 1922) E <i>Latipes</i> (COLOSI, 1922).....	22
RESUMO.....	22
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	26
Caracterização morfológica de <i>Latipes erinaceus</i> (Colosi, 1921) nov. comb.....	26
Notas taxonômicas sobre os gêneros <i>Angustipes</i> Colosi, 1922 e <i>Latipes</i> Colosi, 1922.....	28
RESULTADOS.....	29
Taxonomia.....	29
Caracterização morfológica.....	29
Morfologia externa.....	29
Sistema reprodutor.....	29
Sistema nervoso.....	30
Sistema circulatório.....	30
Glândula pediosa.....	30
Rádula e Mandíbula.....	30
Variabilidade morfológica interpopulacional.....	36
Análise de Componentes Principais.....	36
Notas taxonômicas sobre os gêneros <i>Angustipes</i> e <i>Latipes</i> .....	39
DISCUSSÃO.....	52
CAPÍTULO II.....	57

<b>NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO <i>Phyllocaulis</i> (Colosi, 1922) E</b>	<b>57</b>
<b>CARACTERIZAÇÃO MULTIDISCIPLINAR DE <i>Phyllocaulis</i></b>	
<b><i>boraceiensis</i> Thomé, 1972 (Gastropoda, Veronicellidae).....</b>	
<b>RESUMO.....</b>	<b>57</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>61</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>65</b>
<b>Taxonomia.....</b>	<b>65</b>
<b>Diagnose.....</b>	<b>65</b>
<b>Descrição.....</b>	<b>65</b>
<b>Análise comparativa da morfologia de <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> e</b>	<b>66</b>
<b><i>Phyllocaulis</i> sp.nov.....</b>	
<b>Caracterização citogenética de <i>Phyllocaulis</i> sp. e <i>P. boraceiensis</i>.....</b>	<b>69</b>
<b>Estudo morfométrico de <i>Phyllocaulis boraceiensis</i> e <i>Phyllocaulis</i> sp.nov.....</b>	<b>75</b>
<b>Análise de componentes principais.....</b>	<b>77</b>
<b>Distribuição geográfica de espécies do gênero <i>Phyllocaulis</i> Colosi, 1922.....</b>	<b>78</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>88</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>93</b>



## INTRODUÇÃO GERAL

A filogenia é a representação da história das relações evolutivas entre os organismos. O estudo taxonômico, identifica, classifica e designa os nomes das espécies baseados em informações da filogenia. Através destes estudos torna-se possível distinguir melhor as diferenças e similaridades entre espécimes do mesmo taxa ou de diferentes grupos.

O advento de novas visões conceituais sobre o significado biológico das espécies, assim como de novas metodologias, particularmente aquelas oriundas das disciplinas de genética, biologia molecular e biogeografia, trouxe a necessidade de adaptação da taxonomia na tarefa de descrever e diferenciar espécies (PADIAL *et al.*, 2010). Dessa forma, surgiu o conceito de taxonomia integrativa, com uma visão plural para a tarefa da descrição e conhecimento da biodiversidade. A utilização dessa nova perspectiva tem permitido acessar a real diversidade de vários grupos de organismos (SPENCER *et al.*, 2009; DELICADO & RAMOS, 2012; PRÉVOT *et al.*, 2013).

Um questionamento mais aprofundado sobre as alternativas para a integração precisa ser formado através de um olhar mais atento, sobre quais ferramentas estas abordagens irão integrar (PADIAL *et al.*, 2010). Sendo assim, a classificação dos organismos pode ser pelo nível de organização biológica como: bioquímica, morfológica, molecular, citogenética, comportamental ou ecológica (PADIAL *et al.*, 2010). Os taxonomistas podem recorrer a diferentes caracteres taxonômicos de acordo com os atributos biológicos de cada taxa, incluindo comportamentos geneticamente determinados e mesmo a ecologia das espécies (LEACHÉ *et al.*, 2009). Um caráter para ser empregado em taxonomia integrativa, precisa ser avaliado tendo em conta as forças evolutivas que impulsionaram o processo de especiação (PADIAL *et al.*, 2010). Nos casos onde os processos de especiações podem ser desencadeados por conflitos sexuais ou seleção natural, caracteres relacionados a qualquer destas forças podem ser um indicativo taxonômico de divergência, para o taxa para qual esta espécie pertença (PADIAL *et al.*, 2010).

A seleção sexual e o conflito sexual têm sido apontados por desempenhar papéis-chave na evolução das espécies com sexos separados. Há evidências, que demonstram que o conflito sexual também ocorre em hermafroditas simultâneos (KOENE, 2006). Tais conflitos sexuais surgem porque uma estratégia vantajosa para um sexo pode ser prejudicial para o outro. Como resultado, esses conflitos podem provocar corridas armamentistas e a coevolução, levando a extremos caros, e às vezes comportamentos bizarros de acasalamento (KOENE, 2006). Um gastrópode hermafrodita, ao doar esperma, assumindo, então, a função

masculina, é normalmente motivado pelo interesse em maximizar o número de descendentes, enquanto os receptores de esperma, que assumem a função feminina, em otimizar a aptidão de sua prole (KOENE & SCHLENBUR, 2005). Estes objetivos podem não coincidir, principalmente se receptor de esperma se acasalar com diversos parceiros e ao mesmo tempo possuir estruturas especializadas em digestão de esperma. Nestas circunstâncias a seleção sexual pode favorecer os doadores de esperma que consigam manipular esse processo. Estas manipulações podem desencadear contra-adaptações por parte do beneficiário de esperma. Desta forma, o conflito sexual pode levar a coevolução adaptativa em hermafroditas. Essa corrida armamentista pode afetar interações entre parceiros de acasalamento levando a alterações na morfologia genital, gametas, produtos seminais, e pode resultar em especiação (KOENE, 2006).

O sistema reprodutor dos gastrópodes possui grande variação quanto à morfologia e função das estruturas, principalmente nas estruturas masculinas envolvidas no processo de cópula. As estruturas do complexo peniano muitas das vezes são específicas de cada espécie e esta diversidade pode ser entendida como uma forma de reforço das barreiras reprodutivas entre as espécies (HEALY, 2001; CARVALHO, 2009). A morfologia do aparelho genital masculino integra o conjunto de critérios utilizados na sistemática de gastrópodes veronicelídeos (THOMÉ, 1965, 1970a, b, 1971, 1972, 1975, 1976, 1981, 1983, 1984), como de outros grupos de gastrópodes (LIMA *et al.*, 1993; PARAENSE, 1975).

Apesar de as estruturas do aparelho reprodutor masculino e feminino serem os caracteres taxonômicos mais utilizados na taxonomia dos veronicelídeos, poucos estudos abordam o comportamento reprodutivo, cópula e corte, ou a função que elas desempenham nos processos reprodutivos ou evolutivos (THOMÉ, 1968; MANSUR & THOMÉ, 1994; THOMÉ *et al.* 1999; RUEDA, 1989; CLARK & FIELDS, 2013).

A cópula concomitante e simultânea e com os indivíduos se posicionando em círculo duplo foi verificada para *Phyllocaulis soleiformis* (Orbigny, 1835) (THOMÉ, 1968), *P. boraceiensis* Thomé, 1976 (THOMÉ *et al.*, 1999), *Belocaulus angustipes* (Heynemann, 1885) (RUEDA, 1989) e *Veronicella sloanii* (Curvier, 1817) (CLARK & FIELDS, 2013). Além do posicionamento de cópula concomitante, o posicionamento de cópula em **T**, onde um espécime atua como fêmea e outro como macho, podendo haver ou não a inversão dos papéis, foi observado para *Sarasinula linguaeformis* (Semper, 1885) (MANSUR & THOMÉ, 1994, CLARK & FIELDS, 2013). A corte pode anteceder o acasalamento com contatos corporais e de tentáculos, além de inchaço do poro sexual feminino para as espécies *P. soleiformis* (THOMÉ 1968), *P. boraceiensis* (THOMÉ *et al.*, 1999) e *V. sloanii*, e ainda pode ser de

curta duração entorno de dois minutos e em alguns casos pode não levar ao acasalamento (CLARK & FIELDS, 2013).

O trabalho realizado para *V. sloanii*, com duração de vários dias de acompanhamento ininterrupto dos espécimes estudados em mais de cinquenta moluscos, evidenciou outros comportamentos ainda não descritos para as demais espécies citadas. A cópula com formação de um anel triplo fechado envolvendo três parceiros, onde cada espécime atua como fêmea e macho simultaneamente, além da interferência de outro espécime que não fazia parte do acasalamento, tentando remover um dos participantes do anel para este assumir o posicionamento do outro. Também foi verificada a ocorrência de tendência para as escolhas dos pares de acasalamento, com reciprocidade de tamanho (CLARK & FIELDS, 2013).

A exteriorização da papila da glândula peniana, sendo mantida em contato com o hiponoto do parceiro de acasalamento durante a cópula, já havia sido descrita para *Leidyula floridana* (RUEDA, 1989; CLARK & FIELDS, 2013). Este comportamento também foi relatado para *V. sloanii* (CLARK & FIELDS, 2013). Esta mesma glândula foi descrita na participação da cópula de *B. angustipes*, com a papila da glândula fazendo contato com o noto, ao invés do hiponoto do parceiro, sendo friccionada com intensa pressão (RUEDA, 1989; CLARK & FIELDS, 2013). Segundo Clark & Fildes (2013) a função desta glândula ainda não é conhecida, portanto, estes autores propõem que uma das possíveis funções seja a de manter a cópula, com base na observação de que durante o acasalamento duplo de *V. sloanii*, a cópula é interrompida e a retirada do pênis ocorre quando um dos parceiros deixa de manter a glândula peniana em contato com o outro animal. Outros autores sugerem que esta glândula também possa atuar estimulando a abertura do poro reprodutivo feminino (KOENE & CHASE, 1998) ou aumentar a sobrevivência de espermatozoides (CHASE & BLANCHARD, 2006).

Estudos sobre a morfologia do sistema reprodutor de gastrópodes terrestres contribuem significativamente, para a compreensão da história evolutiva desse grupo. Ampliando o conhecimento para a resolução de questões como a correta identificação das espécies e o controle e manejo de populações, assim como estudos comportamentais e ecológicos (CLARKE *et al.*, 1975).

## **Família Veronicellidae Gray, 1840**

Moluscos da família Veronicellidae são caracterizados pela ausência total da concha, manto modificado em um noto espesso, reversão da torção, ânus posterior e órgãos reprodutores distanciados. O poro genital masculino é localizado na região anterior, próximo ao tentáculo direito e o feminino na metade longitudinal do hiponoto direito. Um sulco pedioso circunda a sola ventral. Esses moluscos apresentam ainda um par de tentáculos cefálicos inferiores curtos e bifurcados, e o outro par superior mais longo, contrátil e com omatóforos (THOMÉ, 1975).

O sistema nervoso central concentra-se ao redor do esôfago formando o anel nervoso periesofágico, onde estão localizados os gânglios cerebroides, bucais, viscerais, parietais, pleurais e pediosos. Destes gânglios originam-se os pares de nervos paliais e pediosos, que seguem por aproximadamente toda a extensão da sola (GOMES, 2010).

As trocas gasosas em veronicelídeos ocorrem nos vasos subepiteliais do tegumento, uma vez que não possuem a cavidade pulmonar (BRUSCA & BRUSCA, 2002). O coração fica localizado no hiponoto direito logo abaixo do tegumento e a origem das principais artérias e ramificações secundárias, sofre variações dentro da família (COIFMANN, 1935).

Veronicellidae apresenta distribuição pantropical (THOMÉ, 1975). Os veronicelídeos estão representados na região Neotropical, Etiópia, Australiana e Oriental (GOMES, 2007). As espécies neotropicais foram revisadas por Thomé (1975) e distribuídas em 18 gêneros e 78 espécies: *Angustipes* Colosi, 1922, *Belocaulus* Hoffmann, 1925; *Colosius* Thomé, 1975; *Diplosolenodes* Thomé, 1975; *Forcartulus* Thomé, 1975; *Heterovaginina* Kraus, 1953; *Latipes* Colosi, 1922 (14); *Leydyula* Baker, 1925; *Microveronicella* Thomé, 1975; *Montivaginulus* Thomé, 1975; *Novovaginula* Thiele, 1931; *Phyllocaulis* Colosi, 1922; *Potamojanuarius* Thomé, 1975; *Sarasinula* Grimpe & Hoffmann, 1924; *Simrothula* Thomé, 1975; *Vaginulus* Ferussac, 1822; *Veronicella* Blainville, 1817 e *Zilchulus*, Thomé 1975.

### **Importância da família Veronicellidae**

A família Veronicellidae possui relevância médica, uma vez que algumas espécies atuam como hospedeiros intermediários do metastrongilídeo *Angiostrongylus cantonensis* Chen, 1935 e *A. costaricensis* Morera & Cespedes, 1971 (MORERA, 1973). No ciclo evolutivo desses parasitos participam roedores e lesmas, sendo o homem um hospedeiro

intermediário acidental (LAITANO *et al.*, 2001; MENDONÇA *et al.*, 1999; MENDONÇA *et al.*, 2008).

Os veronicelídeos apresentam, ainda, importância agrícola, agindo como pragas nas culturas de feijão, café, bananas, horticultura e floricultura (SANNAZZARO *et al.*, 2000; CAPINERA & RODRIGUES, 2015).

Acredita-se que os veronicelídeos, quando introduzidos em novas regiões, possam apresentar rápido potencial de expansão. Como exemplo, pode-se citar *B. angustipes*, espécie que ocorre no Sul da América do Sul e que foi registrada pela primeira vez em Nova Orleans, Lousiana, Estados Unidos, em 1960 (DUNDEE & WATT, 1962). Atualmente, a espécie encontra-se distribuída na região sudeste deste país (STANGE, 2006).

### **Escopo do trabalho**

Existem significativas lacunas no conhecimento básico dos veronicelídeos. As descrições das espécies são frequentemente pouco detalhadas (SIMROTH, 1914; COLOSI, 1922; THIELE, 1929; COIFMANN, 1934), algumas vezes baseadas em um único exemplar (SIMROTH, 1914; COLOSI, 1922; THIELE, 1929; COIFMANN, 1934, 1935; THOMÉ, 1981) ou em indivíduos jovens, com o sistema reprodutor incompletamente desenvolvido (SIMROTH, 1914; THIELE, 1929). Soma-se às descrições incompletas, a dificuldade de obter mais características a partir dos tipos (THOMÉ, 1985).

Ao analisar a representatividade da família na região neotropical, pode-se inferir que há poucos estudos sobre as espécies de veronicelídeos. Destacam-se os estudos sobre morfologia de *P. variegatus* (Semper, 1885), (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1988), histologia da glândula digestiva de *P. soleiformis* (Orbigny, 1935) (LEAL-ZANCHET *et al.*, 1993) e filogenia molecular do gênero *Phyllocaulis* e do gênero *Colosius* Thomé, 1975 (GOMES *et al.*, 20010; GOMES *et al.*, 2013).

Ainda na década de 1970, Thomé (1975) apontou a escassez de informações sobre essa família, particularmente sobre aspectos de anatomia comparada, biologia, fisiologia, etologia e biologia molecular, argumentando que a falta desses estudos impede a definição das afinidades e subordinações filogenéticas entre os gêneros. Apesar da representatividade da família na região neotropical e, particularmente no Brasil, bem como as ferramentas modernas disponíveis em biologia molecular e microscopia, a maior parte dos gêneros e espécies permanecem caracterizados com base em poucas características do sistema reprodutor. Esse

fato é particularmente devido à escassez de taxonomistas dedicados ao estudo desses animais e é provável que a diversidade de veronicelídeos no Brasil seja subestimada.

Nesse sentido, propomos no presente estudo a utilização de uma abordagem multidisciplinar para o estudo de espécies incluídas em dois gêneros de Veronicellidae. Esperamos contribuir para a melhor resolução taxonômica, bem como oferecer novos caracteres que poderão ser utilizados em estudos futuros de filogenia da família. O trabalho foi dividido em dois capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma caracterização multidisciplinar de *Latipes erinaceus* (Colosi, 1921) e uma proposta de redefinição dos gêneros *Angustipes* (Colosi, 1922) e *Latipes* (Colosi, 1922). Foi realizado o estudo detalhado da morfologia de *Latipes erinaceus* com base em espécimes provenientes de duas populações, visando acessar a variabilidade morfológica da espécie. Ainda, foi realizado um estudo comparativo das espécies incluídas nos gêneros *Angustipes* e *Latipes*. Este estudo contribui para a definição das principais características taxonômicas, para a diferenciação dos dois gêneros. Além disso, esse estudo reuniu notas taxonômicas sobre as principais características de cada espécie desses gêneros e sua distribuição geográfica. O capítulo dois apresenta a descrição de uma nova espécie do gênero *Phyllocaulis*, o estudo comparado da morfologia dessa nova espécie e *P. boraceiensis*, além da revisão das características do sistema reprodutor das espécies deste gênero e sua distribuição geográfica. A descrição dessa nova espécie evidencia que a necessidade de mais estudos para o real conhecimento da diversidade de Veronicellidae em Minas Gerais.

## CAPÍTULO I

### **ABORDAGEM MULTIDICCIPLINAR para a caracterização de *Latipes erinaceus* (Colosi, 1921), (GASTROPODA, VERONICELLIDAE) E REDEFINIÇÃO DOS GÊNEROS *Angustipes* (Colosi, 1922) E *Latipes* (Colosi, 1922).**

#### **RESUMO**

Os gêneros *Latipes* e *Angustipes* foram originalmente propostos como “grupos” dentro do gênero *Vaginulus* Férrussac, 1822 e desde sua criação foram considerados válidos, inválidos ou sinônimos, até serem elevados à categoria de gênero. Das espécies incluídas nestes gêneros, muitas foram descritas com base em apenas um espécime. Esse fato, aliado às descrições incompletas e dificuldade de obter características através dos tipos, a maior parte perdida ou mal conservada, evidencia a necessidade de redescrição das espécies e revisão dos dois gêneros. Nesse sentido, a coleta e o estudo morfológico detalhado das espécies são grandemente necessários. No presente estudo, realizamos a análise detalhada da morfologia de *Latipes erinaceus* com base em indivíduos provenientes de duas populações, visando acessar a variabilidade morfológica da espécie. Através da análise de características morfológicas descritas na literatura, realizamos o estudo comparativo das espécies incluídas nos gêneros *Angustipes* e *Latipes*, e propomos a redefinição destes gêneros, elegendo como caracteres mais relevantes a morfologia do pênis e do ducto da bolsa de copulação e a posição relativa de entrada do ducto de ligação na bolsa. Com base nas características mencionadas, propomos a transferência das espécies *L. erinaceus*, *L. rosilus*, *L. ribeirensis* e *L. absumptus* para o gênero *Angustipes*.

**Palavras-chave:** Distribuição geográfica; Gymnomorpha; taxonomia; veronicelídeos neotropicais.

## INTRODUÇÃO

A família Veronicellidae Gray, 1840 inclui espécies facilmente reconhecíveis por serem totalmente destituídas de concha e apresentarem o corpo revestido pelo manto espesso (THOMÉ, 1975). Os veronicelídeos são amplamente distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais (COWIE, 1997; BAKER, 2001), com maior representatividade na região Neotropical (GOMES, 2007; GOMES *et al.* 2010). Algumas espécies atuam como hospedeiros intermediários de *Angiostrongylus cantonensis* Chen, 1935 e *A. costaricensis* Morera & Cespedes, 1971 (LAITANO *et al.*, 2001; MENDONÇA *et al.*, 2003; MENDONÇA *et al.*, 2008) ou como pragas de plantas ornamentais (CAPINERA & RODRIGUES, 2015). Entretanto, apesar da importância médica e econômica da família, ainda existem significativas lacunas no conhecimento básico desses gastrópodes, particularmente no que concerne à morfologia, taxonomia e distribuição geográfica.

Os gêneros da família Veronicellidae com ocorrência na região neotropical foram revisados por Thomé (1975; 1976). De acordo com esse autor, os veronicelídeos neotropicais estão incluídos em 18 gêneros e 78 espécies: *Angustipes* Colosi, 1922 (7 espécies), *Belocaulus* Hoffmann, 1925 (2); *Colosius* Thomé, 1975 (6); *Diplosolenodes* Thomé, 1975 (7); *Forcartulus* Thomé, 1975 (1); *Heterovaginina* Kraus, 1953 (1); *Latipes* Colosi, 1922 (14); *Leydyula* Baker, 1925 (10); *Microveronicella* Thomé, 1975 (1); *Montivaginulus* Thomé, 1975 (1); *Novovaginula* Thiele, 1931 (4); *Phyllocaulis* Colosi, 1922 (5); *Potamojanuarius* Thomé, 1975 (5); *Sarasinula* Grimpe & Hoffmann, 1924 (2); *Simrothula* Thomé, 1975 (3), *Vaginulus* Férussac, 1822 (1); *Veronicella* Blainville, 1817 (5) e *Zilchulus*, Thomé 1975 (2).

Os gêneros *Latipes* e *Angustipes* foram propostos por Colosi (1922), como “grupos” dentro do gênero *Vaginulus* Férussac, 1822. Desde a sua descrição, *Latipes* e *Angustipes* foram considerados válidos, ou inválidos (BAKER, 1925, 1926; HOFFMANN, 1927) ou considerados sinônimos (BAKER, 1925), até serem elevados à categoria de gênero por Neave (1939) e Thomé (1975), respectivamente.

*Latipes* incluía espécies com sola larga e pênis sem espata e *Angustipes* agregava espécies com sola fina, pênis curto e cônico (COLOSI, 1922). Baker (1925) validou o táxon *Angustipes* como subgênero de *Vaginulus* e considerou *Latipes* como sinônimo desse subgênero. O autor acrescentou à caracterização de *Angustipes* características do ducto de ligação e a posição anatômica relativa do oviduto e reto. Baker (1931) utilizou novamente o nome *Angustipes* como subgênero de *Vaginulus*, diferenciando-o de *Sarasinula* pela presença de pênis com curvatura em forma de S, nesse último. Foccartt (1969) acrescentou à



caracterização de *Angustipes* a presença de bolsa de copulação séssil. Thomé (1975) elevou *Angustipes* à categoria de gênero e confirmou a validade do gênero *Latipes*. O autor acrescentou à caracterização morfológica de *Angustipes* a ausência de glândula acessória e a presença de bolsa de copulação globular sem cabeçote e à caracterização de *Latipes*, o autor incluiu características da bolsa de copulação e do ducto de ligação

Muitas espécies foram incluídas nesses dois gêneros, a partir de descrições pouco detalhadas (SIMROTH, 1914; COLOSI, 1922; THIELE, 1929; COIFMANN, 1934), algumas vezes baseadas em um único exemplar (SIMROTH, 1914, COLOSI, 1922; THIELE, 1929; COIFMANN, 1934, 1935; THOMÉ, 1981) ou em indivíduos jovens, com o sistema reprodutor incompletamente desenvolvido (SIMROTH, 1914; THIELE, 1929; THOMÉ, 1981). Soma-se às descrições incompletas, a dificuldade de obter mais características a partir dos tipos, a maior parte deles perdida ou mal conservada (THOMÉ, 1981).

Thomé (1975), em uma revisão sobre veronicelídeos neotropicais incluiu no gênero *Latipes* as espécies *L. absumptus* (Colosi, 1921), *L. alticolus* (Simroth, 1914), *L. antillarum* (Baker, 1926) (= *Sarasinula marginata*), *L. becarii* (Coifmann, 1935); *L. cnidicaulis* (Baker, 1926); *L. cordillerae* (Simroth, 1914); *L. montana* (Simroth, 1914); *L. erinaceus* (Colosi, 1921); *L. longicaulis* (Simroth, 1914); *L. nesiotis* (Simroth, 1914) (= *Diplosolenodes nesiotis*); *L. pterocaulis* (Simroth, 1914); *L. pullus* (Baker, 1926); *L. punctatissimus* (Semper, 1885); *L. punctatus* (Simroth, 1914); *L. ribeiriensis* (Thiele, 1927); *L. rosilus* (Thiele, 1927). No gênero *Angustipes*, o autor incluiu *A. ameghini* (Gambeta, 1923); *A. difficilis*, *A. morii* (Colosi, 1921); *A. paraguensis* (Simroth, 1893); *A. robustus* (Colosi, 1921); *A. tarsiai* (Coifmann, 1934). Posteriormente, Thomé (1981) descreveu *A. missionis*, esta espécie foi sinonimizada por Santin & Miquel (2015) por se tratar de um espécime jovem de *A. difficilis*. Além desta espécie foi incluída no gênero *Latipes* *L. lisei* Thomé & Gomes (1999). Vários caracteres utilizados por Thomé (1975) para a diagnose de *Angustipes* e *Latipes* são compartilhados por esses gêneros, não servindo para a sua distinção. Vale destacar que o autor não utilizou as características do pênis para a distinção dos dois gêneros.

O gênero *Angustipes* foi caracterizado, desde a criação desse táxon, pela presença de pênis cônico. A única característica do aparelho reprodutor masculino mencionada para *Latipes*, foi a presença de pênis sem espata (COLOSI, 1922).

Atualmente, a revisão desses gêneros é dificultada pelo estado de conservação precário dos tipos, com a perda de estruturas essenciais para a taxonomia, ou mesmo pela ausência desses (THOMÉ, 1970a; 1971; 1981). De acordo com Thomé (1981), dentre as seis espécies conhecidas do gênero *Angustipes*, até aquela data, apenas o tipo de *A. ameghini* foi

encontrado e estava danificado ao ponto de não permitir a sua recharacterização. Nesse sentido, a coleta e o estudo morfológico detalhado de espécimes desses gêneros são necessários.

A descrição original de *Latipes erinaceus* Colosi, 1921 (= *Sarasinula erinacea* Baker, 1931) foi baseada em um único espécime, coletado em Tucumán, Argentina. Quando descrita, foi atribuída ao gênero *Vaginulus*, “divisão” *Angustipes*. Posteriormente foi incluída no “subgrupo” *Sarasinula* por Baker (1931) e, finalmente transferida para o gênero *Latipes* por Thomé (1975). As informações disponíveis sobre a morfologia da espécie restringem-se à descrição original, que fornece características do pênis, glândula peniana e bolsa de copulação (COLOSI, 1922) e a caracterização de espécimes coletados na Argentina, com maior detalhamento das ornamentações do pênis e dos túbulos da glandula peniana (SANTIN & MIQUEL, 2015). No presente estudo, ampliamos a caracterização morfológica de *L. erinaceus* e propomos a ampliação da diagnose de *Angustipes* e *Latipes*, elegendo como caracteres mais relevantes para a distinção dos dois gêneros a morfologia do pênis, do canal da bolsa de copulação e a posição da entrada do ducto de ligação na bolsa de copulação em relação ao canal da bolsa. Propomos ainda a transferência das espécies *Latipes erinaceus*, *L. rosilus*, *L. ribeirensis* e *L. absumptus* para o gênero *Angustipes* e apresentamos a caracterização morfológica detalhada da espécie *Latipes erinaceus* (Colosi, 1921), através da análise de indivíduos provenientes de duas localidades, visando acessar a variabilidade morfológica intraespecífica e contribuir para a melhor definição da diagnose da espécie.

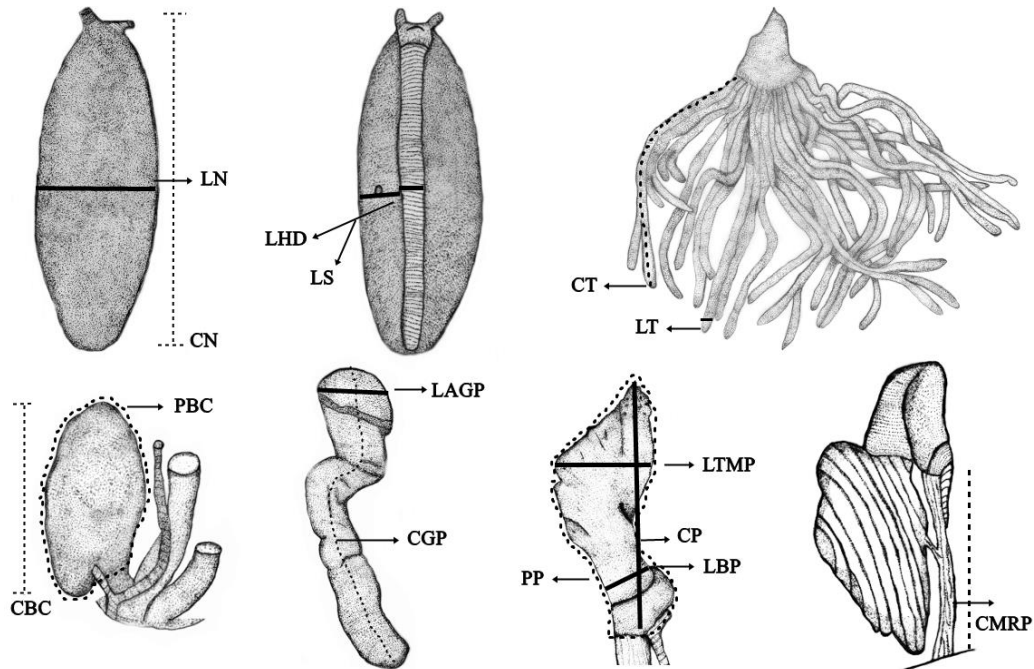
## MATERIAL E MÉTODOS

### Caracterização morfológica de *Latipes erinaceus* (Colosi, 1921)

Para a caracterização morfológica de *L. erinaceus* foram utilizados 58 moluscos, sendo dois indivíduos provenientes do campo, coletados nas localidades de Juiz de Fora (831 -21. 46279/-43.22168) e Leopoldina (22.721 32065 -42.36790), Minas Gerais, bem como 56 filhotes desses dois indivíduos, nascidos em laboratório. Para tanto, os moluscos adultos, coletados a campo, foram mantidos em terrários individuais até realizarem ovipostura. Vinte e oito filhotes de cada indivíduo foram criados até a idade de 12 meses quando foram mortos e fixados para a caracterização morfológica e estudo morfométrico. Os indivíduos provenientes do campo foram depositados na coleção malacológica do Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira (CMPMPO), da Universidade Federal de Juiz de Fora, sob os números 8478 e 8479. Os filhotes desses indivíduos foram depositados sob os números 8432 a 8490. A identificação específica foi realizada a partir do exame da anatomia interna e características externas do animal, tomando como base de comparação o trabalho de descrição original da espécie (COLOSI, 1922), bem como outros trabalhos sobre os gêneros *Angustipes* e *Latipes*. A morte e fixação dos animais foram realizadas conforme a metodologia proposta por Thomé & Lopes (1973). Os moluscos foram dissecados e os órgãos do sistema reprodutor, sistema circulatório e sistema nervoso, bem com a glândula pediosa, foram dissociados e desenhados sob microscópio estereoscópico da marca Olympus, modelo SZX7As, com câmara clara acoplada e fotografados com câmera Sony H.CE3000. Para a análise da rádula, o bulbo bucal foi dissecado, a rádula retirada, tratada em solução de hipoclorito de sódio para a remoção dos fragmentos de tecido e montada sobre *stub* recoberto com fita adesiva dupla face de carbono. A rádula foi fotografada em Microscópio eletrônico de Varredura Hitachi modelo TM 3000 (*table top microscope EDS*) e as medidas de altura e comprimento dos dentes laterais e raquidianos foram aferidas durante esse processo.

Com o auxílio de um paquímetro digital Kobalt, foram tomadas as seguintes medidas externas: comprimento e largura do noto, largura da sola e largura do hiponoto direito na altura do poro sexual feminino. A análise morfométrica do sistema reprodutor foi realizada a partir das imagens digitais obtidas após a dissecação do animal, com o programa *Image-Pro Plus 6.0*. Foram obtidas as seguintes medidas lineares: comprimento do pênis, largura da base do pênis, largura do terço mediano do pênis, perímetro do pênis; comprimento do músculo retrator do pênis, comprimento dos túbulos da glândula peniana, largura dos túbulos,

perímetro da bolsa de copulação, comprimento da bolsa de copulação, comprimento da glândula pediosa, largura da abertura da glândula pediosa, bem como o número de túbulos da glândula peniana com e sem bifurcação (Figura 1).



**Figura 1.** Medidas lineares tomadas de *Latipes erinaceus* (Colosi, 1921). CN: Comprimento do noto, LN: largura do noto; LHD: largura do hiponoto direito, LS: largura da sola na altura do poro sexual feminino, CP: comprimento do pênis, LBP: largura da base do pênis, LTMP: largura do terço mediano do pênis, PP: perímetro do pênis, CMRP: comprimento do músculo retrator do pênis, CT: comprimento dos túbulos, LT: largura dos túbulos, PBC: perímetro da bolsa de copulação, CBC: comprimento da bolsa de copulação, CGP: comprimento da glândula pediosa, LAGP: largura da abertura da glândula pediosa.

A partir das medidas lineares tomadas, foram calculadas as seguintes razões: comprimento do noto/comprimento do pênis; comprimento do noto/comprimento dos túbulos da glândula peniana e comprimento do noto/glândula pediosa.

Os valores médios das medidas lineares e razões obtidas para os indivíduos provenientes das duas localidades foram comparadas através do teste ANOVA one-way, seguido pelo teste de Tukey. Além da análise de componentes principais (PCA) para verificar os componentes que mais contribuíram com a variância e covariância. Para tanto foi utilizado o programa Past 1.49 (HAMMER *et al.*, 2001) e o programa R.

Para o processamento das imagens foram utilizados os programas Gimp.org 2® e Photoscape.org®

### **Notas taxonômicas sobre os gêneros *Angustipes* Colosi, 1922 e *Latipes* Colosi, 1922**

Informações sobre a morfologia e distribuição geográfica das espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes* foram obtidas a partir dos trabalhos de descrição original das espécies (SIMROTH, 1914; COLOSI, 1922; BAKER, 1926; COIFMANN, 1934; 1935; THOMÉ, 1981; THOMÉ & GOMES, 1999), bem como os trabalhos de revisão de Thomé (1969; 1970ab; 1971; 1979; 1989). Os dados obtidos sobre a morfologia do sistema reprodutor masculino e feminino foram transformados em uma matriz numérica com valores de “0” para caráter não descrito na literatura, “1” caráter ausente na espécie e “2” para presença do caráter. A partir dessa matriz foi realizada a análise de agrupamentos com 10.000 replicações, sendo calculada a distância Euclidiana e coeficiente cofenético, para a obtenção de um dendrograma de similaridade para os gêneros *Angustipes* e *Latipes*. Essas análises foram realizadas no programa Past 1.49 (HAMMER *et al.*, 2001).

A partir das informações sobre a ocorrência das espécies, foram atribuídos os dados georreferenciados para cada localidade através do aplicativo *Google maps*. O mapa de distribuição das espécies foi então confeccionado através do programa QGIS 2.6 (Informação geográfica livre).

## RESULTADOS

No presente estudo, os espécimes analisados foram identificados como *Latipes erinaceus* pelo conjunto de características do pênis e da bolsa de copulação. Propomos a transferência de *L. erinaceus* para o gênero *Angustipes*, de acordo com a redefinição dos dois gêneros descrita no presente estudo, em função da presença, nessa espécie, de pênis curto e cônico, canal da bolsa de copulação curto ou sésil e a posição da entrada do ducto de ligação na bolsa de copulação próximo ao canal da bolsa.

### Taxonomia

#### Família Veronicellidae Gray, 1840

*Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) Nov.comb. (Figuras 2-6)

1921. *Vaginula erinacea* Colosi

1931. *Sarasinula erinacea* Baker

1975. *Latipes erinaceus* Thomé

### Diagnose

Pênis de forma cônica, base larga, terço mediano alargado, parte distal da glândula com dobramento claviforme, ornamentada com crista e tubérculos. Região basal do pênis com aba laminar portando pequenas nervuras e com aspecto de capa. Bolsa de copulação reniforme, com curto canal e ducto de ligação inserindo-se próximo ao canal da bolsa.

### Caracterização morfológica

#### Morfologia externa

Noto marrom claro, marrom escuro ou cinza, medindo de 40 a 73 mm de comprimento e 14,5 a 26 mm de largura. Linha mediana sobre o noto presente ou ausente. Sola e hiponotos com coloração mais clara do que o noto. Hiponotos com pontos claros por toda sua extensão. Sola estreita, com aproximadamente a metade da largura do hiponoto direito, recobre o poro anal.

#### Sistema reprodutor

Pênis cônico, assimétrico, lateralmente assentado sobre soquete curto, base reta e larga com constrição na porção posterior, apresentando maior largura no seu terço médio (2,4 a 4,9 mm). Na região apical a glândula apresenta dobramento claviforme, onde são encontradas ornamentações em forma de cristas e tubérculos. Estas ornamentações podem ser conspícuas

ou pouco aparentes. A partir da base surge uma pequena aba laminar com a aparência de uma capa e portando pequenas nervuras. Glândula peniana com papila cônica, mamilo em forma de espinho, túbulos longos, sendo alguns um pouco menores, mas sem formar dois lotes diferenciados em longos e curtos. Alguns túbulos apresentam-se bifurcados na região distal. Bolsa de copulação reniforme, com ambas as extremidades basal e apical livres, apoiada sobre um curto e largo canal em posição lateral. O canal é encoberto pela bolsa e é quase imperceptível. O canal da bolsa se insere no canal do oviduto na entrada do tegumento. Reto posicionado ao lado do canal do oviduto. Ducto de ligação curto insere-se na bolsa próximo ao canal da bolsa. O ducto de ligação se insere em uma região mais espessa (ou átrio) lateralmente, ou tem sua posição de inserção axilar em relação ao canal da bolsa (Figura 4; Tabela I). Músculo retrator do pênis origina-se aproximadamente na altura da região do pericárdio. O músculo retrator da glândula peniana pode apresentar duas origens: no tegumento ou no músculo retrator do pênis (Figura 5).

### **Sistema nervoso**

O conjunto de pares de nervos paliais e pediosos origina-se no anel periesofágico e seguem juntos por quase toda a extensão da cavidade corporal, no último quarto afastam-se e seguem assim por mais sete milímetros. São mantidos presos ao tegumento por fina membrana.

### **Sistema circulatório**

Do pericárdio partem três ramificações arteriais, o ramo aórtico se ramifica logo após a saída do coração, dando origem a artéria intestinal que segue até a região do estômago, onde o ramo aórtico assume uma inclinação de angulação de aproximadamente 45°, para então aproximar-se dos nervos paliais e pediosos e assim dividir-se em artéria pediosa anterior e posterior. A artéria pediosa anterior segue rente aos nervos até a região dos gânglios. A artéria pediosa posterior segue entre os pares de nervos até próximo à separação do conjunto de pares de nervos (Figura 4).

### **Glândula pediosa**

Glândula pediosa longa, achatada, de coloração amarela opaca com cicatrizes em seu corpo. Extremidade distal livre na cavidade corporal, com finos vasos arteriais (Figura 4).

### **Rádula e Mandíbula**

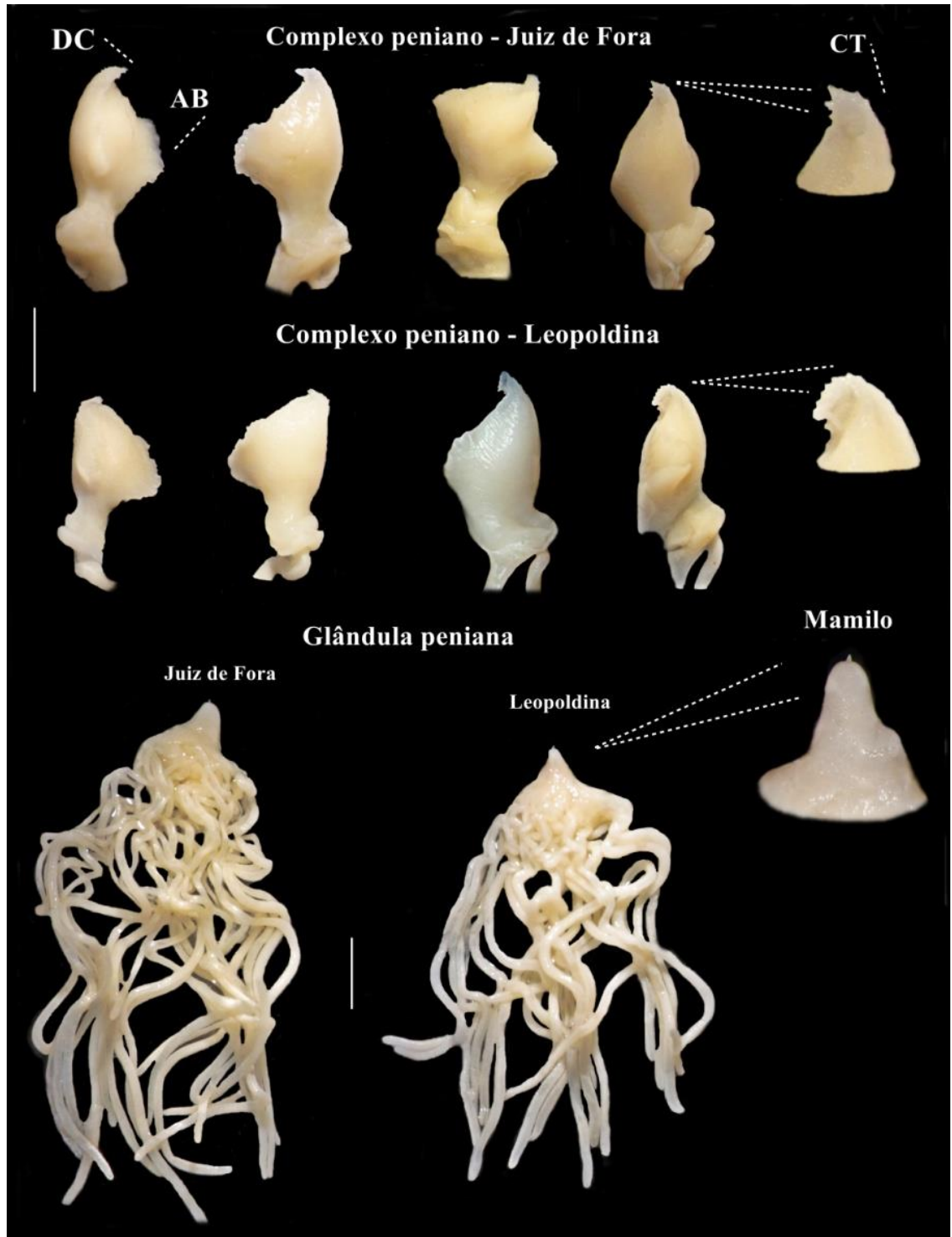
Mandíbula com 2,45mm de comprimento e 0,35mm de largura, localizada no dorso da região anterior do bulbo bucal, com coloração marrom, formada por 22 ripas unidas e dispostas sobre densa placa de cartilagem, o que lhe confere a forma de arco. Rádula com dentes unicúspides. Dente central raquidiano em forma de losango, com cúspide arredondada

e placa basal pouco desenvolvida em forma de pedúnculo (28,72 $\mu$ m de comprimento e 15,57 $\mu$ m de largura). Dentes laterais com cúspide lanceolada e placa basal desenvolvida e assimétrica, apresentando uma projeção em direção à fileira central da rádula (45,77 $\mu$ m de comprimento e 26,45 $\mu$ m de largura). Nos dentes laterais que flanqueiam a fileira central, essa projeção se articula com a placa basal do dente central (Figura 6).

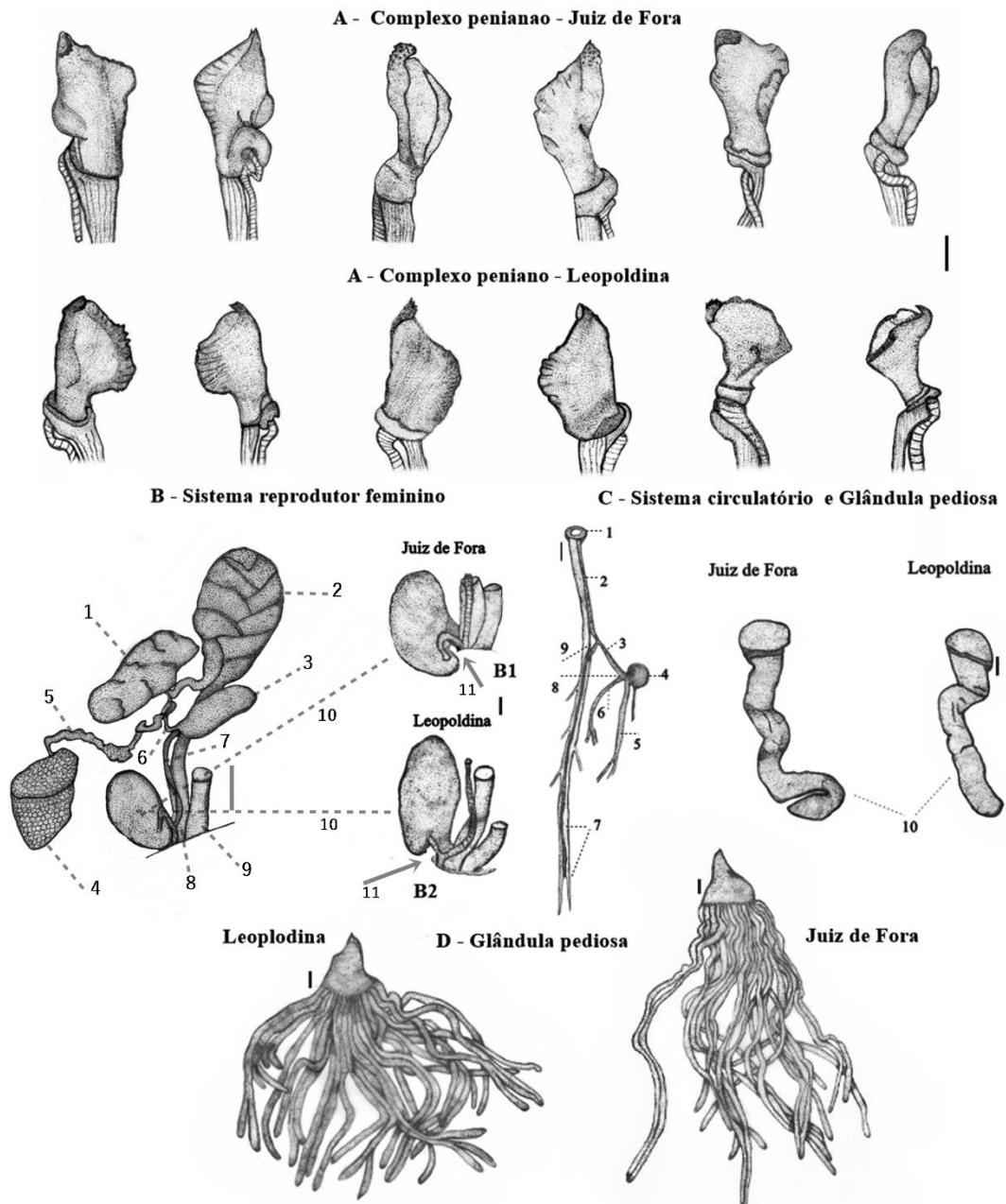


**Figura 2.** Morfologia externa da espécie *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) Nov. comb. das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina, Minas Gerais, Brasil. **Barra** = 10mm.

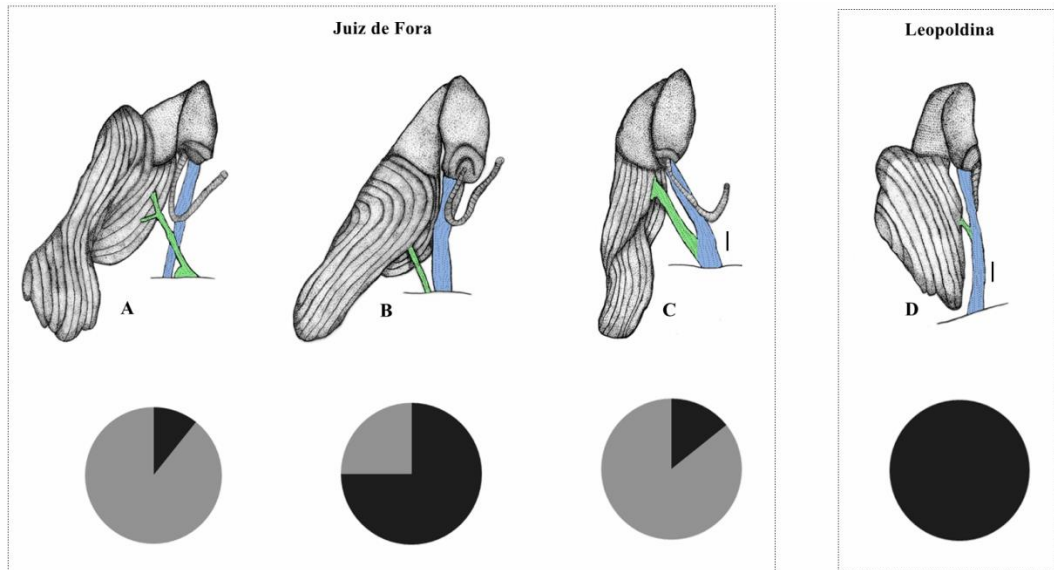





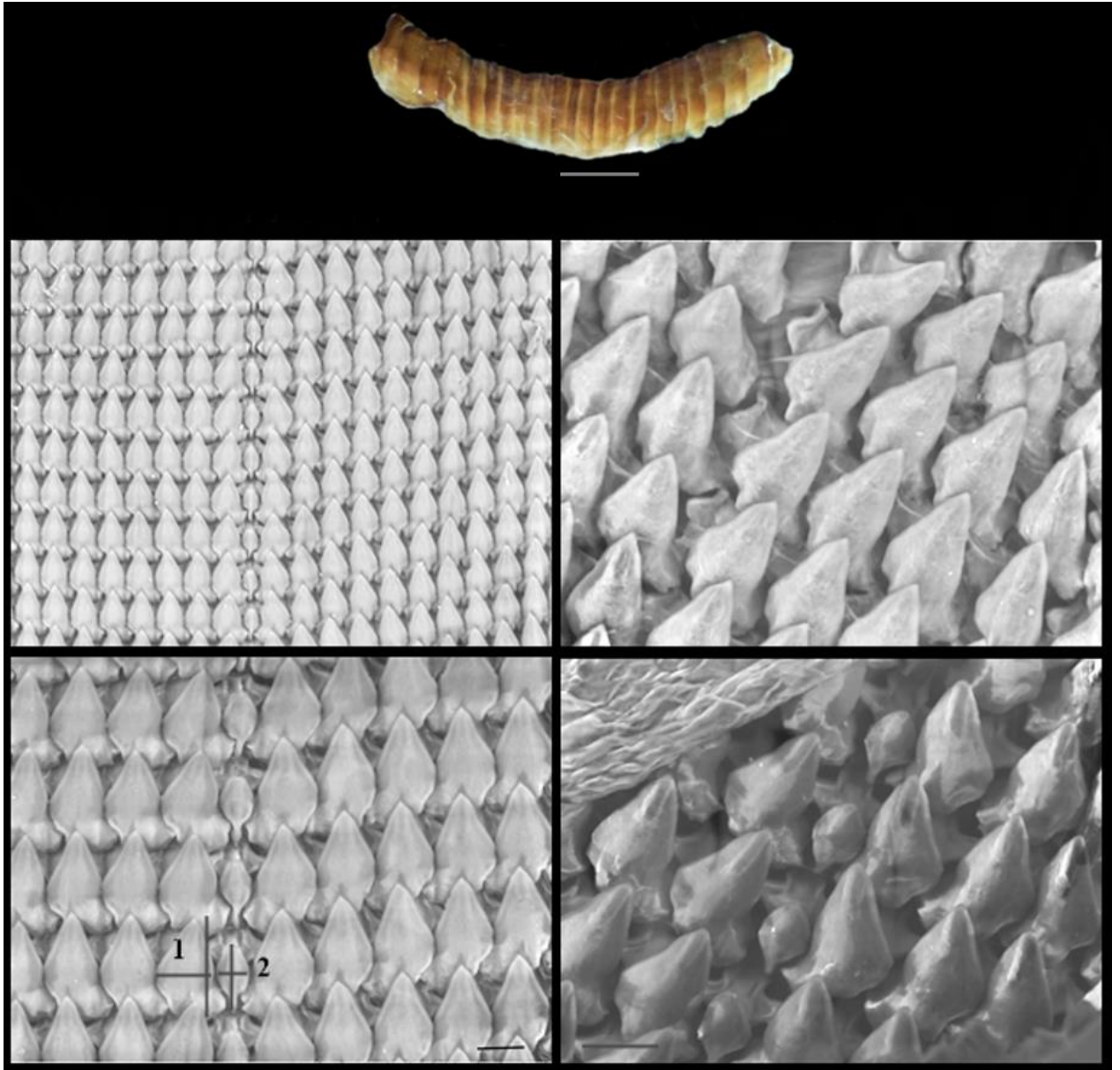
**Figura 3.** Morfologia do complexo peniano e glândula peniana de *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) Nov. comb., das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina, MG, Brasil. **DC:** dobramento claviforme, **CT:** cristas e tubérculos. **AB:** aba laminar. **Barra** = 2 mm.



**Figura 4.** Complexo peniano, glândula peniana, aparelho reprodutor feminino, sistema circulatório e glândula pediosa de *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) Nov. comb., das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina, MG, Brasil. **A.** Complexo peniano. **B.** aparelho reprodutor feminino (1: Glândula de albúmen, 2: oviduto, 3: próstata; 4: ovarioteste, 5: complexo de fertilização, vesícula seminal e ovulispermióducto; 6: ducto deferente posterior; 7: ducto deferente distal; 8: canal do oviduto, 9: reto, 10: bolsa de copulação. B1 e B2. Local de inserção do ducto de ligação na bolsa de copulação). **C.** Sistema circulatório e glândula pediosa (1: anel periesofágico, 2: artéria pediosa posterior, 3: aorta, 4: coração, 5 e 6: artéria intestinal, 7: conjunto de pares de nervos pediosos e paliais, 8: ângulo de abertura da artéria aorta em relação ao encontro com os nervos paliais e pediosos, 9: origem da artéria pediosa posterior, 10: glândula pediosa). **D.** Glândula peniana. **Barra** = 1 mm (complexo peniano, bolsa de copulação, glândula pediosa); **Barra** = 5 mm (sistema reprodutor feminino, sistema circulatório e glândula peniana).



**Figura 5.** *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) nov. comb.. Posição relativa do músculo retrator do pênis (em azul) e músculo retrator da glândula peniana (em verde) e origem do músculo retrator da glândula: origem no tegumento (A, B) e origem no músculo retrator peniano (C, D).  Porcentagem dos indivíduos analisados que apresentam o padrão morfológico descrito. Barra = 1 milímetro.



**Figura 6.** Mandíbula e rádula de *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) nov. comb. **1:** Medida do comprimento e largura do dente lateral ao raquidiano. **2:** Medida do comprimento e largura do dente central raquidiano. **Barra** = 20 $\mu$ m.

## Variabilidade morfológica interpopulacional

Foram verificadas diferenças significativas entre as duas populações estudadas, no comprimento do noto, largura do noto, largura do hiponoto direito e largura da sola (Tabela I). Em relação ao aparelho reprodutor masculino, foram verificadas diferenças significativas no comprimento, largura da base e perímetro do pênis. Também foram verificadas diferenças significativas no número total de túbulos e do número de túbulos bifurcados da glândula peniana, bem como no comprimento e largura dos túbulos e comprimento e largura da glândula pediosa. Não foram encontradas diferenças significativas entre o comprimento do músculo retrator do pênis, perímetro e altura da bolsa de copulação entre as duas populações. Não foi observada diferença significativa entre a razão comprimento do noto/comprimento do pênis, Houve diferença significativa entre a razão comprimento do noto/comprimento da glândula pediosa e comprimento do noto/comprimento dos túbulos da glândula peniana

Nos espécimes de Juiz de Fora a origem do músculo retrator peniano ocorre diretamente no tegumento do lado direito em 10,72% dos espécimes analisados (Figura 5A), ou esquerdo em 75% dos espécimes (Figura 5B), ou diretamente do músculo retrator do pênis em 14,28% dos espécimes (Figura 5C). Nos espécimes de Leopoldina, foi observado apenas origem no músculo retrator do pênis, entretanto o ponto de ramificação dos dois feixes musculares apresenta a particularidade de ser distante do tegumento (Figura 5D).

Nos espécimes da localidade de Juiz Fora, o ducto de ligação se insere na bolsa em uma região mais espessa e mais distal em relação ao canal da bolsa. Nos espécimes de Leopoldina, o ducto de ligação tem sua posição de inserção axilar em relação ao canal da bolsa (Figura 4; Tabela I).

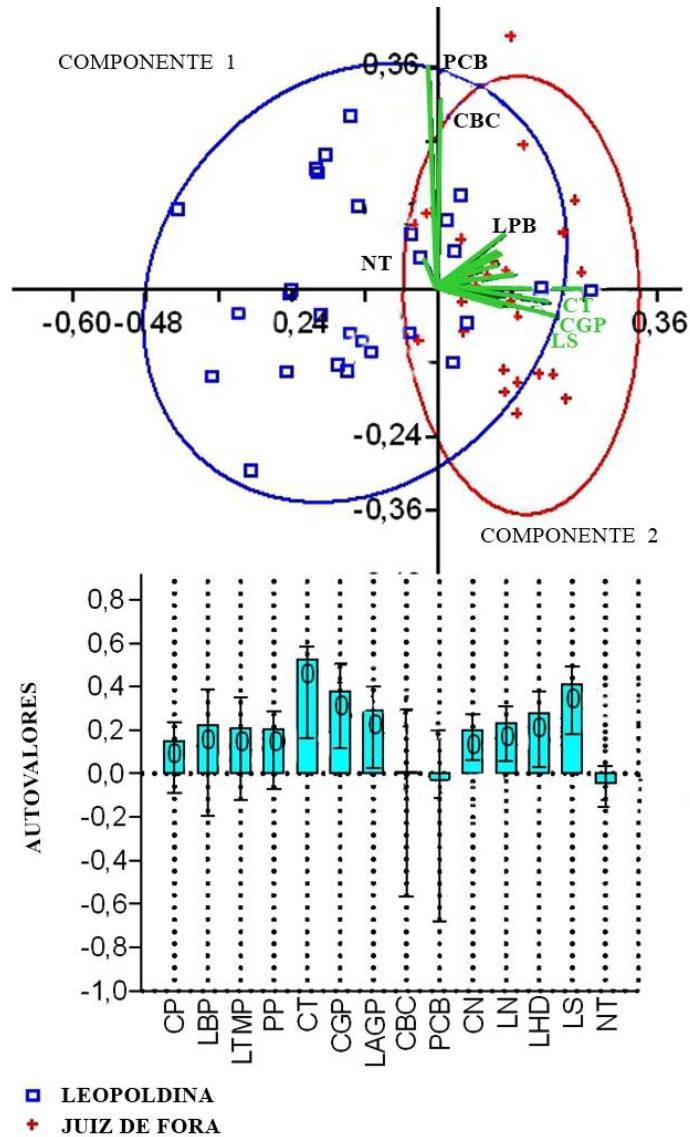
## Análise de Componentes Principais

De acordo com a análise de componentes principais realizadas para os dados morfométricos dos espécimes de *A. erinaceus* de Juiz de Fora e Leopoldina, os três primeiros eixos explicaram 68,14% da variação total entre os 14 componentes analisados. O primeiro eixo explicou 33,3% da variação total (comprimento dos túbulos) e o segundo e terceiro eixos (largura da sola e comprimento da glândula pediosa) explicaram respectivamente 19,69 e 15,41 % da variação encontrada (Tabela II; Figura 7)

**Tabela I.** Morfometria de *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) nov. comb. das localidades Leopoldina e Juiz de Fora. Medidas em milímetros.

Noto, hiponoto e sola					
Juiz de Fora (n=28)			Leopoldina (n=28)		
	Média ± desvio padrão (CV)	Intervalo	Média ± Desvio padrão	Amplitude	Teste de Tukey
CN	58,85 ± 6,16 (10,47%)	49 – 73	52,28 ± 5,39 (10,31%)	40 – 63	F=18,0; p=0,001
LN	23 ± 2,07 (9,01%)	19 – 27	20,32 ± 2,72 (13,47%)	14,5 – 26	F=18,2; p=0,001
LHD	10,42 ± 1,31 (12,63%)	07 – 13	8,88 ± 1,46 (16,5%)	06 – 12	F=17,11; p=0,001
LS	5,75 ± 0,58 (10,17%)	05 – 07	4,61 ± 0,92 (20,07%)	03 – 06	F=29,86; p=0,001
Complexo peniano					
CP	4,94 ± 0,5 (10,22%)	4,24 - 6,31	4,52 ± 0,66 (14,69%)	3,41 - 6,76	F=7,0; p=0,01
LBP	1,46 ± 0,28 (19,69%)	0,85 - 2,09	1,26 ± 0,3 (24,10%)	0,9 - 2	F=6,3; p=0,01
LTMP	2,56 ± 0,41 (16,26%)	1,82 - 3,54	2,47 ± 0,53 (21,62%)	1,52 - 3,74	F=0,5; p=0,47
PP	15,16 ± 1,51 (9,97%)	11,61 - 19,44	13,58 ± 2,23 (16,47%)	9,8 - 20,53	F=9,63; p=0,003
CMRP	6,71 ± 1,72 (25,62%)	3,15 - 11,38	7,69 ± 2,18 (28,39%)	2,24 - 12,69	F=3,4; p=0,06
Glândula peniana					
NT	21,35 ± 2,12 (9,97%)	17 - 27	22,92 ± 2,65 (11,56%)	18 – 30	F=5,97; p=0,02
CT	30,11 ± 3,22 (10,71%)	21 - 35,7	20,88 ± 3,47 (16,63%)	14,5 - 25,5	F=106,2; p=0,001
NTB	0,42 ± 0,69 (161,01%)	0 - 2	2,00 ± 1,53 (76,98%)	0 – 6	F=24,2; p=0,001
LT	0,45 ± 0,05 (11,80%)	0,32 - 0,6	0,34 ± 0,5 (13,56%)	0,34 - 0,5	F=10,6; p=0,001
Bolsa de copulação					
PBC	18,43 ± 5,5 (29,84%)	13,61 - 39,5	19,04 ± 4,3 (22,62%)	11 - 29,89	F=0,2; p=0,64
CBC	6,34 ± 1,4 (22,32%)	4,8 - 11,38	6,45 ± 1,4 (21,80%)	4 - 10,15	F=0,08; p=0,7
Glândula pediosa					
CGP	18,96 ± 2,88 (15,21%)	14 - 25,37	14,11 ± 2,06 (14,66%)	9,86 - 17,57	F=52,2; p=0,001
LAGP	2,65 ± 0,45 (17,09%)	1,78 - 3,85	2,38 ± 0,48 (20,57%)	1,59 - 3,29	F=6,28; p=0,01
Comprimento do notó/comprimento do pênis					
CN/CP	10,24 ± 1,39 (13,58%)	7,29 - 13,81	10,48 ± 1,65 (15,80%)	6,2 – 14,66	F=0,33; p=0,56
Comprimento do notó/comprimento dos túbulos da glândula do pênis					
CN/CT	1,67 ± 0,23 (13,73%)	1,59 - 3,44	2,29 ± 0,44 (19,53%)	1,59 - 3,44	F=41,91; p=0,001
Comprimento do notó/comprimento da glândula pediosa					
CN/CGP	2,68 ± 0,08 (16,86%)	1,77 - 3,86	3,34 ± 0,47 (14,20%)	2,54 - 4,72	F=27,7; p=0,001

**Legenda:** CN: comprimento do notó, LN: largura do notó; LHD: largura do hiponoto direito, LS: largura da sola na altura do poro sexual feminino, CP: comprimento do pênis, LBP: largura da base do pênis, LTMP: largura do terço mediano do pênis, PP: perímetro do pênis; CMRP: comprimento do músculo retrator do pênis; NT: número de túbulos da glândula peniana, CT: comprimento dos túbulos, NTB: número de túbulos com bifurcação; LT: largura dos túbulos, PBC: perímetro da bolsa de copulação, CBC: comprimento da bolsa de copulação, CGP: comprimento da glândula pediosa, LAGP: largura da abertura da glândula pediosa.



**Figura 7.** Análise de Componentes Principais, realizada a partir de dados morfométricos de *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) nov. comb. das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina. Gráfico de dispersão e autovalores dos 14 componentes analisados. **CN:** comprimento do noto, **LN:** largura do noto; **LHD:** largura do hiponoto direito, **LS:** largura da sola na altura do poro sexual feminino, **CP:** comprimento do pênis, **LBP:** largura da base do pênis, **LTMP:** largura do terço mediano do pênis, **PP:** perímetro do pênis; **NT:** número de túbulos da glândula peniana, **CT:** comprimento dos túbulos, **PBC:** perímetro da bolsa de copulação, **CBC:** comprimento da bolsa de copulação, **CGP:** comprimento da glândula pediosa, **LAGP:** largura da abertura da glândula pediosa.

**Tabela II.** Variância e autovalores de 14 componentes da morfometria de *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) nov. comb., das localidades de Juiz de Fora e Leopoldina.

Componentes	Autovalores		Variância
	Eixo 1	Eixo 2	
CT	0,5237	-0,00374	33,309
LS	0,4118	-0,09433	19,69
CGP	0,3769	-0,04716	15,417
LAGP	0,2905	0,05472	8,5787
LHD	0,2763	-0,02135	5,2368
LN	0,232	-0,06173	4,9222
LBP	0,222	0,1786	3,8279
LTMP	0,2068	0,1184	2,8501
PP	0,2056	0,08234	1,9305
CN	0,1991	-0,03012	1,5741
CP	0,1501	0,07057	0,86357
CBC	0,006981	0,6298	0,83667
PCB	-0,03168	0,7189	0,55758
NT	-0,04451	0,09781	0,4058
Total			99,9

**Legenda.** CN: comprimento do noto, LN: largura do noto; LHD: largura do hiponoto direito, LS: largura da sola na altura do poro sexual feminino, CP: comprimento do pênis, LBP: largura da base do pênis, LTMP: largura do terço mediano do pênis, PP: perímetro do pênis; NT: número de túbulos da glândula peniana, CT: comprimento dos túbulos, PBC: perímetro da bolsa de copulação, CBC: comprimento da bolsa de copulação, CGP: comprimento da glândula pediosa, LAGP: largura da abertura da glândula pediosa.

### Notas taxonômicas sobre os gêneros *Angustipes* e *Latipes*

No presente estudo, através da análise das características morfológicas descritas para 20 espécies de *Angustipes* e *Latipes*, propomos a redefinição dos gêneros, elegendo como caracteres mais relevantes para a sua distinção a forma do pênis, que é longo e cilíndrico em *Latipes* e curto e cônico em *Angustipes*; o canal da bolsa de copulação longo em *Latipes* e curto ou sésil em *Angustipes* e a posição da entrada do ducto de ligação na bolsa de copulação em relação ao canal da bolsa, que é distante do canal em *Latipes* e próximo ao canal em *Angustipes*. Dentre as espécies incluídas no gênero *Angustipes* e *Latipes* por Thomé (1975; 1981) e Thomé & Gomes (1999), *A. ameghini* foi considerada não mais passível de recaracterização devido à má conservação do holótipo e ausência de pranchas ilustrativas da espécie (Thomé, 1970; 1981). Para a espécie *A. paraguensis*, poucas informações foram fornecidas por Simroth (1914) e, portanto, no presente estudo, apenas a bolsa de copulação pôde ser caracterizada. A espécie *L. antillarum* foi colocada em sinonímia com *S. marginata* (Semper, 1885) e *L. nesiotis* transferida para o gênero *Diplosolenodes* (Thomé, 1989; Thomé



& Gomes, 1999) e *A. missionis* foi colocada em sinonímia com *A. difficilis* (Santin & Miquel, 2015). No presente estudo, as demais espécies desses dois gêneros e as novas combinações para o gênero *Angustipes* propostas foram revisadas e comparadas quanto à morfologia do sistema reprodutor masculino e feminino, assim como sua distribuição geográfica.

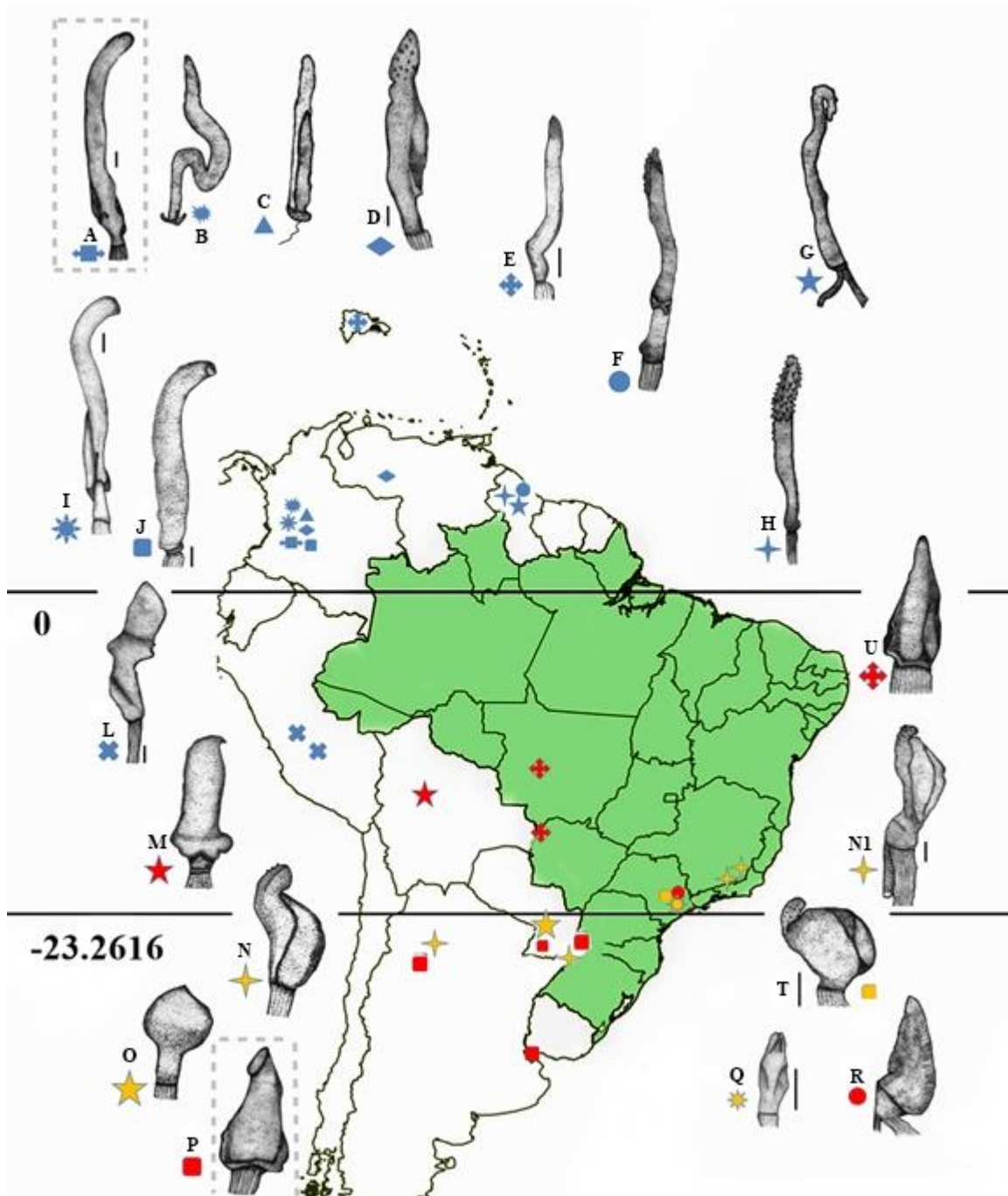
O pênis das espécies dos gêneros *Angustipes* apresenta glândula apoiada sobre uma base curta. No primeiro terço ou no terço mediano, o pênis apresenta-se alargado para depois se estreitar, o que lhe confere a forma cônica. Ornamentações, tais como tubérculos, espinhos ou nervuras podem estar presentes ou ausentes. As espécies do gênero *Latipes* apresentam pênis de aspecto longo e fino assentado sobre um curto soquete, cilíndrico, com exceção de *L. lisei*, que apresenta glândula assentada sobre soquete longo. Ornamentações tais como tubérculos, espinhos ou nervuras podem estar presentes ou ausentes (Tabela III; Figura 8).

Os dados sobre a distribuição das espécies de *Angustipes* e *Latipes* evidenciam que aquelas com morfologia do pênis cilíndrico alongado, todas pertencentes ao gênero *Latipes*, apresentam distribuição em torno da linha do Equador, predominantemente em latitudes positivas com a amplitude entre -11.0000 a 7.0000. As espécies caracterizadas pela presença de pênis cônico, incluindo as espécies do gênero *Angustipes* e as novas combinações propostas no presente estudo, *A. erinaceus nov.comb.*, *A. rosilus nov.comb.*; *A. ribeirensis nov.comb.* e *A. absumptus nov.comb.* estão distribuídas mais ao Sul, da América do Sul, entre as latitudes -16.0000 e - 27.0000 (Tabela IV; Figura 8).

**Tabela III.** Descrição da morfologia do pênis e da glândula peniana das espécies incluídas nos gêneros *Angustipes* e *Latipes*.

Espécies	Pênis		Origem do músculo retrator do pênis	Papila da glândula peniana	Referências
	Morfologia	Comprimento			
<i>A. morii</i>	Cônico	Médio	Não descrito	Periforme	Colosi (1923)
<i>A. robustus</i>	Cônico	Médio	Distante da bolsa de copulação	Cônica e não aguda	Colosi (1923)
<i>A. difficilis</i>	Cônico	Médio	Distante da bolsa de copulação	Cônica e acuminada com mamilo	Colosi (1923), Santin & Miquel (2015)
<i>A. tarsiai</i>	Cônico	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Coifmann (1934)
<i>A. paraguensis</i>	Cônico	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Simroth (1914)
<i>L. erinaceus</i>	Cônico	Curto	Distante da bolsa de copulação	Papila com mamilo	Presente estudo
<i>L. absumptus</i>	Cônico	Curto	Distante da bolsa de copulação	Cônica com mamilo	Colosi (1923)
<i>L. ribeirensis.</i>	Cônico	Não descrito	Não descrito	Sem mamilo	Thomé (1969)
<i>L. rosilus.</i>	Cônico	Não descrito	Não descrito	Com mamilo	Thomé (1969)
<i>L. beccarii</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo da bolsa de copulação	Não descrito	Coifmann (1935)
<i>L. pullus</i>	Cilíndrico alongado	Médio	Distante da bolsa de copulação	Com mamilo	Baker (1926)
<i>L. cnidicaulis</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo à bolsa de copulação	Não descrito	Baker (1926)
<i>L. lisei</i>	Cilíndrico alongado	Não descrito	Não descrito	Cônica romba	Thomé e Gomes, (1999)
<i>L. Montana</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo da bolsa de copulação	Não descrito	Simroth (1914)
<i>L. alticolus</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo da bolsa de copulação	Não relata	Simroth (1914)
<i>L. pterocaulis</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo da bolsa de copulação	Cônica, sem mamilo,	Thomé (1971)
<i>L. longicaulis</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo da bolsa de copulação	Cônica, sem mamilo	Thomé (1970)
<i>L. punctata</i>	Cilíndrico alongado	Não descrito	Não descrito	Cilindro-cônica, com ponta romba	Thomé (1970)
<i>L. punctatissima</i>	Cilíndrico alongado	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Thomé (1979)
<i>L. cordillerae</i>	Cilíndrico alongado	Longo	Próximo da bolsa de copulação	Não descrito	Thomé (1989)

**Legenda.** Dados coletados a partir de pesquisa em artigos.



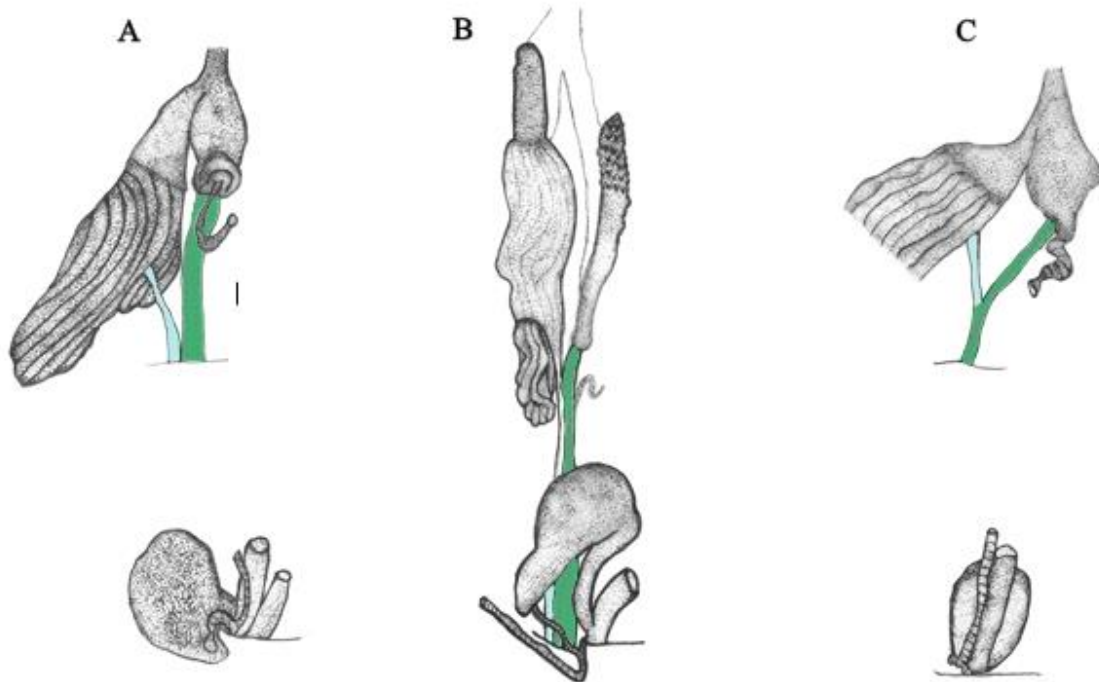
**Figura 8.** Distribuição geográfica e morfologia peniana das espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes*. **A:** *L. longicaulis*, modificada de Thomé (1970); **B e C:** *L. montana* e *L. alticola*, modificados de Simroth (1914); **D:** *L. pterocaulis*, modificada de Thomé (1971); **E:** *L. punctatissima*, modificada de Thomé (1979); **F e H:** *L. pullus* e *L. cnidicaulis*, modificadas de Baker (1926); **G:** *L. beccari*, modificada de Coifmann (1935); **I:** *L. cordillerae*, modificada de Thomé (1989); **J:** *L. punctata*, modificada de Thomé (1970); **L:** *L. lisei*, modificada de Thomé & Gomes (1999); **M:** *A. morii*; **N:** *A. erinaceus nov.comb.*; **O:** *A. absumptus nov.comb.* e **P:** *A. difficilis* modificadas de Colosi (1922); **Q e S:** *L. ribeirensis* e *L. rosilus.*, modificadas de Thomé (1969); **R:** *A. tarsiai*, modificada de Coifmann (1934); **N1:** *A. erinaceus* presente estudo; **T:** *A. robustus*, modificada de Colosi (1922). Barra = 1 mm. Imagens sem barras foram adaptadas de figuras sem escala. Símbolos em azul: espécies do gênero *Latipes*. Símbolos em vermelho: espécies do gênero *Angustipes*. Símbolos em amarelo: novas combinações propostas no presente estudo. ( - - - - - ) espécies-tipo dos gêneros *Angustipes* e *Latipes*.

**Tabela IV.** Localidades de ocorrência das espécies incluídas nos gêneros *Angustipes* e *Latipes*.

Espécies	Localidade	País	Latitude *	Longitude*	Referências
<i>Angustipes difficilis</i>	Tucumán	Argentina	-26.783405	-65.328285	Colosi (1922)
	Punta Lara	Argentina	-34.82541	-57.96844	GBIF
	Assunción	Paraguai	-25.320441	-57.465738	GBIF
	Misiones	Argentina	-26.829425	-54.118440	Colosi (1922)
<i>Angustipes robustus</i>	Carandazinho	Brasil	-16.483235	-56.059004	Colosi (1922)
	Corumbá	Brasil	-19.054029	-57.601423	Colosi (1922)
<i>Angustipes tarsiai</i>	São Paulo	Brasil	-23.723908	-46.322701	Coifmann (1934)
<i>Angustipes morii</i>	San Francisco	Bolívia	-15.988208	-65.856525	Colosi (1922)
<i>Angustipes paraguensis</i>	Paraguai	Paraguai	-22.016079	-58.59117	Simroth (1914)
<i>Latipes erinaceus</i>	Tucumán	Argentina	-26.830730	-65.188206	Colosi (1922)
	Misiones	Argentina	-26.829425	-54.118440	Santin & Miquel (2015)
	Juiz de Fora	Brasil	-21.773975	-43.369040	Presente estudo
	Leopoldina	Brasil	-21.528763	-42.621186	Presente estudo
<i>Latipes ribeirensis</i>	São Paulo	Brasil	-23.366365	-46.517708	Thiele (1927)
					Thomé (1969)
<i>Latipes rosilus</i>	Perus	Brasil	-23.404948	-46.755440	Thiele (1927)
					Thomé (1969)
<i>Latipes absumptus</i>	Asunción	Paraguai	-25.320441	-57.465738	Colosi (1922)
<i>Latipes pterocaulis</i>	Mérida	Venezuela	6.212775	-64.734495	Thomé (1971)
	Colômbia	Colômbia	4.772867	-74226523	Thomé (1971)
<i>Latipes cordillerae</i>	Argélia Cafetal Sibaté D.	Colômbia	4.609662	-74.146235	Simroth (1914)
					Thomé (1979)
<i>Latipes longicaulis</i>	Cundinamarca La Union P.	Colômbia	4.484578	-74.274178	Thomé (1970)
<i>Latipes punctata</i>	Chingasa	Colômbia	4.555872	-73.719582	Thomé (1970)
<i>Latipes alticolus</i>	Paiomo Cruz	Colômbia	4.662446	-74.069461	Simroth (1914)
<i>Latipes Montana</i>	Tambo	Colômbia	4.603655	-74.155924	Simroth (1914)
	Boca Del Monte	Colômbia	4.320851	-74.284320	Simroth (1914)
<i>Latipes punctatissima</i>	Porto Rico	Antilhas	18.206125	-67.112415	Thomé (1989)
<i>Latipes beccarii</i>	Rio Demerara	Guiana	5.948615	-58.414015	Coifmann (1935)
<i>Latipes lisei</i>	Sahuayaco Valle de	Peru	-12.347232	-72.454582	Thomé e Gomes (1999)
	Chanchamayo	Peru	-11.107516	-75.333951	Thomé <i>et al.</i> (2001)
<i>Latipes cnidicaulis</i>	Kamakusa	Guiana I.	5.689516	-60.138826	Baker (1926)
<i>Latipes pullus</i>	Não relatado	Guiana I.	6.816336	-58.161646	Baker (1926)

**Legenda.**\*Coordenadas geográficas obtidas pelo Google maps, baseadas na literatura e registros no Global Biodiversity Information facility (GBIF).

O músculo retrator do pênis das espécies incluídas em *Angustipes*, incluindo *A.erinaceus* e *A. absumptus* nov. comb., origina-se na altura do pericárdio ou acima deste. As espécies do gênero *Latipes* apresentam músculo retrator longo com origem na região próxima à bolsa de copulação. Para as espécies *L. lisei*, *L. punctata* e *L. punctatissima*, a origem do músculo retrator não foi descrita e em *L. pullus*, a origem do músculo ocorre próximo à região do pericárdio (Tabela III; Figura 9).



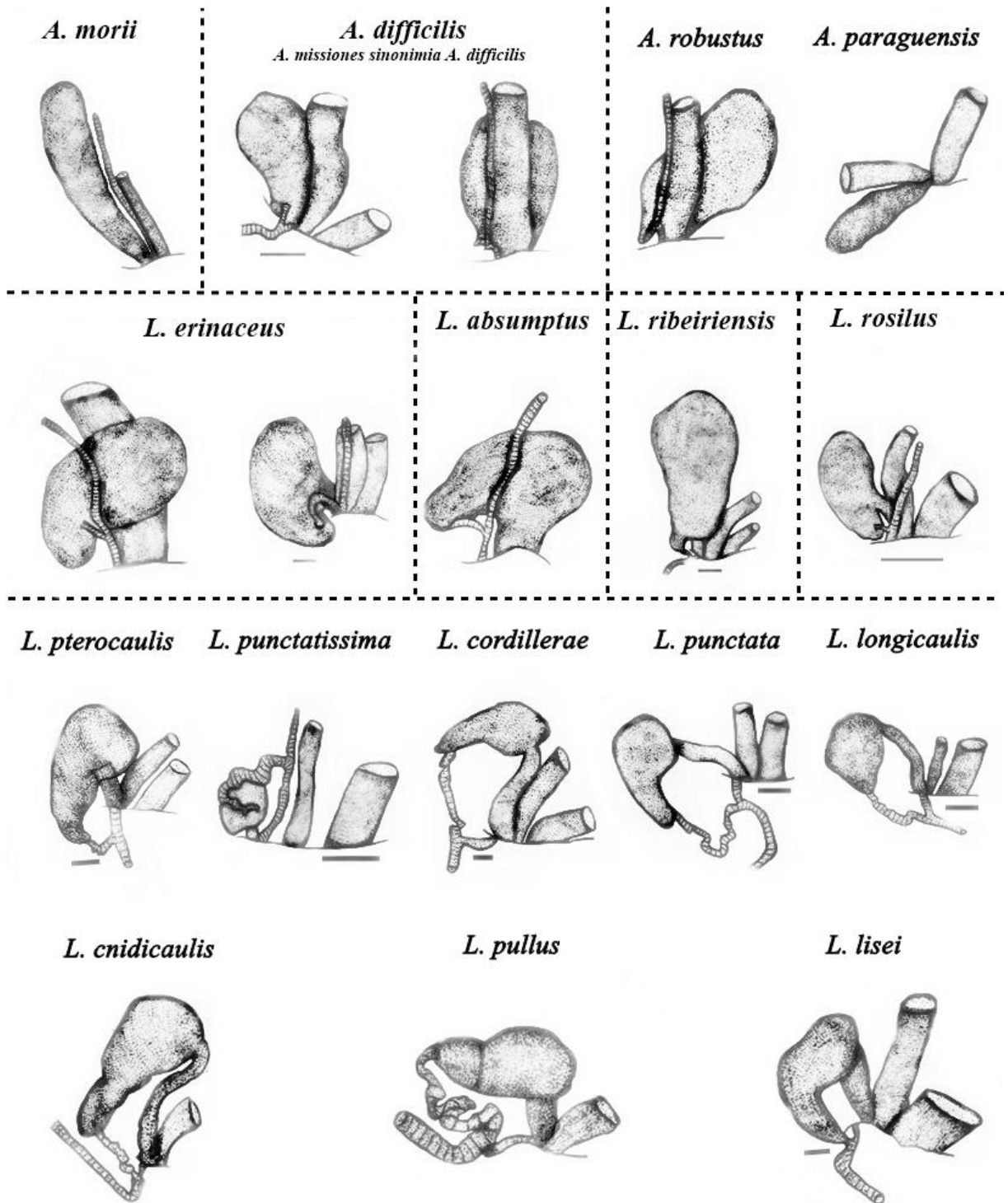
**Figura 9.** Origem do músculo retrator do pênis em relação à bolsa de copulação. **A:** *Angustipes erinaceus* (Colosi, 1921) nov. comb. (presente estudo), origem do músculo retrator do pênis distante da bolsa de copulação. **B:** *Latipes cnidicaulis* origem do músculo retrator do pênis abaixo da bolsa de copulação. **C:** *Angustipes difficilis*, origem do músculo retrator do pênis distante da bolsa de copulação. **Barra** = 1 mm. B e C foram adaptados de Baker (1926) e Colosi (1922), respectivamente e não havia escala no desenho original.

As espécies de *Angustipes*, incluindo as novas combinações propostas no presente estudo, apresentam bolsa de copulação globular ou piriforme, com entrada do ducto de ligação próximo ao canal, ducto de ligação curto, canal da bolsa curto ou sésil e sem expansão digitiforme. Apenas *A. ribeiriensis* nov. comb. apresenta expansão digitiforme, entretanto, como as demais espécies de *Angustipes*, *A. ribeiriensis* apresenta ducto de ligação curto, com entrada próxima ao canal e canal da bolsa curto. A bolsa de copulação das espécies de *Latipes* apresenta forma globular ou piriforme, com entrada do ducto de ligação em posição distante do canal, ducto de ligação longo com expansão digitiforme (Tabela V; Figura 10).

**Tabela V.** Morfologia da bolsa de copulação, ducto de ligação e canal da bolsa de espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes*.

Espécies	Forma da Bolsa	Entrada do ducto de ligação na bolsa	Comprimento do ducto de ligação	Canal da bolsa	Expansão digitiforme na bolsa	Referências
<i>A. morii</i>	Alongado	Próximo à base	Curto	Séssil	Ausente	Colosi (1922)
<i>A. difficilis</i>	Globular	Próximo ao canal	Curto	Séssil, curto	Ausente	Colosi (1922), Santini & Miguel (2015)
<i>A. robustus</i>	Reniforme	Próximo ao canal	Curto	Curto	Ausente	Colosi (1922)
<i>A. paraguensis</i>	Globular, alongada	“Não visível”	Não descrito	Séssil	Não descrito	Shimroth (1914)
<i>A. tarsiai</i>	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Coifmann (1934)
<i>L. erinaceus</i>	Reniforme	Próximo do canal, axilarmente ao canal	Curto	Curto	Ausente	, presente estudo
<i>L. absumptus</i>	Globular	Próximo ao canal	Curto	Curto, escondido atrás da bolsa	Ausente	Colosi (1922)
<i>L. ribeirensis</i>	Piriforme	Próximo do canal	Curto	Curto	Presente	Thomé (1969)
<i>L. rosilus</i>	Reniforme	Próximo ao canal	Curto	Curto	Ausente	Thomé (1969)
<i>L. pterocaulis</i>	Piriforme	Distante do canal	Longo	Longo	Presente	Thomé (1972)
<i>L. punctatissima</i>	Globular	Distante do canal	Longo	Não descrito	Não descrito	Thomé (1989)
<i>L. cordillerae</i>	Piriforme	Distante do canal	Longo	Longo	Presente	Thomé (1979)
<i>L. punctata</i>	Piriforme – globular	Distante do canal	Longo	Longo	Presente	Thomé (1970)
<i>L. longicaulis</i>	Piriforme – ovoide	Distante do canal	Curto	Longo	Presente	Thomé (1970)
<i>L. cnidicaulis</i>	Piriforme	Distante do canal	Médio	Longo	Presente	Baker (1926)
<i>L. pullus</i>	Piriforme	Distante do canal	Longo	Longo	Presente	Baker (1926)
<i>L. lisei</i>	Globular	Distante do canal	Curto	Longo	Presente	Thomé e Gomes (1999)
<i>L. Montana</i>	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Shimroth (1914)
<i>L. alticolus</i>	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Shimroth (1914)
<i>L. beccarii</i>	Alongado	Distante do canal	Longo	Longo	Não descrito	Coifmann (1935)

**Legenda.** Dados coletados a partir de pesquisa em artigos.



**Figura 10.** Bolsa de copulação e anexos (ducto deferente distal, ducto de ligação, canal da bolsa, canal do oviduto e reto) de espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes*. *Angustipes morii*, modificada de Colosi (1922); *A. missiones*, modificada de Thomé (1981); *A. difficilis* e *A. robustus*, modificadas de Colosi (1922); *A. paraguensis*, modificada de Simroth (1914); *A. erinaceus* nov. comb. modificada de Colosi (1922); *A. erinaceus* nov. comb., presente estudo; *A. absumptus* nov. comb. modificada de Colosi (1922); *A. ribeiriensis* nov. comb. e *A. rosilus* nov. comb., modificadas de Thomé, (1969); *L. pterocaulis*, modificada de Thomé (1972); *L. punctatissima*, modificada de Thomé (1989); *L. cordillerae*, modificada de Thomé (1979); *L. punctata* e *L. longicaulis*, modificadas de Thomé (1970); *L. cnidicaulis* e *L. pullus*, modificadas de Baker (1926); *L. lisei*, modificada de Thomé & Gomes (1999). Barra = 1 mm. Imagens sem barras foram adaptadas de figuras sem escala. (-----) Novas combinações propostas no presente estudo.

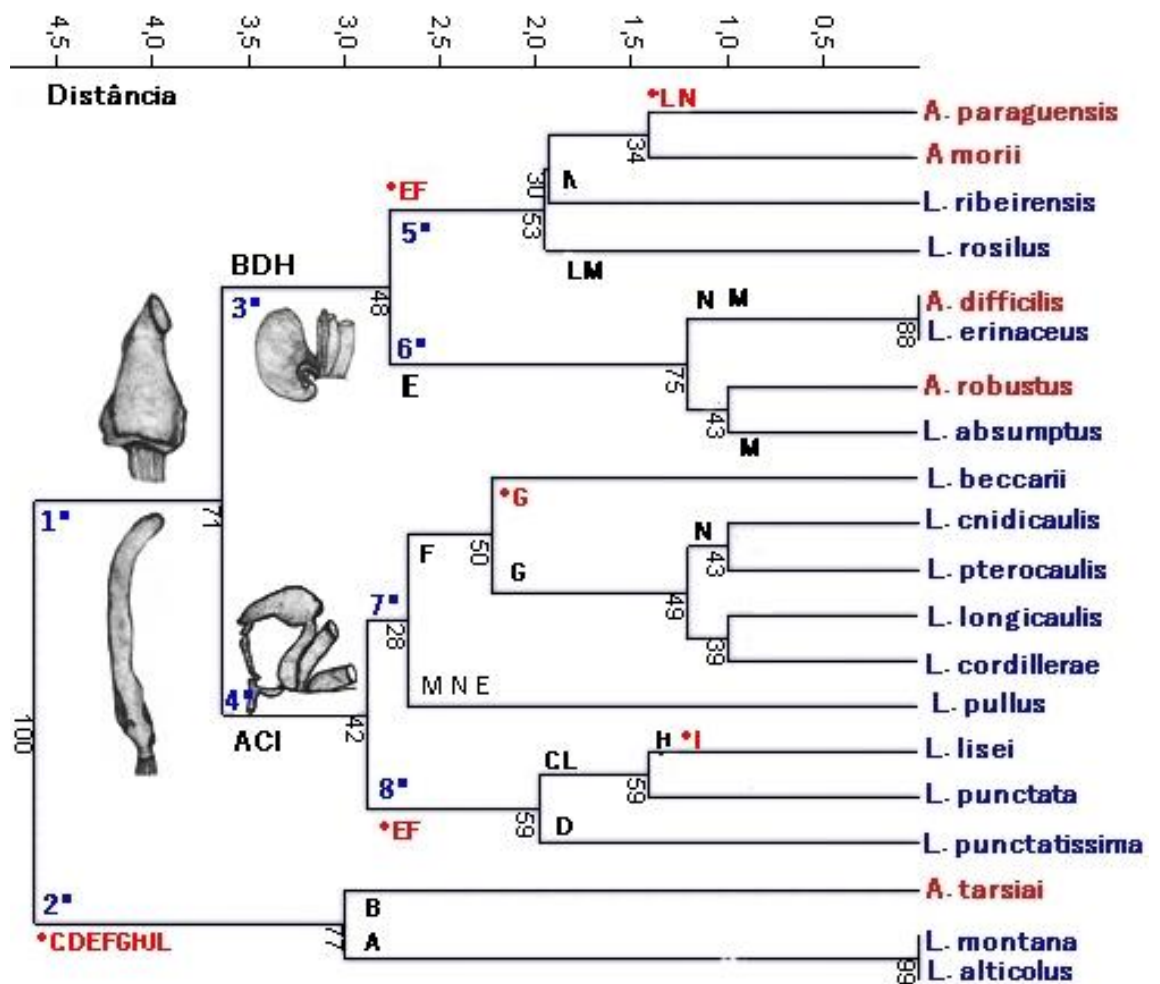
**Tabela VI.** Matriz de caracteres morfológicos dos gêneros *Angustispes* e *Latipes*

	<i>A morii</i>	<i>A. robustus</i>	<i>A. difficilis</i>	<i>A. tarsiai</i>	<i>A. paraguensis</i>	<i>L. erinaceus</i>	<i>L. absumptus</i>	<i>L. ribeirensis</i>	<i>L. rosilus</i>	<i>L. beccarii</i>	<i>L. pullus</i>	<i>L. enidicaulis</i>	<i>L. lisei</i>	<i>L. montana</i>	<i>L. alticolus</i>	<i>L. pterocaulis</i>	<i>L. longicaulis</i>	<i>L. punctata</i>	<i>L. punctatissima</i>	<i>L. cordillerae</i>
<b>A</b> Pênis alongado e cilíndrico.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b>B</b> Pênis curto e cônico.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>C</b> Canal da bolsa de copulação longo.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2
<b>D</b> Canal da bolsa curto ou sésil.	2	2	2	0	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0	1	1	1	2	1
<b>E</b> Origem do músculo retrator do pênis próximo à altura do pericárdio ou acima deste.	0	2	2	0	0	2	2	0	0	1	2	1	0	1	1	1	1	0	0	1
<b>F</b> Origem do músculo retrator do pênis próximo à altura da bolsa de copulação ou atrás do canal da bolsa de copulação.	0	1	1	0	0	1	1	0	0	2	1	2	2	0	0	2	2	0	0	2
<b>G</b> Expansão digitiforme onde o ducto de ligação insere-se a bolsa	1	1	1	0	1	1	1	2	1	0	1	2	2	0	0	2	2	2	1	2
<b>H</b> Ducto de ligação curto.	2	2	2	0	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
<b>I</b> Ducto de ligação longo.	1	1	1	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2
<b>J</b> Ducto de ligação insere-se a bolsa distante do canal da bolsa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	0	0	2	2	2	2	2
<b>L</b> Ducto de ligação insere-se a bolsa de copulação, próximo ao canal da bolsa ou próximo à base.	2	2	2	0	2	2	2	2	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
<b>M</b> Papila da glândula peniana com mamilo.	1	1	2	0	0	2	2	1	2	0	2	0	1	0	0	1	1	1	0	0
<b>N</b> Ornamentações em forma de crista, tubérculos, ou plataforma arredondada.	1	1	2	1	0	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	1	1	1	1

**Legenda.** Letras: características morfológicas 0= ausência de informação sobre o caráter para a espécie, 1=ausência do caráter, 2=presença do caráter.

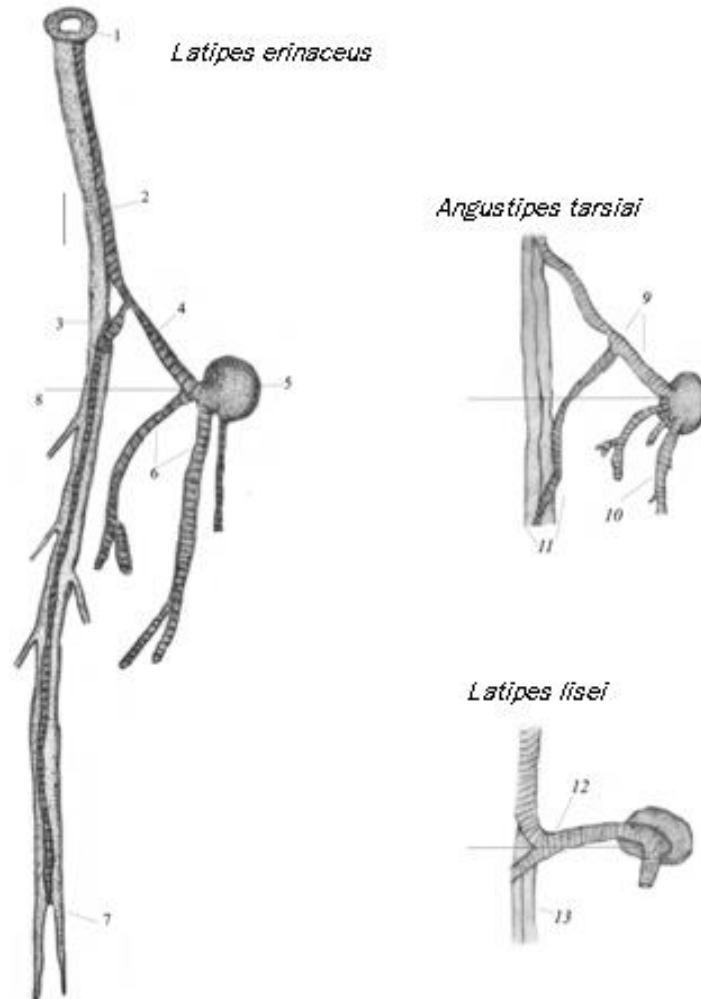


A análise de agrupamentos, baseada em caracteres morfológicos das espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes* evidenciou a separação dos dois taxons pela presença de pênis cônico e curto em *Angustipes* e pênis cilíndrico em *Latipes*. As espécies propostas como novas combinações foram agrupadas no gênero *Angustipes*, sendo que *A. erinaceus nov. comb.*, *A. rosilus nov. comb.*, *A. absumptus* e *A. difficilis* apresentam em ramificações terminais papila com mamilo e são separadas pela presença ou ausência de ornamentações no pênis (Tabela VII, Figura 11).



**Figura 11.** Análise de agrupamentos com 10.000 replicações, incluindo a distância Euclidiana e o Coeficiente Cofenético das características morfológicas de espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes* descritos na Tabela VI. \* características não descritas para a espécie.

Não foi possível definir as características do sistema circulatório de *Angustipes* e *Latipes*, uma vez que só existe informação para três espécies *A. tarsiai*, *Latipes erinaceus* e *L. lisei* (Figura 12).



**Figura 12.** Sistema circulatório e pares de nervos de *Angustipes erinaceus* nov. comb. (presente estudo); *A. tarsiai*, modificada de Coifmann (1934); *L. lisei*, modificada de Thomé & Gomes (1999). **1:** anel periesofágico; **2:** artéria pediosa posterior; **3:** artéria pediosa inferior; **4:** artéria aorta; **5:** coração; **6:** artéria intestinal; **7:** conjunto de pares de nervos pediosos e paliais e posição do distanciamento dos nervos; **8:** ângulo de abertura da artéria aorta em relação ao encontro com os nervos paliais e pediosos; **9:** artéria aorta e divisão em artéria pediosa inferior e posterior de *A. tarsiai*; **10:** artéria intestinal; **11:** ramo da artéria pediosa anterior entre pares de nervos pediosos e paliais; **12:** aorta e divisão em artéria pediosa anterior e posterior e local da inserção da artéria pediosa posterior no tegumento de *L. lisei*. **13:** nervos pediosos e paliais. **Barra** = 10 mm. Imagens sem barras foram adaptadas de figuras sem escala.

Do total de vinte espécies do gênero *Angustipes* e *Latipes*, treze foram descritas com base em um único espécime, os demais entre dois a onze espécimes. Existe informação sobre o comprimento do pênis para apenas sete espécies e informação sobre o número de túbulos da glândula peniana, largura do hiponoto direito e largura da sola para 17 espécies (Tabela VII).

**Tabela VII.** Dados quantitativos e morfométricos do pênis, sola, hiponoto e túbulos da glândula peniana, descritos para as espécies dos gêneros *Angustipes* e *Latipes*.

Espécies	N	Pênis		Sola	Hiponoto direito	Túbulos da glândula peniana		Referências
		C Mm	L Mm	L Mm	L Mm	N	C mm	
<i>A. morii</i>	6	-	-	3,5	5,5	20	-	Colosi (1922)
<i>A. difficilis</i>	1	-	-	3	-	13- 22	-	Colosi (1922), Santini & Miguel (2015). Colosi (1922)
<i>A. robustus</i>	4	-	-	6	10,5	20	-	Colosi (1922)
<i>A. paraguensis</i>	1	-	-	13	15	14	-	Shimroth (1914)
<i>A. tarsiai</i>	1	-	-	-	-	-	-	Coifman (1934)
<i>A. erinaceus</i> nov.comb.	1	-	-	4	-	14	-	Colosi (1922)
<i>A. absumptus</i> nov. comb.	1	-	-	3,5	6,5	24	-	Colosi (1922)
<i>A. ribeirensis</i> nov. comb.	3	3,5	2	5	7	13	12	Thomé (1969)
<i>A. rosilus</i> nov. comb.	1	1,7	0,7	3,2	4,1	12	5	Thomé (1969)
<i>L. pterocaulis</i>	3	11	2	7	6	19	8 – 11	Thomé (1972)
<i>L. punctatissima</i>	11	-	-	9	7,5	-	-	Thomé (1989)
<i>L. cordillerae</i>	1	16	1,6	6	9	-	-	Thomé (1979)
<i>L. punctata</i>	6	11,5	1,7	6,9	6,9	17	6	Shimroth (1914) Thomé (1970)
<i>L. longicaulis</i>	2	17,5	2	5,5	7	12	9	Thomé (1970)
<i>L. cnidicaulis</i>	1	-	-	8	10,8	16	-	Baker (1926)
<i>L. pullus</i>	1	-	-	9	18,3	17	-	Baker (1926)
<i>L. lisei</i>	1	-	-	3,4	5,2	10	48	Thomé e Gomes (1999)
<i>L. montana</i>	2	-	-	6	9	12	-	Shimroth (1914)
<i>L. alticolus</i>	1	-	-	4	6,5	16	-	Shimroth (1914)
<i>L. beccarii</i>	1	-	-	5	6,5	15	-	Coifmann (1935)

**Legenda.** N: número de espécimes utilizados para a descrição da espécie. n: número de túbulos.  
C: comprimento. L: largura.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, através da análise das características morfológicas descritas para 20 espécies de *Angustipes* e *Latipes*, propomos a redefinição dos gêneros. Nós nos baseamos nas descrições originais das espécies e nos trabalhos taxonômicos nos quais os autores reexaminaram os tipos disponíveis, tendo em vista a dificuldade de utilização dos poucos tipos existentes. Dentre as características mencionadas, apenas a forma do pênis não havia sido proposta formalmente como um caráter de distinção entre os gêneros, não obstante Gomes (2007), em sua proposta de filogenia morfológica, ter evidenciado a separação de *Latipes* e *Angustipes* pela presença de pênis alongado no primeiro e curto e cônico no segundo, bem como a presença de músculo retrator longo em *Latipes*.

Vários caracteres previamente utilizados por Thomé (1975) para a diagnose de *Latipes* e *Angustipes* são compartilhados pelas espécies incluídas nos dois gêneros, não servindo para a sua diferenciação. A característica dos túbulos da glândula peniana com túbulos serpenteados na base e conjuntamente envolvidos por uma membrana é comum a todos os gêneros de veronicelídeos neotropicais (THOMÉ, 1975). Na diagnose do gênero *Latipes* é considerada a posição em que o reto penetra no tegumento junto ao poro genital feminino. Tal característica permite a distinção entre *Latipes* e os gêneros *Phyllocaulis*, *Montivaginulus* e *Vaginulus* uma vez que todos os demais gêneros apresentam tal característica (THOMÉ, 1975). Dentre as características do sistema reprodutor, a presença da glândula peniana permite distinguir *Latipes* apenas de *Heterovaginina*, único gênero no qual tal estrutura é ausente nas Américas. A presença de túbulos uniformes não permite a distinção entre *Latipes*, *Angustipes* e *Sarasinula*, gêneros mais proximamente relacionados.

Os gêneros mais relacionados à *Latipes* e *Angustipes* são *Sarasinula* Grimpe e Hoffmann, 1924 e *Belocaulus* Hoffmann, 1925. *Latipes* e *Angustipes* podem ser distinguidos desses dois gêneros pela presença nestes de curvatura na base do pênis. *Latipes* e *Angustipes* possivelmente podem ser diferenciadas de *Sarasinula* pela forma da papila da glândula peniana curta e piriforme, enquanto este último gênero apresenta papila longa e cilíndrica. Entretanto, tal característica precisa ser mais amplamente investigada, uma vez que só existe informação para as espécies *A. difficilis* (GOMES, 2007) e *A. erinaceus* nov. comb. (presente estudo), além de *L. longicaulis* (THOMÉ, 1970) e *L. pterocaulis* (THOMÉ, 1972a).

Thomé (1975) cita a presença de bolsa de copulação globular em *Latipes*. Entretanto, de acordo com as descrições originais das espécies de *Latipes*, a forma da bolsa de copulação

pode ser piriforme ou globular. Essa característica não permite a distinção entre *Latipes* e *Angustipes*, uma vez que as espécies incluídas em *Angustipes* podem apresentar bolsa de copulação piriforme, globular ou reniforme. *Latipes* apresenta ainda ducto de ligação penetrando na bolsa de copulação sempre algo distante do canal. Tal característica é a única mencionada por Thomé (1975) que permite a distinção entre *Latipes* e *Angustipes*.

No presente estudo, a redefinição dos gêneros proposta para *Angustipes* e *Latipes* é baseada nas informações disponíveis sobre as espécies, a maior parte oriunda de descrições originais baseadas em um único espécime. Algumas características que possivelmente serviriam para diferenciar *Angustipes* e *Latipes*, tais como a origem e comprimento do músculo retrator peniano e a proporção sola/hiponoto foram descritas para poucas espécies e características da rádula não foram descritas para nenhuma espécie dos dois gêneros, com exceção de *A. erinaceus nov. comb.*, no presente estudo. O sistema circulatório de *A. erinaceus nov. comb.* só pôde ser comparado àquele de duas espécies de *Angustipes* e *Latipes*, devido à ausência de descrição para outras espécies. Coifmann (1934) ilustrou o sistema circulatório *A. tarsiai* e a morfologia apresenta padrão similar ao encontrado para *A. erinaceus nov. comb.*, com a diferença de que nessa espécie todos os vasos se originam diretamente no coração, enquanto em *A. erinaceus* a artéria intestinal origina na base da aorta em posição axilar ao coração. Em *L. lisei*, o vaso aórtico anterior distende-se diretamente do coração aos nervos em linha reta, onde se bifurca em um ramo anterior, que segue junto aos nervos até os gânglios e num ramo posterior que logo penetra no tegumento (Thomé & Gomes, 1999). Considerando o estado de conservação dos poucos tipos disponíveis, é necessária a coleta dessas espécies e o estudo detalhado de sua morfologia, utilizando maior número de indivíduos para a melhor caracterização dos gêneros.

As espécies *L. ribeirensis*, *L. rosilus*, *L. erinaceus* e *L. absumptus* foram originalmente incluídas no gênero *Latipes*. No presente estudo, propomos a transferência da espécie *L. erinaceus* para o gênero *Angustipes*, além das espécies *L. rosilus* e *L. ribeirensis*, incluídas por Thomé (1975) no gênero *Latipes* com dúvida, bem como *L. absumptus*, com base nas características do pênis, canal da bolsa de copulação e ducto de ligação.

Dentre as características utilizadas por Thomé (1975) para a caracterização do gênero *Angustipes*, a presença de glândula peniana com túbulos uniformes, bem como a ausência de glândula acessória, não permite a distinção entre *Angustipes* e *Latipes*. A presença de bolsa de copulação sésil e presença de ducto de ligação curto que penetra na bolsa de copulação junto à base desta são características compartilhadas pelas espécies do gênero *Angustipes* e juntamente com a presença de pênis curto e cônico, são as únicas que permitem a distinção de

*Angustipes* e *Latipes*, e justificam a transferência das espécies *L. erinaceus* (Colosi, 1921), *L. absumptus* (Colosi, 1921), *L. rosilus* (Thiele, 1927) e *L. ribeirensis* (Thiele, 1927), para o gênero *Angustipes*.

Ao analisarmos a distribuição geográfica das espécies de *Angustipes* e *Latipes*, observamos que o gênero *Latipes* (com exceção das novas combinações propostas no presente estudo) apresenta ocorrência predominantemente ao norte. Apenas *L. lisei* ocorre em latitude negativa. É interessante observar que essa espécie apresenta pênis menos cilíndrico e alongado que as demais espécies de *Latipes*.

As espécies do gênero *Angustipes* apresentam ocorrência predominante no Sul da América do Sul. Dessa forma, observamos a distribuição mais ao Norte das espécies com pênis longo e cilíndrico e a distribuição mais ao Sul das espécies com pênis cônico (*Angustipes* spp. incluindo *A. ribeirensis* nov. comb., *A. rosilus* nov. comb., *A. erinaceus* nov. comb. e *L. absumptus* nov. comb.). Os padrões de distribuição observados podem ser evidências de separação entre os dois gêneros e corroboram nossa proposta de inclusão das espécies anteriormente mencionadas, no gênero *Angustipes*.

Apesar de Thomé (1975) ter incluído *A. tarsiai* no gênero *Angustipes* com certa dúvida, a morfologia do pênis segue o padrão das outras espécies deste gênero, a bolsa de copulação não foi descrita e o sistema circulatório descrito por Coifmann (1934) é semelhante ao observado para os espécimes de *A. erinaceus* nov. comb. examinados no presente estudo. Por essas razões, acreditamos que *A. tarsiai* deva ser mantida no gênero *Angustipes* até que uma descrição morfológica mais detalhada esteja disponível.

No presente estudo, ampliamos a caracterização de *A. erinaceus* nov. comb., incluindo a caracterização do sistema circulatório, rádula e mandíbula, posição da entrada do ducto de ligação em relação à bolsa de copulação, origem do músculo da glândula peniana, além da caracterização morfométrica do pênis, glândula peniana, glândula pediosa e bolsa de copulação. Este também representa um novo registro de ocorrência, incluindo o estado de Minas Gerais na distribuição geográfica da espécie.

*Angustipes erinaceus* nov. comb. pode ser diferenciado de *A. robustus* e *A. tarsiai*, espécies que também ocorrem no Brasil, pelas características do pênis. As três espécies, como todas do gênero *Angustipes*, apresentam pênis cônico e curto. Entretanto, em *A. robustus* e *A. tarsiai* a região mais alargada do pênis fica próximo à base e não no terço mediano como em *A. erinaceus*. Além disso, o pênis de *A. erinaceus* apresenta ornamentações em forma de cristas e tubérculos, ausentes em *A. robustus* e *A. tarsiai*. A bolsa de copulação de *A. robustus* é muito semelhante àquela de *A. erinaceus* e essa mesma estrutura não foi descrita para *A.*

*tarsiai*. A espécie *A. rosilus* nov. comb. apresenta bolsa de copulação muito semelhante àquela de *A. erinaceus* nov. comb., entretanto, o espécime utilizado para a descrição dessa espécie era muito jovem, o que não favorece a descrição precisa da estrutura. *Angustipes ribeirensis* nov. comb. apresenta pênis ornamentado com tubérculos, entretanto, diferentemente de *A. erinaceus*, o pênis de *A. ribeirensis* é muito curto e truncado e a bolsa de copulação é piriforme, com canal inserindo-se na extremidade basal da bolsa.

A caracterização da morfologia de *A. difficilis*, espécie tipo do gênero *Angustipes*, realizada por Santin e Miguel (2015), fornece algumas evidências que corroboram a nova combinação proposta para *A. erinaceus* no presente estudo. Santin e Miguel (2015), destacam que o pênis de *A. difficilis* apresenta uma constrição basal na região posterior, o que também é observado na morfologia peniana de *A. erinaceus*. A bolsa de copulação com canal curto e com ducto de ligação penetrando na bolsa próximo ao canal e a presença de mamilo na papila da glândula peniana de alguns espécimes mais jovens são características que confirmam a proximidade morfológica das duas espécies, como anteriormente considerado por Colosi (1921)

Em relação às demais espécies do gênero *Angustipes*, que até o presente não foram registradas para o território brasileiro, *A. difficilis* e *A. absumptus* nov. comb. apresentam morfologia interna tão próxima à *A. erinaceus* nov. comb., que a diferenciação entre essas espécies tem sido tradicionalmente realizada com base na ornamentação do pênis que se apresenta em *A. erinaceus* nov. comb. na forma de tubérculos e crista, em *A. difficilis* como uma plataforma arredondada soldada ao ápice do pênis e em *A. absumptus* nov. comb. é ausente. *Angustipes morii* e *A. paraguensis* podem ser diferenciados de *A. erinaceus* pela presença de bolsa de copulação completamente sésil e alongada e pela morfologia peniana. *Angustipes morii* apresenta pênis sem terço mediano alargado. *Angustipes paraguensis* não pode ser diferenciado de *A. erinaceus* com base na morfologia do pênis, uma vez que a descrição da espécie não é suficientemente informativa.

No presente estudo, foi verificada variabilidade morfológica interpopulacional, mas ao se estabelecer a razão entre o comprimento dos animais e comprimento do pênis, encontramos proporcionalidade entre estas medidas, indicando que os espécimes de Juiz de Fora apresentam maior comprimento do pênis porque são maiores em comprimento corporal. A mesma proporção não foi encontrada entre a razão do comprimento do noto e comprimento dos túbulos da glândula peniana e da glândula pediosa, que são maiores em comprimento nos espécimes de Juiz de Fora quando comparados àqueles de Leopoldina. A análise de componentes principais confirmou serem essas últimas variáveis as que mais contribuiram

para a variação encontrada entre as duas populações. Os resultados dessa análise confirmaram que as duas populações apresentam similaridade suficiente para serem consideradas como pertencentes à mesma espécie, apesar da variabilidade interpopulacional observada para algumas estruturas.

Verificou-se variação entre indivíduos irmãos, oriundos do mesmo parental coletado no campo, no local de origem do músculo retrator da glândula peniana e entre as populações, o local da inserção do ducto de ligação à bolsa de copulação. Devido à existência de variabilidade intraespecífica tais características não devem ser utilizadas para a distinção entre *A. erinaceus* nov. comb. e outras espécies do gênero *Angustipes*.



## CAPÍTULO II

### NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO *Phyllocaulis* (Colosi, 1922) E CARACTERIZAÇÃO MULTIDISCIPLINAR DE *Phyllocaulis boraceiensis* Thomé, 1972 (Gastropoda, Veronicellidae)

#### RESUMO

Quando a espécie *Phyllocaulis boraceiensis* Thomé, 1972 foi descrita, foi designado um holótipo e doze parátipos, a maior parte proveniente do estado de São Paulo e Santa Catarina e um de Minas Gerais. Entre os parátipos, apenas aquele de Minas Gerais, proveniente do município de Juiz de Fora, apresentava padrão de pigmentação corporal distinto. Essa diferença em relação aos demais parátipos foi interpretada como sendo provavelmente a consequência de o animal ter sido fixado já em agonia. Recentemente, um exemplar com as mesmas características de pigmentação descritas para o parátipo de Juiz de Fora, foi coletado nessa mesma localidade, revelando que as diferenças observadas em relação aos parátipos de outras localidades não eram consequência do processo de fixação do animal. O estudo detalhado da morfologia desse e de outros espécimes, nascidos em laboratório, revelou tratar-se de uma nova espécie do gênero *Phyllocaulis*. No presente estudo, realizamos a descrição dessa nova espécie, utilizando a abordagem citogenética e morfológica, incluindo estruturas do sistema reprodutor, digestivo e glandular, bem como a análise morfométrica dessas estruturas. Dentre as espécies do gênero, *P. boraceiensis* apresenta maior similaridade com *Phyllocaulis* sp.nov. Entretanto, *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis* podem ser distintas pelas características morfológicas e morfométricas do complexo peniano, glândula peniana, glândula pediosa e rádula, bem como pela pigmentação corporal. Os resultados do estudo citogenético corroboraram as diferenças morfológicas observadas entre *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis*. As duas espécies apresentam número haploide de cromossomos de 17 e 16, respectivamente. Apesar da representatividade da família Veronicellidae no Brasil, bem como as ferramentas modernas disponíveis em genética e microscopia, a maior parte dos gêneros e espécies permanece caracterizada com base em poucas estruturas do sistema reprodutor. A descoberta de uma nova espécie com ocorrência em Minas Gerais evidencia a necessidade de estudos taxonômicos e inventários nesse estado, para o qual havia, até o momento, o registro de apenas duas espécies.

**Palavras-chave:** citogenética, cariótipo, morfologia, rádula.

## INTRODUÇÃO

A família Veronicellidae Gray, 1840 inclui cerca de 78 espécies neotropicais (THOMÉ, 1975; GOMES, 2007). No Brasil, são registradas espécies dos gêneros *Angustipes* Colosi, 1922; *Belocaulis* Hoffmann, 1925; *Latipes* Colosi, 1922; *Novovaginula* (Thiele, 1931); *Phyllocaulis* Colosi, 1922; *Potamojanuarius*, Thomé, 1975; *Sarasinula* (Grimpe & Hoffmann, 1924); *Simrothula* Thomé, 1975, *Vaginulus* Férussac, 1822 e *Zilchulus* Thomé, 1975 (THOMÉ, 1975). Há um maior registro de ocorrência para as regiões Sul e Sudeste (SpeciesLink, 09/2/2016). Entretanto, os dados sobre distribuição geográfica dos veronicelídeos no Brasil, provavelmente refletem a escassez de estudos de levantamento e estudos taxonômicos e não a real distribuição das espécies nas diversas regiões e biomas. Nesse sentido, é provável que a diversidade de veronicelídeos seja subestimada e a realização de novos estudos, abrangendo regiões pouco exploradas, pode revelar a existência de novas espécies e ampliar o conhecimento sobre a distribuição geográfica das espécies já descritas.

Existem significativas lacunas no conhecimento básico desses gastrópodes. As descrições das espécies são frequentemente pouco detalhadas (SIMROTH, 1914; COLOSI, 1922; THIELE, 1929; COIFMANN, 1934), algumas vezes baseadas em um único exemplar (SIMROTH, 1914, COLOSI, 1922; THIELE; 1929; COIFMANN, 1934, 1935; THOMÉ, 1981) ou em indivíduos jovens (SIMROTH, 1914; THIELE, 1929).

Apesar da representatividade da família na região neotropical, existem poucos taxonomistas dedicados ao estudo desses animais, no Brasil e no mundo, e é provável que o impedimento taxonômico seja uma das razões pelas quais a diversidade de veronicelídeos seja subestimada. Ainda na década de 1970, Thomé (1975) apontou a escassez de informações sobre essa família, argumentando que a escassez de estudos impede a definição das afinidades e subordinações filogenéticas entre os gêneros.

Dentre os gêneros de veronicelídeos com ocorrência no Brasil, *Phyllocaulis* Colosi, 1922 representa, sem dúvida, o gênero para o qual existe o maior volume de informação. Destacam-se os estudos sobre morfologia de *P. soleiformis* (Orbigny, 1935) (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1987) e *P. variegatus* (Semper, 1885), (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1988), histologia da glândula digestiva de *P. soleiformis* (LEAL-ZANCHET, THOMÉ & HAUSE, 1993) e filogenia molecular do gênero *Phyllocaulis* (GOMES *et al.*, 2010). Dessa forma, as espécies incluídas nesse gênero foram melhor caracterizadas, em comparação àquelas de outros gêneros com ocorrência no Brasil.

As espécies de *Phyllocaulis* compartilham a presença de pênis com espata e glândula peniana formada por dois lotes de túbulos curtos e longos (COLOSI, 1922; THOMÉ, 1972b) e podem ser distintas principalmente com base em características do sistema reprodutor e glândula pediosa (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1987). Entretanto, em muitos casos, as diferenças entre estruturas com valor diagnóstico são sutis, o que dificulta a separação de espécies muito próximas e o reconhecimento de possíveis complexos de espécies crípticas.

Existe, na literatura, alusão a morfotipos de uma mesma espécie de *Phyllocaulis* (THOMÉ, 1972b; MANSUR, 2001, SOARES & THOMÉ, 2002; MANSUR & THOMÉ, 2008). O estudo desses morfotipos pode revelar a presença de espécies crípticas, como no caso de *P. renschi* Thomé, 1965, espécie previamente colocada em sinonímia por ser considerado um morfotipo atribuído à espécie *P. soleiformis* e posteriormente revalidada a partir do estudo comparado da rádula e mandíbula (MANSUR & THOMÉ, 2008) e da utilização de marcadores moleculares (GOMES *et al.*, 2010). Nesse sentido, a busca por novos caracteres taxonômicos ou novas maneiras de analisar os caracteres tradicionalmente usados para distinguir as espécies, bem como o uso de uma abordagem integrativa e multidisciplinar se fazem necessários para a melhor resolução taxonômica da família e, conseqüentemente, para o real conhecimento de sua diversidade.

O táxon *Phyllocaulis* foi inicialmente proposto por Colosi (1922), a partir do estudo da espécie *Vaginula borelliana* Colosi, 1922. O autor incluiu *Phyllocaulis* como um “subgrupo” do “grupo” *Latipes*, dentro do gênero *Vaginula* Férrussac, 1822/1829. Características tais como sola larga e pênis com espata foram utilizadas para a distinção entre *Latipes*, *Phyllocaulis* e “*Latipes-Monocaulis*”. Posteriormente, *Phyllocaulis* foi reconhecido por Grimpe & Hoffmann (1925), tratado como gênero por Hoffmann (1927), por “seção” no subgênero *Vaginula* por Thiele (1929; 1935), sendo atribuído o status de gênero a partir dos trabalhos de Thomé (1965; 1968; 1975; 1976).

Thomé (1975) validou o gênero *Phyllocaulis*, colocou a espécie tipo *V. borelliana* Colosi, 1922 como sinônimo de *P. soleiformis* (Orbigny, 1835) e acrescentou à diagnose do gênero, a distância em que o reto penetra o tegumento relativamente ao poro genital feminino, a posição da inserção do ducto de ligação na bolsa de copulação em relação ao canal e a configuração da glândula peniana em dois lotes, um interno com túbulos curtos e um externo com túbulos longos. Em 1976, Thomé pôs várias espécies em sinonímia e definiu como válidas as espécies *P. soleiformis*, *P. gayi* (Fischer, 1871); *P. boraceiensis* Thomé, 1972; *P.*

*variegatus* (Semper, 1885) e *P. tuberculosus* (Martens, 1868). O autor definiu como caráter diferencial entre as espécies a forma da glândula pediosa, forma do pênis e disposição dos órgãos junto ao poro genital feminino.

O gênero *Phyllocaulis* encontra-se distribuído ao Sudeste e Sul da América do Sul, com registros para o Brasil, Argentina, Paraguai, Chile e Uruguai (THOMÉ, 1972ab; 1975; 1976; MANSUR & THOMÉ, 2008). Dentre as seis espécies consideradas válidas de *Phyllocaulis*, cinco ocorrem no Brasil, distribuídas principalmente na região Sul, mas também nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, na região Sudeste. Para Minas Gerais, existe o registro de duas espécies, *P. boraceiensis* e *P. variegatus* (THOMÉ, 1972b; 1976).

A espécie *P. boraceiensis* foi descrita por Thomé (1972), sendo designados um holótipo e doze parátipos, a maior parte proveniente do estado de São Paulo e Santa Catarina e um de Minas Gerais. As características externas da espécie foram definidas pelo noto marrom-alaranjado, destacando-se pequenas pontuações de cor marrom intenso, perinoto bem destacado com uma larga aba junto ao noto, hiponotos de cor alaranjada com minúsculas pontuações claras e sola de coloração alaranjada. Entre os parátipos, apenas aquele de Minas Gerais, proveniente do município de Juiz de Fora, apresentava padrão de pigmentação distinto, apresentando manchas escuras, irregulares e densamente distribuídas pelo noto, e hiponotos de pigmentação quase negra. Essa diferença em relação aos demais parátipos foi interpretada por Thomé (1972b) como sendo provavelmente a consequência de o animal ter sido fixado já em agonia.

Recentemente, exemplares com as mesmas características de coloração descritas para o parátipo de Juiz de Fora, Minas Gerais foi coletado nessa mesma localidade, revelando que as diferenças observadas por Thomé (1972b) em relação aos parátipos de outras localidades não eram consequência do processo de fixação do animal. O estudo detalhado da morfologia dos espécimes revelou tratar-se de uma nova espécie do gênero *Phyllocaulis*. No presente estudo realizamos a descrição dessa espécie, bem como o estudo da morfologia comparada de *Phyllocaulis* sp. nov. e *P. boraceiensis*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção dos animais**

Espécimes adultos de *Phyllocaulis* sp. nov. e *P. boraceiensis*, respectivamente, foram coletados no município de Juiz de Fora MG, Brasil, em área urbana, em pontos com as

seguintes coordenadas geográficas: -21.7521119 /-43.329101 e -21.796303/ -43.357189. Os indivíduos provenientes do campo foram mantidos em laboratório até realizarem ovipostura. Após a obtenção dos filhotes das duas espécies, os parentais provenientes do campo foram mortos e fixados segundo proposto por Thomé & Lopes (1973) e depositados na coleção malacológica do Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira (CMPMPO), da Universidade Federal de Juiz de Fora, com os números 8678 e 8679. Algumas oviposturas de mesma idade foram separadas e mantidas sob condições idênticas de temperatura, umidade e luminosidade. Após a eclosão, os filhotes foram mantidos em laboratório até a idade de seis meses, no início da estação reprodutiva previamente observada para *P. boraceiensis*, sendo, portanto, considerados adultos que ainda não tinham efetuado o primeiro evento reprodutivo. Trinta e oito animais de cada espécie foram então mortos, fixados e depositados na CMPMPO sob os números 8538 a 8605. Esses espécimes e os espécimes coletados a campo foram utilizados para o estudo morfológico.

A identificação específica foi realizada a partir do exame da anatomia interna, tomando como base de comparação o trabalho de descrição original da espécie *P. boraceiensis*, bem como outros trabalhos sobre o gênero *Phyllocaulis*. Os espécimes foram ainda comparados aos lotes MCP 7965, 9917, 7968 de *P. boraceiensis*, da coleção malacológica do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS.

### **Caracterização morfológica das espécies**

A caracterização morfológica de *P. boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. foi realizada a partir da análise de 37 moluscos de cada espécie, nascidos em laboratório, bem como 6 espécimes de animais coletados a campo de *Phyllocaulis* sp. nov. e dois de *P. boraceiensis*. Os moluscos foram dissecados e os órgãos do sistema reprodutor bem como a glândula pediosa, foram dissociados e desenhados sob microscópio estereoscópico da marca Olympus, modelo SZX7As, com câmara clara acoplada e fotografados com câmera Sony H.CE3000. Para a análise da rádula, o bulbo bucal foi dissecado, a rádula retirada, tratada em solução de hipoclorito de sódio para a remoção dos fragmentos de tecido, e montada sobre *stub* recoberto com fita de carbono adesiva de dupla face. A rádula foi fotografada em microscópio eletrônico de varredura da marca Hitachi modelo TM 3000 (*table top microscope* EDS). Posteriormente, as medidas de cinco dentes laterais direitos, cinco dentes centrais raquidianos, bem como da distância entre os dois dentes laterais e o central raquidiano foram tomadas em altura e largura, com o auxílio do programa *Image-Pro Plus* 6.0.

### **Estudo morfométrico**

Para o estudo morfométrico dos espécimes, foram tomadas medidas externas e medidas de estruturas do sistema reprodutor após a dissecação dos animais. As medidas foram tomadas a partir de imagens digitais, com o auxílio do programa *Image-Pro Plus 6.0*. O comprimento do noto e hiponotos (utilizando-se como valor final a média dos valores obtidos para o hiponoto esquerdo e direito), além da largura da sola e largura do hiponoto direito foram aferidos. Das estruturas do sistema reprodutor, foram tomadas as seguintes medidas lineares: comprimento e largura do pênis (incluindo a glândula e a espata), comprimento e largura da glândula pediosa; comprimento e largura da glândula peniana, comprimento e largura da papila, bem como o número de túbulos curtos e longos e número de túbulos com bifurcações (Figura 1). Outras características, tais como pigmentação dos jovens recém-eclodidos e adultos, presença de espinhos na glândula e na espata, disposição do músculo retrator da glândula peniana e do músculo retrator do pênis, forma do pênis e forma dos dentes da rádula também foram observadas e descritas.

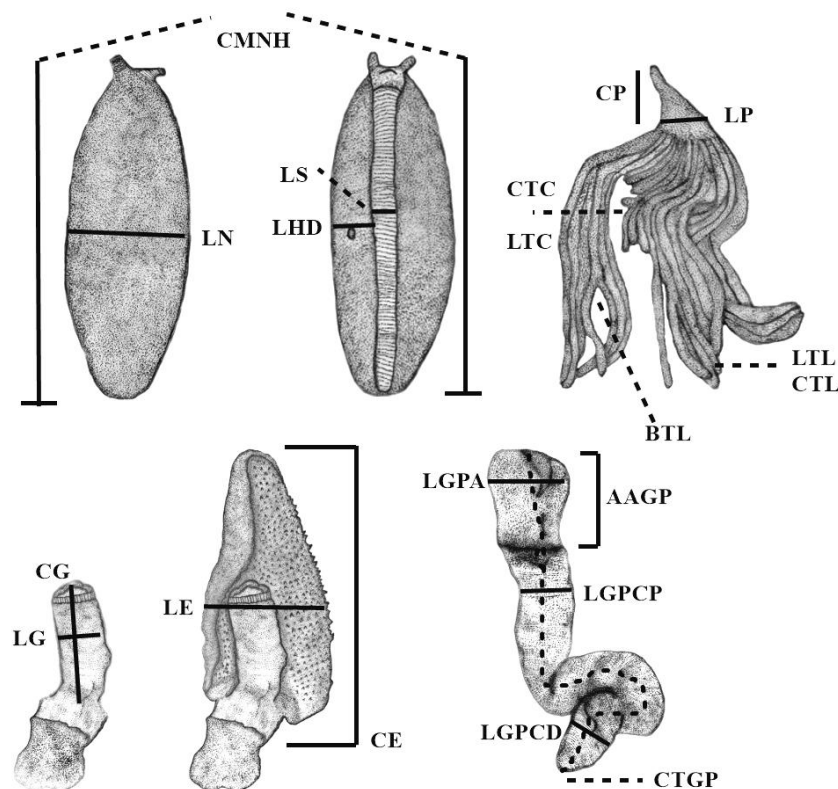
### **Análises estatísticas**

Para todos os descritores morfométricos supracitados foi realizada a análise estatística descritiva para o cálculo da média, desvio padrão, valores máximos e mínimos e coeficiente de variação. Os valores médios obtidos para cada estrutura foram comparados através do teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey, com intervalo de confiança de 95%. Com os dados morfométricos foi realizada a análise de componentes principais (PCA), com 10.000 réplicas, para verificar quais componentes contribuíram com a variância e covariância, para tanto foi utilizado o programa Past 1.49 (HAMMER *et al.*, 2001).

### **Estudo citogenético**

Para a caracterização citogenética das espécies foram utilizados embriões em estágio inicial de desenvolvimento. Para tanto, os ovos foram incubados em colchicina a 0,1% por períodos de 4 e 18 horas. Após esse período, os embriões foram incubados em solução de KCL por 30 minutos, macerados e fixados em solução de Carnoy (etanol: ácido acético/ 3:1) em três banhos sucessivos, seguidos de centrifugação a 1.000 RPM por 10 minutos para a obtenção da suspensão de células. A suspensão foi tratada em solução de ácido acético 50%, gotejada em lâminas, posteriormente secas ao ar. As lâminas obtidas foram coradas com Gimsa, analisadas para o encontro de metáfases e processadas para a caracterização do cariógrama das espécies. O idiograma e cariógrama das duas espécies foram confeccionados segundo o critério de disposição dos cromossomos em ordem decrescente do braço curto. Após a digitalização das imagens obtidas, os cromossomos foram medidos com o auxílio do software *Image Pro-Plus 4.5 (Media Cybernetics)*. Foram calculados o comprimento do braço curto (bc);

braço longo (bl); comprimento total (ct); razão entre as médias dos braços ( $r=bl/bc$ ). A classificação morfológica dos cromossomos foi feita com base na relação de braços, de acordo com Levan *et al.* (1964), em que cromossomos com  $r$  entre 1,0 e 1,7 são metacêntricos (m); cromossomos com  $r$  entre 1,7 e 3,0 são submetacêntricos (sm) e cromossomos com  $r$  entre 3,0 e 7,0 são subtelocêntricos (st). Adicionalmente, foram calculadas a assimetria de cada cromossomo ( $A_i$ ) e o grau de assimetria do cariótipo ( $A$ ), de acordo com a expressão proposta por WATANABE *et al.* (1999),  $A_i = (bl-bc) / (bc+bl)$  e  $A = (1/n) \sum A_i$ , em que  $A$  varia de 0 (completamente simétrico) a 1 (completamente assimétrico).



**Figura1.** Medidas morfométricas tomadas de *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis*. CMNH: Comprimento da média entre noto e hiponoto, LS: largura da sola, LN: largura do noto, LHD: hiponoto direito, CTC: comprimento de túbulos curtos, LTC: largura dos túbulos curtos, CTL: comprimento de túbulos longos, LTL: largura dos túbulos longos, BTL: número de bifurcações de túbulos longos, TTCL: número total de túbulos curtos e longos, CP: comprimento papila, LP: largura papila, CE: comprimento da espata, LE: largura da espata, CG: comprimento da glândula, LG: largura da glândula, LGPA: largura da abertura da glândula pediosa, AAGP: altura da abertura da glândula pediosa, LGPCP: largura do corpo glândula pediosa proximal, LGPD: largura do corpo da glândula pediosa distal, CTGP: comprimento total da glândula pediosa.

### Distribuição geográfica das espécies do gênero *Phyllocaulis* com ocorrência no Brasil

Informações sobre ocorrência de espécies do gênero *Phyllocaulis* no Brasil foram obtidas a partir da literatura, bem como do banco de dados da rede *SpeciesLink*. Os dados

sobre as localidades de ocorrência das espécies obtidas nessas fontes foram georreferenciados através do aplicativo *Google maps*. O mapa da distribuição das espécies foi então confeccionado através do programa QGIS 2.6 (Informação geográfica livre).



## RESULTADOS

No presente estudo, parte dos espécimes analisados foi identificada como pertencente à espécie *P. boraceiensis* pelo conjunto de características do complexo peniano, glândula peniana, glândula pediosa, bolsa de copulação, rádula e padrão de pigmentação corporal. O estudo dos espécimes com pigmentação semelhante ao descrito para o parátipo de *P. boraceiensis* da localidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, por Thomé (1972), revelou se tratar de uma nova espécie, descrita a seguir.

### Taxonomia

#### Família Veronicellidae Gray, 1840

#### Gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922

*Phyllocaulis* sp.nov. (Figuras 2B, D, F, H e J; 3B; 3B1, 3B2,3B3; 4 A e D; 5 C e D; 6 A).

**Material examinado.** Holótipo, adulto, 145 mm de comprimento e 48 mm de largura, Juiz de Fora, -21.7521119 /-43.329101, Minas Gerais, Brasil, CMPMPO 8678. Parátipos, adultos, nascidos em laboratório, 95 a 191 mm de comprimento e 31,5 a 52,5 mm de largura CMPMPO 8538 - 8542 / 8566 - 8577 / 8579 - 8588 / 8592 - 8594 / 8596; 8597, parátipos de campo 8688, 8689, 8690, 8828, 8829.

**Diagnose.** Espata ampla e alongada, de forma triangular, coberta por espinhos na face interna e na sua origem se encontra concrecida ao soquete. Glande em posição reta, com toda a sua extensão em contato com a espata e apresenta um lóbulo próximo à abertura. Glândula peniana constituída por 21 a 32 túbulos. Fórmula cariotípica  $2x = 34$  cromossomos.

### Descrição.

Noto dos jovens recém-eclodidos de coloração amarelo-claro. Pigmentação do notos dos jovens escurece gradualmente, passando a marrom e, nos adultos, enegrecido ou com grandes manchas. Adultos com hiponotos de coloração marrom escuro a negro com pontuações de coloração mais clara. Perinotos expandidos em forma de aba no animal em repouso (Figura 2B). Presença de glândulas no perinoto que liberam muco com pigmentação alaranjada.

Espata ampla, de forma triangular, mais longa que larga e coberta por espinhos na face interna. Glande e soquete concrecidos à base da espata, abrigados em uma concavidade que inclui toda a extensão da glande. Glande cilíndrica, mais longa do que larga, com ou sem espinhos laterais. Região basal da glande com constrição apresentando nervuras. Região distal da glande com anel ao redor da larga fenda de abertura. Anel da glande com protuberância lobulada (Figura 3B; Figura 4 A e B).

Glândula peniana constituída por 21 a 32 túbulos, sendo 15 a 22 túbulos longos externos e 4 a 10 túbulos curtos internos. Alguns espécimes apresentam túbulos bifurcados. Papila da glândula peniana cônica, curta e sem mamilo (Figura 3J).

Glândula pediosa presa por sua extremidade distal em região próxima ao anel nervoso. Abertura da glândula pediosa, ampla na região proximal, diminui de largura gradativamente e apresenta curvatura em S para o lado direito na região distal (Figura 3H).

Rádula com dente raquidiano central em forma de losango, com protuberância em sua extremidade distal e pedúnculo com três projeções pontiagudas em sua parte distal. Dentes laterais com cúspide lanceolada e placa basal desenvolvida e assimétrica (Figura 5 C e D).

#### **Análise comparativa da morfologia de *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov.**

Os espécimes adultos de *P. boraceiensis* examinados apresentam notum com pigmentação marrom-clara alaranjado, com pequenas pontuações marrom-escuras e hiponotos de coloração alaranjada com pequenas pontuações claras. Os espécimes de *Phyllocaulis* sp. nov. apresentam pigmentação do notum marrom escuro a negro, com manchas irregulares mais escuras distribuídas por toda extensão do notum além de pequenos pontos marrom escuro, hiponotos variando em coloração de marrom acinzentado a cinza escuro com pequenas pontuações. Ambos apresentam perinotos destacados com uma aba junto ao notum. A sola recobre o poro anal, em geral é mais larga do que os hiponotos e o poro sexual feminino encontra-se próximo ao sulco pedioso (Figura 2).



**Figura 2.** Morfologia externa das espécies **A:** *Phyllocaulis boraceiensis* e **B:** *Phyllocaulis* sp.nov. Escala 2 mm.

O complexo peniano e papila da glândula peniana de ambas as espécies encontram-se revestido por uma delgada bainha (Figura 3, C e D). O músculo retrator peniano é curto e tem origem no tegumento bem acima da região do pericárdio. O músculo retrator da glândula peniana tem origem do lado direito da base do pênis. O músculo retrator da glândula peniana se cruza sobre o músculo retrator do pênis, formando um arranjo em forma de X. O músculo retrator peniano de *P. boraceiensis* é mais alongado e delgado, quando comparado ao de *Phyllocaulis* sp.nov. e, dessa forma, o pênis permanece mais livre dentro da cavidade interna do animal (Figura 3 C). O músculo retrator peniano de *Phyllocaulis* sp.nov. é mais largo e curto, mantendo o pênis preso ao tegumento (Figura 3 D).

O complexo peniano de *P. boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. é formado por soquete curto, glande cilíndrica e uma larga espata coberta de espinhos na face interna. A face externa pode apresentar espinhos em pequeno número e dispersos. A espata pode envolver a glande completamente, ou parcialmente, apresentando as bordas dobradas posteriormente. A espata apresenta uma concavidade onde a glande encontra-se apoiada (Figuras 3 A e B). Em *P.*

*boraceiensis*, a glândula é curta e curvada com a região apical quase dobrada e para fora da concavidade. A glândula apresenta muitos espinhos lateralmente e um pequeno anel com uma franja de espinhos ao redor da larga fenda de abertura. A espata delgada de forma quase arredondada pode ser lisa ou serrilhada em sua borda e, na base, apresenta uma reentrância lateral (Figura 3 A e 3A1, Figura 4 C e D). Em *Phyllocaulis* sp.nov. a glândula encontra-se totalmente incluída dentro da concavidade formada pela espata, mantendo-se apoiada em ângulo reto, sem dobramento em sua extremidade distal. Na região basal a glândula apresenta duas nervuras em suas margens laterais. Espinhos podem estar ausentes na região lateral da glândula e, quando presentes, são poucos, espaçados e pequenos. Na região distal da glândula encontra-se um pequeno anel envolvendo a larga fenda da abertura, espinhos podem estar presentes ou ausentes. A parte posterior do anel apresenta uma projeção lobulada (Figura 3 B2). A espata é concrecida ao soquete na região basal e assume a forma triangular (Figura 3 B1).

Nas duas espécies, a glândula peniana apresenta túbulos diferenciados em dois lotes, um contendo túbulos longos e externos, em maior número e outro contendo túbulos curtos e internos, em menor número. Túbulos com bifurcações podem estar presentes ou ausentes nos dois lotes. A papila da glândula é curta, sem mamilo e apresenta forma cônica (Figura 3 I e J).

As duas espécies apresentam glândula pediosa cilindroide, achatada, com a extremidade distal dobrada para a direita. A glândula pediosa é presa pela extremidade distal em região próxima ao anel nervoso. A glândula pediosa de *P. boraceiensis* apresenta ampla abertura na região proximal o que lhe confere morfologia quase circular e o corpo da glândula apresenta um súbito estreitamento inicial e mantém-se quase da mesma largura até a região distal (Figura 3 G). A glândula pediosa de *Phyllocaulis* sp.nov. apresenta abertura pouco arredondada e diminui gradativamente em largura (Figura 3 H).

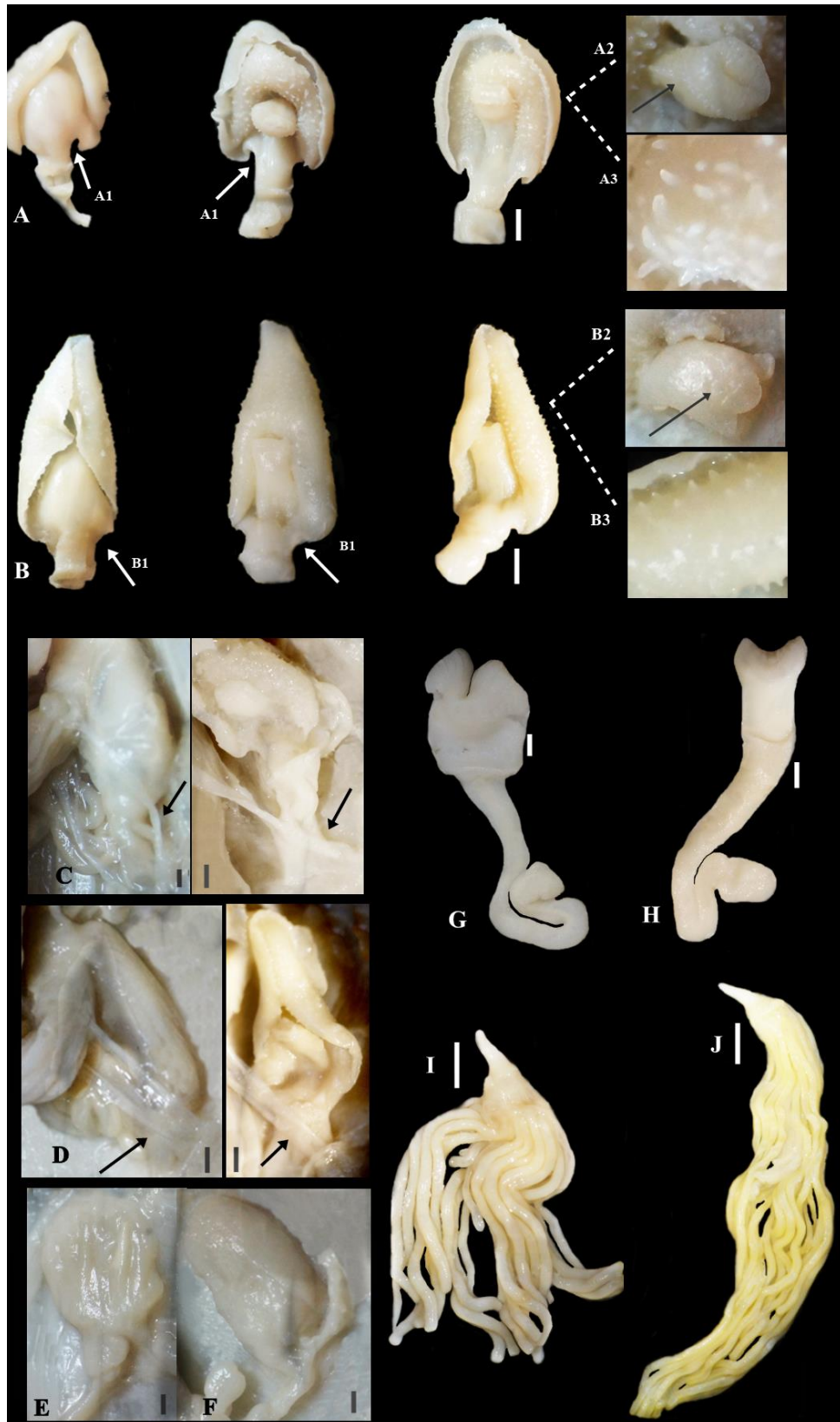
Em ambas as espécies, a bolsa de copulação é globulosa, com curto canal que se une ao canal do oviduto, dentro do tegumento. Próximo ao canal, a bolsa de copulação possui um cabeçote bem desenvolvido, destacado por uma constrição, e mais fino na parte distal, onde recebe o ducto de ligação curto (Figura 3 E e F).

Nas duas espécies, os dentes da rádula são unicúspides. Os dentes laterais apresentam cúspide lanceolada e placa basal desenvolvida e assimétrica. Na placa basal do dente lateral, onde este se articula com o dente raquidiano direito, há um calo. O dente lateral direito de *P. boraceiensis* mede  $38,16 \pm 0,51 \mu\text{m}$  de largura,  $67,13 \pm 3,92 \mu\text{m}$  de altura e a distância entre os dois dentes laterais e o central raquidiano é de  $102,34 \pm 1,42 \mu\text{m}$ . O dente lateral direito de *Phyllocaulis* sp.nov. mede  $40,67 \pm 0,51 \mu\text{m}$  de largura,  $75,13 \pm 3,92 \mu\text{m}$  de altura e a

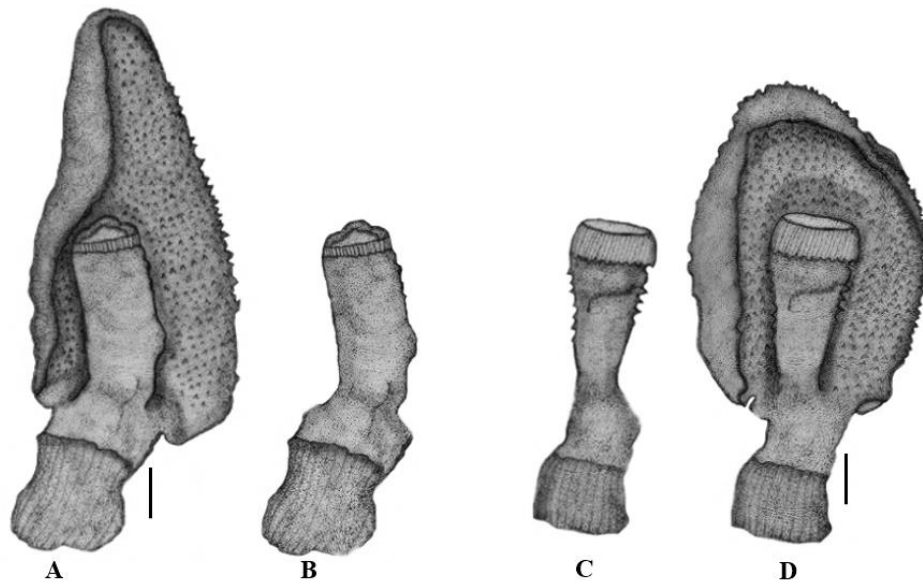
distância entre os dois dentes laterais e o central raquidiano é  $113,5 \pm 1,42 \mu\text{m}$  (Figura 5). Os dentes raquidianos das duas espécies são unicúspides e pedunculados. Na região distal, pode ocorrer uma pequena protuberância. O pedúnculo do dente raquidiano em *P. boraceiensis* é estreito e sem ornamentação, enquanto o de *Phyllocaulis* sp.nov. apresenta três projeções na base. Os dentes raquidianos das duas espécies também diferem em sua forma. Aqueles de *P. boraceiensis* apresentam forma arredondada enquanto os de *Phyllocaulis* sp.nov. apresentam forma de losango. As medidas lineares dos dentes raquidianos de *P. boraceiensis* ( $22,88 \pm 0,99 \mu\text{m}$  de largura,  $43,80 \pm 1 \mu\text{m}$  de altura e  $111,10 \pm 4,5 \mu\text{m}$  de diâmetro) também foram inferiores àquelas observadas para *Phyllocaulis* sp.nov. ( $28,07 \pm 0,8 \mu\text{m}$  de largura,  $54,22 \pm 1,39 \mu\text{m}$  de altura e  $147,96 \pm 2,27 \mu\text{m}$  de perímetro (Figura 6).

#### **Caracterização citogenética de *Phyllocaulis* sp. e *P. boraceiensis***

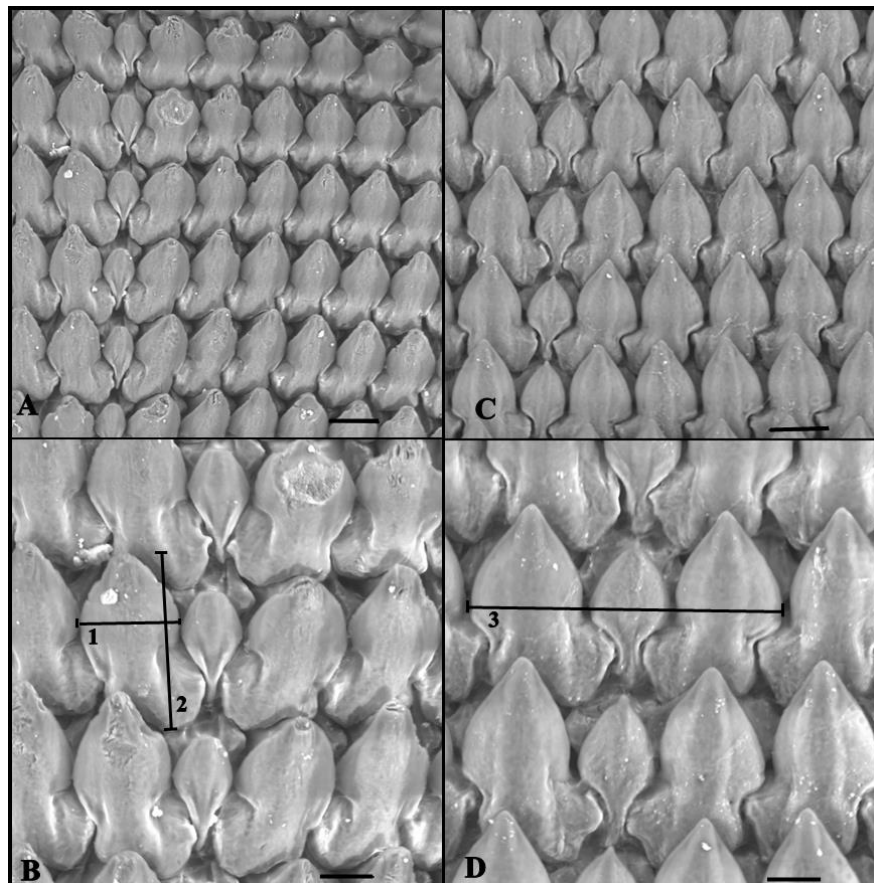
A partir da análise das células em metáfase obtidas, foi possível construir o cariograma de *Phyllocaulis* sp.nov. que possui o número diploide de 34 cromossomos e o número haplóide de 17 cromossomos, bem como de *P. boraceiensis*, que possui o número diploide de 32 cromossomos e haploide de 16 cromossomos (Tabela I; Figuras 7 e 8). Todos os cromossomos de *Phyllocaulis* sp.nov. são metacêntricos, enquanto *P. boraceiensis* apresenta 15 cromossomos metacêntricos e um submetacêntrico. *Phyllocaulis boraceiensis* apresentou maior amplitude no comprimento total dos cromossomos ( $0,48-1,57 \mu\text{m}$ ) e maior grau de assimetria do cariótipo ( $A=0,13$ ) quando comparada a *Phyllocaulis* sp.nov. ( $0,57-1,18 \mu\text{m}$  e  $A=0,05$ ).



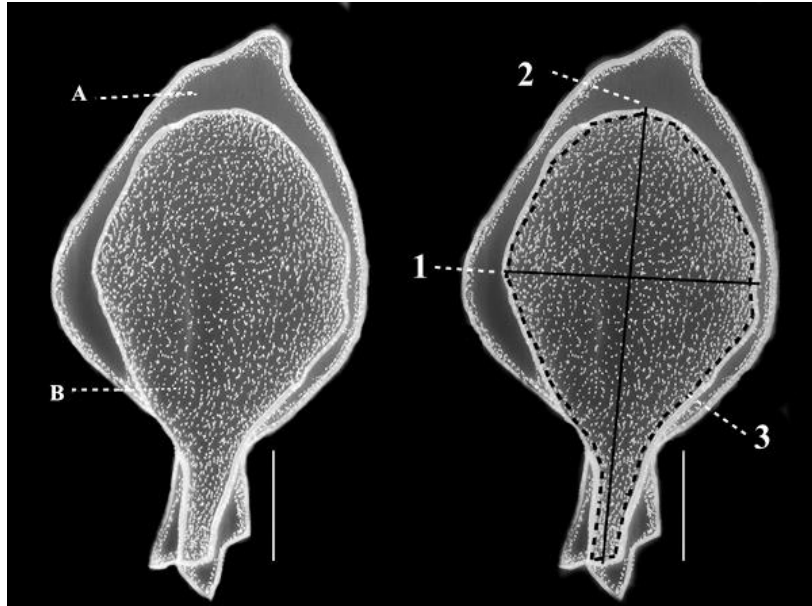
**Figura 3.** Estruturas do sistema reprodutor de *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. espécimes de 6 meses. **A:** Complexo peniano de *P. boraceiensis*, **B:** Complexo peniano de *Phyllocaulis* sp.nov., **C e E:** Origem do músculo retrator da glândula peniana e bolsa de copulação de *P. boraceiensis*, **D e F:** Origem do músculo retrator da glândula peniana e bolsa de copulação de *Phyllocaulis* sp.nov., **G e I:** Glândula pediosa e glândula peniana de *P. boraceiensis*, **H e J:** Glândula pediosa e glândula peniana de *Phyllocaulis* sp.nov. **Barra** = 1mm (A, B, C, D, E, F, G e H; I). **Barra** = 3 mm (J).



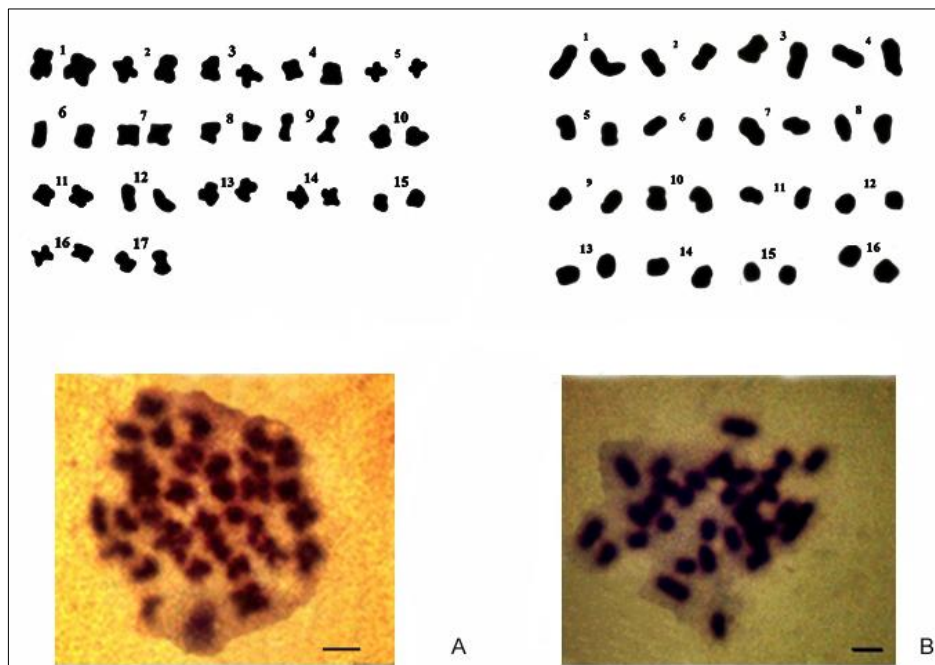
**Figura 4.** Complexo peniano (A e D) e glânde (B e C) de *Phyllocaulis* sp.nov. e *Phyllocaulis boraceiensis*, respectivamente, espécimes de 6 meses. **Barra** = 1mm.



**Figura 5.** Microscopia eletrônica de varredura de rádulas de *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. **A e B:** Rádula de *P. boraceiensis*. **C e D:** Rádula de *Phyllocaulis* sp.nov. Medidas lineares aferidas: **1.** Largura do dente lateral direito, **2.** Comprimento do dente lateral direito, **3.** Distância entre os três dentes. **Barra** = 10  $\mu$ m e aumento de 400 X (**A e C**). **Barra** = 20  $\mu$ m e aumento de 200 e 800X (**B e D**)

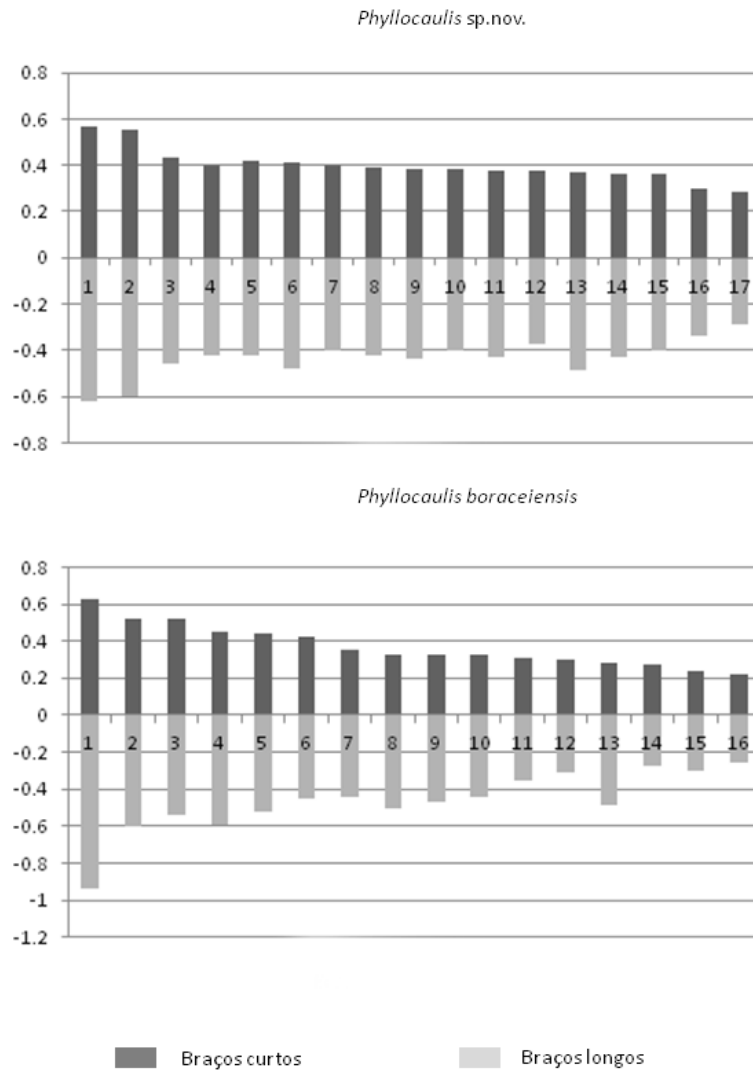


**Figura 6.** Dentes raucidianos de *Phyllocaulis* sp.nov. (A) e *Phyllocaulis boraceiensis* (B) em sobreposição. Legenda: medidas aferidas. 1. largura 2. altura 3. Perímetro. Barra = 10  $\mu$ m.



**Figura 7.** Cariograma e preparação evidenciando célula em metáfase de *Phyllocaulis* sp.nov. ( $2x=34$  cromossomos) (A) e *Phyllocaulis boraceiensis* ( $2x=32$  cromossomos) (B). Barra = 1  $\mu$ m.





**Figura 8.** Idiograma de *Phyllocaulis* sp.nov. ( $2x=34$  cromossomos) (A) e *Phyllocaulis boraceiensis* ( $2x=32$  cromossomos) (B). Medidas em  $\mu\text{m}$ .

**Tabela I.** Morfometria e classificação dos cromossomos de *Phyllocaulis* sp.nov. e *Phyllocaulis boraceiensis*.

Cromossomo*	Comprimento dos braços curtos	Comprimento dos braços longos	Comprimento total	Razão entre as médias dos braços (r = bl/bc)	Classificação	Ai
<i>Phyllocaulis</i> sp.nov. (2x=34 cromossomos)						
I	0.56	0.62	1.18	1.09	m	0,14
II	0.55	0.59	1.15	1.09	m	0,11
III	0.43	0.45	0.88	1.05	m	0,03
IV	0.41	0.42	0.83	1.01	m	0,01
V	0.41	0.47	0.89	1.14	m	0,06
VI	0.4	0.42	0.82	1.06	m	0,02
VII	0.39	0.40	0.79	1.02	m	0,01
VIII	0.39	0.42	0.81	1.07	m	0,03
IX	0.38	0.43	0.82	1.12	m	0,15
X	0.38	0.40	0.79	1.04	m	0,02
XI	0.37	0.43	0.80	1.14	m	0,07
XII	0.37	0.37	0.75	1.00	m	0
XIII	0.37	0.48	0.86	1.32	m	0,12
XIV	0.36	0.42	0.79	1.17	m	0,07
XV	0.36	0.40	0.76	1.11	m	0,05
XVI	0.29	0.33	0.63	1.13	m	0,06
XVII	0.28	0.28	0.57	1.00	m	0
						$\Sigma Ai=0,95$
<i>Phyllocaulis boraceiensis</i> (2x=32 cromossomos)						
I	0.63	0.94	1.57	1.49	m	0,53
II	0.52	0.60	1.12	1.15	m	0,13
III	0.52	0.54	1.06	1.04	m	0,04
IV	0.45	0.59	1.04	1.3	m	0,15
V	0.44	0.52	0.97	1.17	m	0,06
VI	0.42	0.45	0.87	1.07	m	0,03
VII	0.35	0.44	0.79	1.26	m	0,11
VIII	0.33	0.50	0.84	1.49	m	0,2
IX	0.33	0.47	0.81	1.42	m	0,17
X	0.33	0.44	0.78	1.34	m	0,14
XI	0.31	0.35	0.67	1.13	m	0,05
XII	0.30	0.31	0.62	1.05	m	0,01
XIII	0.28	0.49	0.77	1.77	sm	0,27
XIV	0.27	0.27	0.55	1	m	0
XV	0.24	0.30	0.54	1.23	m	0,11
XVI	0.22	0.26	0.48	1.19	m	0,08
						$\Sigma Ai = 2,08$

**Legenda.** r: razão entre o comprimento médio dos braços longos e curtos. bl: braço longo. bc: braço curto; m: metacêntrico; sm: submetacêntrico. \* cromossomos listados em ordem decrescente de comprimento do braço curto. Ai: assimetria do cromossomo.  $\Sigma$ : somatório

### **Estudo morfométrico de *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov.**

Os valores das medidas lineares tomadas de *P. boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov., bem como os resultados dos testes realizados para a comparação entre os valores médios obtidos para as duas espécies estão descritos na Tabela II. Foram observadas diferenças significativas entre as duas espécies na largura da sola e do hiponoto direito. Não foram observadas diferenças significativas no comprimento e largura do corpo.

Em relação às estruturas do sistema reprodutor, *P. boraceiensis* apresentou número significativamente maior de túbulos (longos + curtos) e maior largura dos túbulos curtos. *Phyllocaulis* sp.nov. apresentou maior comprimento dos túbulos curtos e longos, e menor número de túbulos longos e curtos e de bifurcação. Não foram encontradas diferenças significativas entre comprimento e largura da papila da glândula peniana (Tabela II; Figura 3 I e J).

Todas as medidas relacionadas ao complexo peniano foram diferentes entre as duas espécies. *Phyllocaulis boraceiensis* apresentou maior largura da espata, maior largura da glândula e maior razão entre o comprimento e largura da glândula, enquanto *Phyllocaulis* sp.nov. apresentou maior comprimento da espata, maior comprimento da glândula e maior razão entre comprimento e largura da espata (Tabela II; Figura 3 A e B).

Dentre as seis medidas lineares da glândula pediosa, apenas duas não diferiram significativamente entre as duas espécies. *Phyllocaulis boraceiensis* apresentou maior largura da abertura e maior comprimento total da glândula pediosa, enquanto *Phyllocaulis* sp.nov. apresentou maior largura da região proximal do corpo da glândula (Tabela II; Figura 3 G e H).

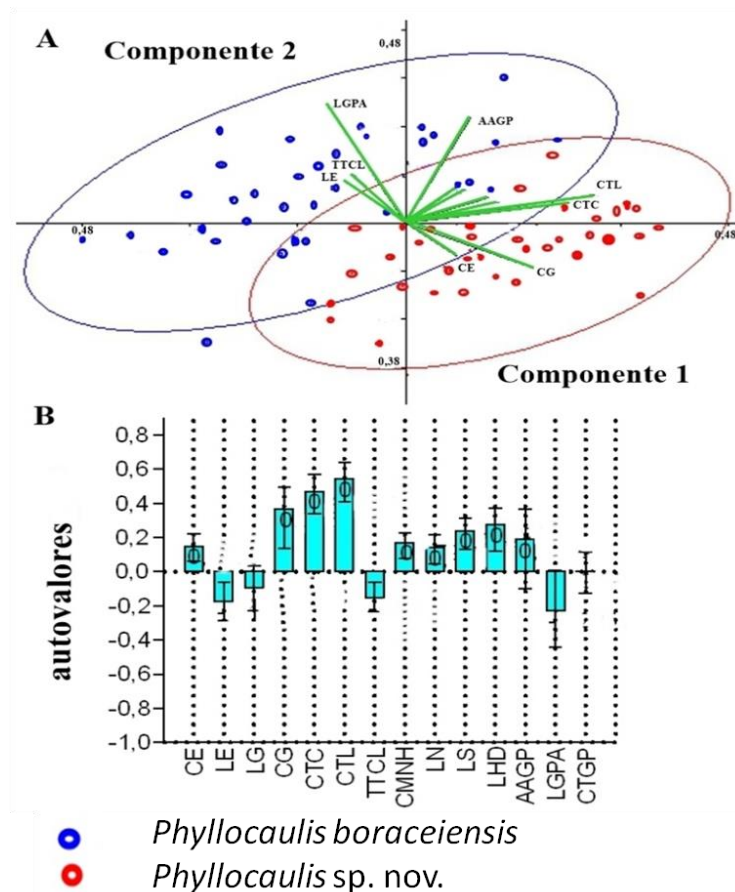
**Tabela II.** Morfometria comparada das espécies *Phyllocaulis boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. Número amostral 37 espécimes de idade de seis meses de cada espécie. Medidas em milímetros.

	<i>Phyllocaulis</i> sp.nov.		<i>Phyllocaulis boraceiensis</i>		Teste de Tukey
	Média ± DP (CV%)	Intervalo	Média ± DP (CV%)	Intervalo	
Comprimento e largura do corpo, noto, hiponoto e sola					
CMNH	135,45 ± 18,87 (13,93)	95 – 191	133,13 ± 18,21 (13,68)	90,5 – 168,2	F=0,28 - p=0,59
LN	42,30 ± 6,0 (14,18)	31,5 - 52,54	41,61 ± 6,08 (14,62)	28,1 - 56	F=0,24 - p=0,62
LS	17,58 ± 2,52 (14,34)	13,26 – 23,24	15,81 ± 3,08 (19,54)	10,12 – 25,03	*F=7,30 – p=0,008
LHD	14,65 ± 3,04 (20,80)	9,80 – 22,54	12,97 ± 2,50 (19,33)	8,16 – 19,11	*F=6,70 – p=0,01
Glândula peniana, número de túbulos, comprimento túbulos e papila					
NTC	7,24 ± 1,47 (20,42)	4 -10	8,67 ± 1,71 (19,78)	6 -10	*F=14,78 – p=0,001
CTC	11,10 ± 2,29 (20,68)	7,26 – 18,69	9,09 ± 2,87 (31,88)	5,55 – 19	*F=11,69 – p=0,001
LTC	0,43 ± 0,07 (17,19)	0,3 – 0,59	0,53 ± 0,11 (21,60)	0,31 – 0,9	*F= 19,5 – p=0,001
BTC	0,78 ± 0,88 (113,06)	0 – 3	2,64 ± 1,39 (52,80)	0 – 5	*F=46,93 – p=0,001
NTL	18,62 ± 1,6 (8,85)	15 – 22	23,16 ± 2,04 (8,84)	17 – 27	*F=136,4 – p=0,001
CTL	41,48 ± 7,47 (18,06)	24,8 – 56	34,98 ± 13,64 (38,99)	18,01 – 80	*F= 6,43 – p=0,01
LTL	0,73 ± 0,15 (21,41)	0,44 – 1,33	0,76 ± 0,17 (22,54)	0,38 1,1	F=0,74 – p=0,39
BTL	0,29 ± 0,57 (192)	0 – 2	2,59 ± 2,17 (83,97)	0 – 8	*F=38,49 – p=0,001
TTCL	25,40 ± 2,7 (10,63)	21 – 32	31,83 ± 2,9 (9,17)	26 – 38	*F=96,7 – p=0,001
CP	3,56 ± 0,8 (22,54)	2 – 5,28	3,7 ± 0,8 (21,68)	2,19 – 5,3	F=0,61 – p=0,43
LP	2,17 ± 0,49 (22,82)	1,46 – 3,57	2,41 ± 0,5 (21,95)	1,27 – 3,7	F=3,82 – p=0,05
Complexo peniano – espata e glândula					
CE	9,25 ± 1,19 (12,96)	7,55 – 12	8,0 ± 0,99 (12,38)	6,26 – 10,22	*F=23,85 – p=0,001
LE	4,02 ± 0,7 (17,41)	2,99 – 6	4,91 ± 0,62 (12,79)	3,69 – 6,37	*F=33,14 – p=0,001
RCLE	2,45 ± 0,49 (21)	1,47 – 3,5	1,65 ± 0,31 (18,83)	1,01 – 2,35	*F=56,03 – p=0,001
CG	2,72 ± 0,56 (20,94)	1,81 – 3,95	2,05 ± 0,50 (24,75)	1,2 – 3,15	*F=27,93 – 0,001
LG	1,28 ± 0,16 (12,43)	0,9 – 1,7	1,49 ± 0,28 (19,23)	0,87 – 2,3	*F=15,02 – p=0,001
RLG	0,49 ± 0,11 (24,75)	0,27 – 0,76	0,77 ± 0,25 (32,64)	0,36 – 1,53	*F=37,59 – 0,001
Glândula pediosa – abertura e corpo da glândula					
LGPA	3,04 ± 0,56 (18,40)	1,59 – 5	4,27 ± 0,89 (20,95)	2,44 – 6,57	*F=49,76 – p=0,001
AAGP	2,79 ± 0,75 (27,07)	1,31 – 4,09	2,72 ± 0,56 (20,68)	1,57 – 4	F=0,25 – p=0,61
LGPCP	1,82 ± 0,31 (17,07)	1,21 – 2,67	1,6 ± 0,38 (23,97)	0,7 – 2,37	*F=6,40 – p=0,01
LGPCD	1,30 ± 0,20 (15,76)	0,96 – 1,74	1,15 ± 0,22 (19,56)	0,7 – 1,6	*F=8,59 – p=0,04
RGPPD	1,41 ± 0,24 (17,52)	1 – 1,83	1,41 ± 0,31 (22,62)	0,95 – 2,12	F=0,01 – p=0,98
CTGP	19,35 ± 2,64 (13,69)	15,61 – 28,07	21,68 ± 3,64 (3,64)	16 – 28,6	*F=9,85 – p=0,002

**Legenda:** \* Diferença significativa. CMNH: média entre o comprimento do noto e hiponoto, LS: largura da sola, LN: largura do noto, LHD: largura do hiponoto direito, NTC: número de túbulos curtos, CTC: comprimento dos túbulos curtos, LTC: largura dos túbulos curtos, BTC: número de túbulos curtos com bifurcações, NTL: número de túbulos longos, CTL: comprimento dos túbulos longos, LTL – largura dos túbulos longos, BTL: número de túbulos longos com bifurcações, TTCL: número total de túbulos (curtos + longos), CP: comprimento da papila, LP: largura da papila, CE: comprimento da espata, LE: largura da espata, RCLE: razão entre comprimento e largura da espata, CG: comprimento da glândula, LG: largura da glândula, RCLG: razão entre comprimento e largura da glândula, LGPA: largura da abertura da glândula pediosa, AAGP: Altura da abertura da glândula pediosa, LGPCP: largura na região proximal do corpo glândula pediosa, LGPD: largura na região distal do corpo da glândula pediosa, RGPPD: razão entre largura do corpo da glândula pediosa na região distal e proximal, CTGP: comprimento total da glândula pediosa.

### Análise de componentes principais

Através da análise de componentes principais realizada para os dados morfométricos das duas espécies foi possível verificar que alguns caracteres apresentaram variação suficiente para separá-las, confirmando os resultados da análise de variância. Os três primeiros eixos explicaram 63,12% da variação total entre os 14 componentes analisados. O primeiro eixo explicou 33,72% da variação total (Comprimento dos túbulos longos) e o segundo eixo e o terceiro explicaram respectivamente 17,64% e 11,76 (comprimento dos túbulos curtos e comprimento da glande). O tamanho em comprimento e largura dos espécimes apresentou pouca contribuição na variância, resultado que vem confirmar que o tamanho dos animais não afetou as medidas das estruturas analisadas como comprimento dos túbulos da glândula peniana ou largura da abertura da glândula pediosa (Tabela III; Figura 9).



**Figura 9.** Análise de componentes principais com 10.000 replicações. **A:** gráfico de dispersão das medidas lineares tomadas de *Phyllocaulis sp.nov.* e *Phyllocaulis boraceiensis*. **B:** Gráfico com autovalores em % dos 14 componentes analisados. **Componentes:** CMNH: média entre o comprimento do noto e hiponoto, LS: largura da sola, LN: largura do noto, LHD: largura do hiponoto direito, CTC: comprimento dos túbulos curtos, CTL: comprimento dos túbulos longos, TTCL: número total de túbulos (curtos + longos), CE: comprimento da espata, LE: largura da espata, CG: comprimento da glande, LG: largura da glande, LGPA: largura da abertura da glândula pediosa, AAGP: altura da abertura da glândula pediosa, CTGP: comprimento total da glândula pediosa.

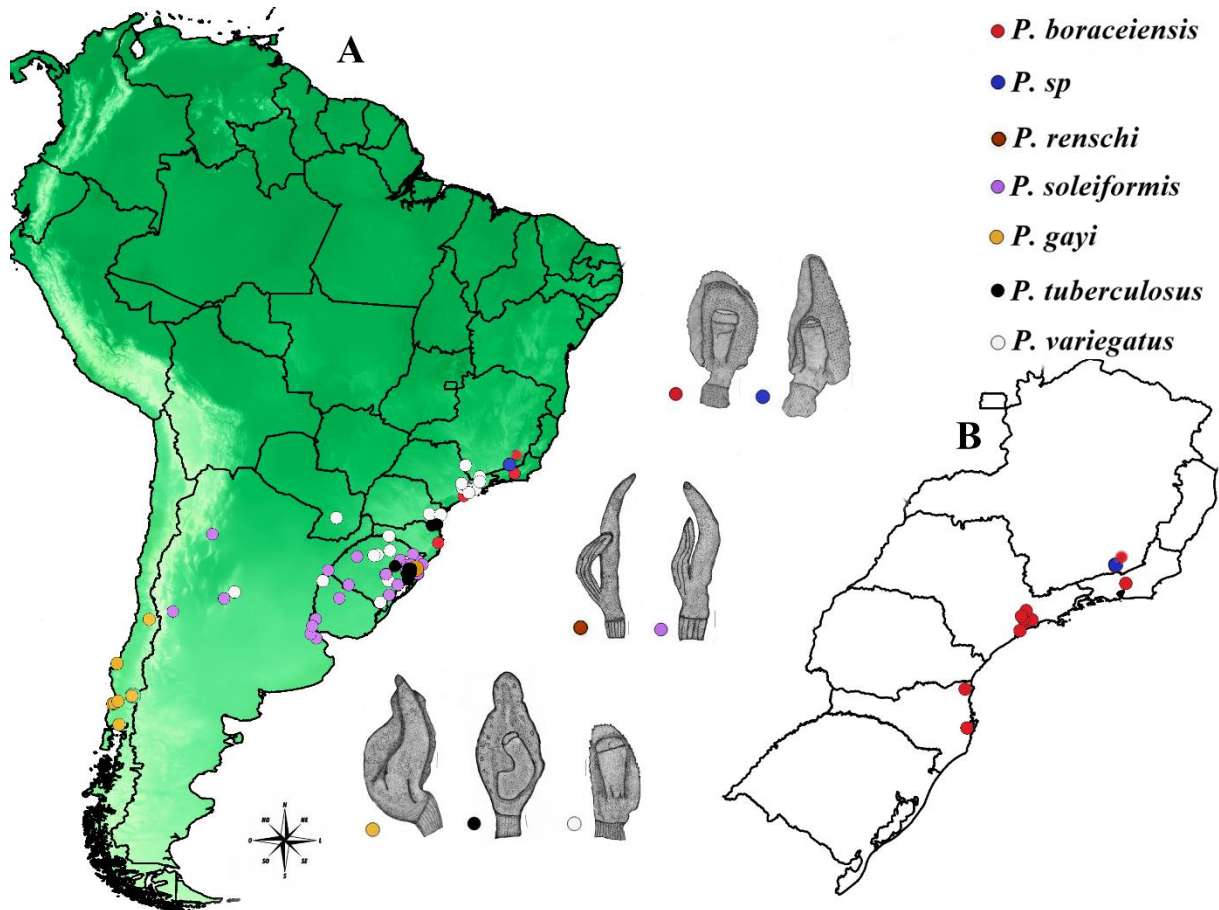
**Tabela III.** Resultados da Análise de componentes principais: autovalores dos eixos 1 e 2, variância dos 14 componentes. Valores em %.

	Autovalores		Variância
	eixo 1	eixo 2	
CTL	0,5416	0,1341	33,724
CTC	0,4694	0,09679	17,645
CG	0,3661	-0,2164	11,768
LHD	0,2738	0,107	7,5562
LGPA	-0,2251	0,571	6,2266
LS	0,2394	0,122	4,7007
LE	0,1875	0,2027	3,9785
AAGP	-0,1739	0,2027	3,1365
CMNH	0,1709	0,1631	2,8981
CE	0,1479	-0,1603	2,3864
TTCL	-0,1529	0,2339	2,0648
LN	0,1437	0,1667	1,8306
LG	-0,09346	0,2332	1,3322
CTGP	0,004172	0,2977	0,75257
TOTAL			100,02

**Legenda:** CMNH: média entre o comprimento do noto e hiponoto, LS: largura da sola, LN: largura do noto, LHD: largura do hiponoto direito, CTC: comprimento dos túbulos curtos, CTL: comprimento dos túbulos longos, TTCL: número total de túbulos (curtos + longos), CE: comprimento da espata, LE: largura da espata, CG: comprimento da glândula, LG: largura da glândula, LGPA: largura da abertura da glândula pediosa, AAGP: Altura da abertura da glândula pediosa, CTGP: comprimento total da glândula pediosa.

### **Distribuição geográfica de espécies do gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922 e *Vaginulus* Férussac, 1822.**

O gênero *Phyllocaulis* apresenta registros de distribuição para o Sul da América do Sul, incluindo o Brasil, Argentina, Chile, Paraguai e Uruguai, entre as latitudes -21.752119 e -39.8885571 e longitudes -42.970315 e -73.6661734. No Brasil a distribuição consta de um registro para o estado do Rio de Janeiro, dois registros para Paraná, três registros para Minas Gerais, seis registros para Santa Catarina, 15 registros para São Paulo e 44 registros para o Rio Grande do Sul (Tabela IV; Figura 10). *Phyllocaulis variegatus* apresenta distribuição mais ampla, com registros para o Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai.



**Figura 10.** Distribuição geográfica e morfologia do complexo peniano das espécies dos gêneros *Phyllocaulis*. **A:** Distribuição do gênero *Phyllocaulis* na América do Sul. *P. gayi*, ilustração modificada de Thomé (1971), *P. soleiformis*, modificada de Gomes *et al.* (2010), *P. renschi* modificada de Gomes *et al.* (2010), *P. tuberculosus*, modificada de Gomes *et al.* (2010), *P. variegatus*, modificada de Thomé (1969), *P. boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. (Presente estudo). **B:** Distribuição das espécies *P. boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp.nov. no Brasil.

**Tabela IV.** Dados de ocorrência das espécies do gênero *Phyllocaulis*, obtidas a partir da literatura e registros de coleções na rede *SpeciesLink*.

Espécie	Localidade	Estado	País	Latitude	Longitude	Referências
<i>P. boraceiensis</i>	São Paulo	SP	Brasil	-23.548198	-46.633260	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Rio Grande	SP	Brasil	-23.791469	-46.523472	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Rio Grande da Serra	SP	Brasil	-23.743636	-46.392633	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Estação Raiz de Serra	SP	Brasil	-23.721927	-46.692476	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Serra da Cantareira	SP	Brasil	-23.413930	-46.600258	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Taboão de Serra	SP	Brasil	-23.612576	-46.772533	Piza (2007)
<i>P. boraceiensis</i>	Itanhaém	SP	Brasil	-24.138872	-46.825122	Gomes <i>et al.</i> (2010)
<i>P. boraceiensis</i>	Santo Amaro	SC	Brasil	-27.684342	-48.757687	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Joinville	SC	Brasil	-26.268636	-48.823308	Thomé (1976)
<i>P. boraceiensis</i>	Teresópolis	RJ	Brasil	-22.420535	-42.970315	Vilanova <i>et al.</i> (2006)
<i>P. boraceiensis</i>	Juiz de Fora	MG	Brasil	-21.796303	-43.357189	Presente estudo
<i>Phyllocaulis</i> sp.nov.	Juiz de Fora	MG	Brasil	-21.752119	-43.329101	Presente estudo
<i>P. variegatus</i>	São Leopoldo	RS	Brasil	-29.753456	-51.158927	Berschinger & Thomé (1988)
<i>P. variegatus</i>	Córdoba – Ella	-	Argentina	-31.4093574	-64.192334	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Villarrica	-	Paraguai	-25.791802	-56.470972	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Nova Petrópolis	RS	Brasil	-29.370222	-51.101524	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Poços de Caldas	MG	Brasil	-21.8179303	-46.6848873	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Passo Fundo	RS	Brasil	-28.269514	-52.415266	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Porto Alegre	RS	Brasil	-30.047480	-51.046064	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Cambará do Sul	RS	Brasil	-29.0584369	-50.2835528	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Gramado	RS	Brasil	-29.3796468	-50.9015735	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Vasconcelos Jardim	RS	Brasil	-29.3796468	-50.9015735	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Rio Pardo	RS	Brasil	-30.078893	-52.7111037	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Caxias do Sul	RS	Brasil	-29.1653407	-51.2439644	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Ibirubá	SC	Brasil	-28.5853969	-53.3578612	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Salesópolis	SP	Brasil	-23.5773413	-45.913369	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Rio Pardo	RS	Brasil	-30.078893	-52.7111037	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Tramandaí	RS	Brasil	-30.0316428	-50.3042113	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Nova Teotônia	SC	Brasil	-27.1610357	-52.4869551	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Curitiba	PR	Brasil	-25.4947751	-49.4278293	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Campos do Jordão	SP	Brasil	-22.6925089	-45.6083622	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Ipiranga	SP	Brasil	-23.5843587	-46.6197526	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Barueri	SP	Brasil	-23.5106643	-46.9176272	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Estação Raiz de Serra	SP	Brasil	-23.875186	-46.4440289	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Jundiáí	SP	Brasil	-23.1895252	-46.9769124	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Cambará do Sul	RS	Brasil	-29.0584369	-50.2835528	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Arrigas	-	Uruguai	-30.5660157	-57.4986807	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Taubaté	SP	Brasil	-23.0447949	-45.6129226	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Paranaguá	PR	Brasil	-25.5482604	-48.572699	Thomé (1976)
<i>P. variegatus</i>	Cruz Alta	RS	Brasil	-28.6415466	-53.6269118	Gomes (2007)
<i>P. variegatus</i>	Encruzilhada do Sul	RS	Brasil	-30.5458858	-52.5422211	Gomes, <i>et al.</i> (2010)
<i>P. variegatus</i>	Arroio Grande	RS	Brasil	-32.1932485	-53.139678	Gomes, <i>et al.</i> (2010)
<i>P. variegatus</i>	Canela	RS	Brasil	-29.3476489	-50.8394537	Gomes, <i>et al.</i> (2010)
<i>P. gayi</i>	Corral	-	Chile	-39.8885571	-73.4403749	Thomé (1976)
<i>P. gayi</i>	Desagué	-	Chile	-33.4849258	-70.6669671	Thomé (1976)
<i>P. gayi</i>	Valdivia	-	Chile	-39.8350133	-73.3061734	Thomé (1976)
<i>P. gayi</i>	Concepcion	-	Chile	-36.8261411	-73.1032568	Thomé (1976)
<i>P. gayi</i>	Putabla	-	Chile	-39.6857197	-73.0397041	Thomé (1976)
<i>P. gayi</i>	Puerto Mont	-	Chile	-41.4625134	-72.9655706	Thomé (1976)
<i>P. gayi</i>	Auracania	-	Chile	-39.266111	-71.900028	<i>SpeciesLink</i> acesso12/2015
<i>P. gayi</i>	Pucón	-	Chile	-39.2804107	-71.9679565	Gomes (2007)



**Tabela IV.** Continuação.

Espécie	Localidade	Estado	País	Latitude	Longitude	Referências
<i>P. soleiformis</i>	Tucumán	-	Argentina	-27.0254277	-65.8818465	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	La Plata	-	Argentina	-34.9204529	-57.9882755	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Provincia de Gordoba	-	Argentina	-31.9093574	-64.992334	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Quadalupe	-	Argentina	-34.5892302	-58.4203849	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Mendoza	-	Argentina	-32.8832979	-68.8760716	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Tambores	-	Uruguai	-31.8818016	-56.2514592	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Soriano	-	Uruguai	-33.4757394	-58.0436654	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Niteroi – Canoas	RS	Brasil	-29.9520953	-51.1612475	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Veranópolis	RS	Brasil	-28.9800348	-51.6374136	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Porto Alegre	RS	Brasil	-30.047480	-51.046064	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Nova Petrópolis	RS	Brasil	-29.370222	-51.101524	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Carmelo	-	Uruguai	-33.993816	-58.2965282	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Cambará do Sul	RS	Brasil	-29.0584369	-50.2835528	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Sapucaia do Sul	RS	Brasil	-29.8227362	-51.1681243	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Distrito de Rosário do Sul	RS	Brasil	-29.8227362	-51.1681243	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Uruguaiana	RS	Brasil	-29.7701006	-57.0952816	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Torres	RS	Brasil	-29.3284276	-49.9468099	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Tramandaí	RS	Brasil	-30.0316428	-50.3042113	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Pelotas	RS	Brasil	-31.6243015	-52.4726445	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Livramento	RS	Brasil	-30.8786882	-55.5487304	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Bom Jesus	RS	Brasil	-28.5453004	-50.6743708	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Rio Pardo	RS	Brasil	-30.078893	-52.7111037	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Taquara	RS	Brasil	-29.6555491	-50.8091532	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Camaquã	RS	Brasil	-30.8525635	-51.8234536	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Bossoroca	RS	Brasil	-28.7290362	-54.9127657	Thomé (1976)
<i>P. soleiformis</i>	Canela	RS	Brasil	-29.3476489	-50.8394537	Thomé (1976)
<i>P. renschi</i>	Riozinho	RS	Brasil	-29.6405176	-50.4672537	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Viamão	RS	Brasil	-30.0973691	-51.0852386	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Nova Petrópolis	RS	Brasil	-29.970222	-51.101524	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Canela	RS	Brasil	-29.9476489	-50.8394537	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Porto Alegre	RS	Brasil	-30.447480	-51.046064	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Taquara	RS	Brasil	-29.6555491	-50.8091532	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Lajeado	RS	Brasil	-29.4498961	-52.0306067	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Joinville	SC	Brasil	-22.920535	-42.970315	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Região do Rio Itaporú	SC	Brasil	-26.3739831	-49.2344137	Thomé (1976)
<i>P. tuberculosis</i>	Sapiranga	RS	Brasil	-29.64104	-51.0113045	Gomes (2007)

**Tabela V.** Caracterização morfométrica do complexo peniano, glândula peniana e glândula pediosa de espécies do gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922

Espécies	Espata			Glande		Túbulos longos e curtos		Glândula pediosa		Tamanho do corpo		Referências
	N	L	c	l	c	N	c	l	c	c	L	
<i>Phyllocaulis</i> sp.nov.	37	4,01	9,25	1,28	2,72	25,4	41,48 – 11,10	3,04	19,35	135,45	42,30	Presente estudo
<i>P. boraceienseis</i>	37	4,91	8	1,49	2,05	31,83	34,98 – 9,09	4,27	21,68	133,13	41,61	Thomé (1972b, 1976) e presente estudo
<i>P. variegatus</i>	30	2,91	5,15	1,6	1,93	27	45,99 – 14,09	4,32	15,30	90	34,6	Bertschinger & Thomé (1988)
<i>P. tuberculosus</i>	4	6,87	11,5	2,5	7,5	57	35 – 16	2,4	17,39	102	35,25	Thomé (1971)
<i>P. renschi</i>	15	-----	-----	-----	-----	22	-----	-----	-----	28	7	Thomé (1965)
<i>P. soleiformis,</i>	30	2,06	-----	1,39	6,49	31,43	38,01 - 12,25	3,17	21,21	79,20	29,10	Bertschinger & Thomé (1987)
<i>P. gayi</i>	1	3,5	7	1,8	7,5	33	23 – 15	2,1	8,6	45	17	Thomé (1971)

**Legenda N:** número de espécimes analisados; n: número de túbulos; l: largura; c: comprimento.

**Tabela VI.** Caracterização qualitativa do complexo peniano, glândula peniana e glândula pediosa de espécies do gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922.

Espécies	Espata			Glândula		Glândula pediosa		Glândula peniana		Referências
	Morfologia	Ornamentação	Bordas	Ornamentação		Posição	Morfologia	Túbulos com bifurcação	Mamilo	
<i>Phyllocaulis sp.nov.</i>	Triangular	Espinhos na parte interna	Serrilhadas	Espinhos laterais ausentes ou presentes e discretos	Anel distal, com lóbulo na região posterior	Presa à região do anel nervoso	Largura diminui gradativamente	Presentes ou ausentes	Ausente	Presente estudo
<i>P. boraceiensis</i>	Arredondada	Espinhos na parte interna	Serrilhadas	Espinhos laterais, conspícuos	Anel distal, com franja de espinhos	Presa a região do anel nervoso	Ampla largura na abertura, sofrendo estreitamento súbito no corpo da glândula	Presentes ou ausentes	Ausente	Thomé (1972b), Presente estudo
<i>P. variegatus</i>	Foliácea	Ausente	Serrilhadas	Espinhos laterais ausentes ou presentes	Leves projeções	-----	Largura uniforme / dobramento para esquerda. Largura diminui gradativamente	Presentes ou ausentes	Ausente	Bertschinger e Thomé (1988); Soares & Thomé (2002)
<i>P. tuberculosus</i>	Foliácea	Tubérculos, rugas, espinhos quando presentes esparsos	Serrilhadas	Espinhos laterais	Lábio delgado	-----	Ampla abertura, sofrendo estreitamento súbito no corpo da glândula.	Ausentes	Presente ou ausente	Thomé (1971)
<i>P. renschi</i>	Cilíndrica	Ausentes	Lisas	Ausente	Ausentes	-----	Largura diminui gradativamente.	-----	Ausente	Thomé (1965)
<i>P. soleiformis</i>	Cilíndrica	Ausentes	Lisas	Ausente	-----	-----	Largura uniforme	-----	-----	Bertschinger e Thomé (1987)
<i>P. gayi</i>	Foliácea	Nervura na parte externa	Lisas	Ausente	Extremidade distal cônica, ponta limitada por fina nervura	Livre na cavidade	Largura diminui gradativamente	Ausentes	Ausente	Thomé (1971)

## DISCUSSÃO

No presente estudo é descrita uma nova espécie do gênero *Phyllocaulis* utilizando a abordagem citogenética e morfológica, incluindo estruturas do sistema reprodutor, digestivo e glandular, bem como a análise morfométrica dessas estruturas. Dentre as espécies do gênero, *P. boraceiensis* apresenta maior similaridade com *Phyllocaulis* sp.nov. uma vez que ambas as espécies apresentam complexo peniano formado por soquete curto, glândula cilíndrica e espata ornamentada com espinhos, além de perinotos destacados e bolsas de copulação muito similares.

Entretanto, *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis* podem ser distintas pelas características morfológicas e morfométricas do complexo peniano, glândula peniana, glândula pediosa e rádula, bem como pela pigmentação corporal. Dessa forma, o presente estudo confirma o valor diagnóstico das estruturas do complexo peniano e da glândula peniana, tradicionalmente utilizadas para a distinção das espécies de *Phyllocaulis* (THOMÉ, 1972b), bem como da glândula pediosa e rádula, melhor exploradas recentemente (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1987; SOARES & THOMÉ, 2002; MARSUR & THOMÉ, 2008). Entretanto, a integração de todos esses caracteres diagnósticos, bem como o estudo morfométrico dessas estruturas é essencial, uma vez que as diferenças observadas em espécies próximas podem ser erroneamente consideradas como produto da variabilidade intra-específica, o que não é incomum para espécies do gênero *Phyllocaulis* (SOARES & THOMÉ, 2002; MARSUR & THOMÉ, 2008; GOMES *et al.*, 2010).

Vale ressaltar que a análise de dispersão realizada com os dados morfométricos de *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis*, mostrou que alguns caracteres apresentaram variação suficiente para separar as duas espécies e que o tamanho dos animais pouco contribuiu com a variância. Dessa forma, pode-se concluir que os padrões de comprimento e largura das estruturas anatômicas analisadas não foram influenciados pelo tamanho corporal dos animais.

Apesar de ambas as espécies apresentarem certa similaridade no complexo peniano, *Phyllocaulis* nov. pode ser diferenciada de *P. boraceiensis*, por apresentar espata mais estreita e alongada, de forma triangular, recoberta por espinhos curtos e na sua origem, a espata se encontra concrecida ao soquete. A glândula encontra-se em posição reta, com toda a sua extensão em contato com a espata e apresenta um lóbulo próximo à abertura. Enquanto em *P. boraceiensis* a espata tem forma arredondada, recoberta por espinhos longos, não é concrecida ao soquete e apresenta uma reentrância na parte proximal a base. Além disso, a glândula não apresenta projeção, é dobrada em sua porção distal e, portanto, não se acomoda completamente dentro da concavidade da espata.

*Phyllocaulis* sp.nov. pode ser diferenciada das demais espécies do gênero *Phyllocaulis* pela morfologia do complexo peniano. *Phyllocaulis soleiformis* e *P. renschi* apresentam espata cilíndrica sem espinhos, a qual não envolve a glândula (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1987). *Phyllocaulis gayi* apresenta glândula de maior comprimento que a espata e não apoiada em uma concavidade (THOMÉ, 1972b). *Phyllocaulis variegatus* apresenta espata carnosa e sem espinho e *P. tuberculosus* apresenta pênis de forma foliar, carnoso, com projeções em forma de tubérculos e glândula com lábio em sua extremidade distal (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1988). Além das características supracitadas, *Phyllocaulis* sp.nov. pode ainda ser diferenciada de *P. variegatus* e *P. tuberculosus* pela morfometria do complexo peniano.

Em relação à glândula peniana, *Phyllocaulis* sp.nov. apresenta número de túbulos e medida de comprimento médio similar ao observado para *P. variegatus*. As duas espécies apresentam túbulos mais longos e em menor número quando comparadas às demais espécies do gênero, incluindo *P. boraceiensis* (BERTSCHINGER & THOMÉ, 1988; THOMÉ, 1971).

De acordo com Thomé (1972), o espécime da localidade de Juiz de Fora designado como parátipo de *P. boraceiensis* (MRCN- 3.405), apresentava menor número de túbulos da glândula peniana, quando comparado aos demais parátipos e ao holótipo. Os dados morfométricos descritos pelo autor, bem como as características de pigmentação, correspondem ao observado para a espécie *Phyllocaulis* sp.nov. sugerindo que esse espécime, na verdade, pertence à espécie descrita no presente estudo e não a *P. boraceiensis*.

A descrição da glândula pediosa de *P. boraceiensis* realizada por Thomé (1972) confirma as diferenças observadas entre essa espécie e *Phyllocaulis* sp.nov. no presente estudo. A glândula pediosa *Phyllocaulis* sp.nov. apresenta morfologia similar a de *P. variegatus* e *P. gayi*, nas quais a largura da glândula diminui gradativamente (THOMÉ, 1972; BERTSCHINGER & THOMÉ, 1988). Essas espécies se diferenciam de *P. boraceiensis* e *P. tuberculosus*, que apresentam glândula pediosa com ampla abertura e com parte do corpo da glândula sofrendo súbito estreitamento.

Só recentemente, a caracterização da rádula vem sendo realizada em estudos comparativos e de redescrição de espécies de veronicelídeos (MARSUR & THOMÉ, 2008; GOMES *et al.*, 2008). Pelo menos para o gênero *Phyllocaulis*, os aspectos qualitativos e morfométricos parecem ser bons caracteres adicionais para a diferenciação das espécies. No presente estudo, as rádulas de *P. boraceiensis* e *Phyllocaulis* sp. nov. apresentam diferenças sutis, relacionadas principalmente ao dente raquidiano.

No presente estudo, observamos diferenças significativas na morfoanatomia do complexo peniano e glândula peniana de *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis*.

Tradicionalmente, as estruturas do aparelho reprodutor masculino são utilizadas para a diferenciação de espécies de veronicelídeos, bem como para a distinção entre gêneros, sendo fundamentais na taxonomia da família. Entre os gastrópodes pulmonados, as estruturas do aparelho reprodutor masculino relacionadas à cópula, tais como o complexo peniano e órgãos estimuladores auxiliares, bem como estruturas do aparelho feminino responsáveis pela recepção de espermatozoides apresentam frequentemente morfologia espécie-específica e, portanto, considerável importância taxonômica (BARKER, 2001). Acredita-se que tal importância esteja relacionada ao papel biológico dessas estruturas no reforço das barreiras reprodutivas entre espécies (HEALY, 2001). Os gastrópodes pulmonados possuem o sentido da visão pouco desenvolvido e o reconhecimento de coespecíficos para o acasalamento, durante o processo de corte e cópula se dá através da percepção química e tátil. Por essa razão, é esperado que glândulas acessórias que liberem compostos químicos, voláteis ou não, bem como estruturas com ornamentação que permitam o reconhecimento de coespecíficos variem entre as espécies. Além disso, a evolução das estruturas relacionadas ao processo de corte e cópula está sujeita a pressões relacionadas à seleção sexual, conflito sexual e escolha críptica da função feminina e por isso espera-se uma modificação mais rápida dessas estruturas quando comparadas a outras do sistema reprodutor ou mesmo de outros sistemas. A função da glândula peniana em veronicelídeos ainda não é totalmente conhecida. Entretanto, a essa estrutura têm sido atribuídas funções de manutenção da cópula, estímulo da abertura genital feminina, bem como um papel na sobrevivência dos espermatozoides (KOENE & CHASE, 1998; CHASE & BLANCHARD, 2006; CLARK & FILDES, 2013). Nesse contexto, as diferenças observadas na morfologia e morfometria da glândula, espata e glândula peniana de *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis* podem ser consideradas como evidências da divergência entre essas espécies.

No presente estudo, os resultados do estudo citogenético corroboraram as diferenças morfológicas observadas entre *Phyllocaulis* sp.nov. e *P. boraceiensis*. As duas espécies apresentam número haploide de cromossomos de 17 e 16, respectivamente. Esse número é próximo ao descrito para a família por Burch (1967).

Apesar da representatividade da família na região neotropical e, particularmente no Brasil, bem como as ferramentas modernas disponíveis em genética, biologia molecular e microscopia, a maior parte dos gêneros e espécies permanece caracterizada com base em poucas estruturas do sistema reprodutor. Esse fato é particularmente devido à escassez de taxonomistas dedicados ao estudo desses animais e é provável que a diversidade de veronicelídeos no Brasil seja subestimada. A descoberta de uma nova espécie com ocorrência

em Minas Gerais evidencia a necessidade de estudos taxonômicos e inventários nesse estado, para o qual havia, até o momento, o registro de apenas duas espécies.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, H. B. 1925. Nomenclature of Veronicellidae (Vaginulidae). **The Nautilus**, v. 39 (1), p. 13–18.
- BAKER, H. B. 1926. Veronicellidae from British Guiana. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 78, p. 29–34.
- BAKER, H. B. 1931. Notes on West Indian Veronicellidae. **Nautilus**, v. 44 (4), p. 131–137.
- BARKER, G. M. 2001. **The Biology of Terrestrial Mollusks**. Cabi Publishing Series: New York, v. 558 pp.
- BERTSCHINGER, R. J.; THOMÉ, J. W. 1987. Contribuição à caracterização de *Phyllocaulis soleiformis* (D'Orbigny, 1835). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 4(3), p. 215-233.
- BERTSCHINGER, R. J.; THOMÉ, J. W. 1988. Contribuição à recharacterização de *Phyllocaulis variegatus* (Semper, 1885), (Gastropoda; Veronicellidae). **Veritas**, v. 33, p. 573-592.
- BRUSCA, R. C; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2 edição. Massachusetts: Sinauer; 2002.
- BURCH, J. B. Cytological relationships of some Pacific gastropods. **Venus**, v. 25, pp. 118-135.1967.
- CAPINERA, J. L., RODRIGUES, C. G. 2015. Biology and control of the leather leaf slug *Leidyula floridana* (Mollusca: Gastropoda: Veronicellidae). **Florida Entomologist**. v. 98(1), p. 243–253.
- CARVALHO, C. M. 2009. **História de vida e variabilidade morfológica e molecular de *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, pulmonata, Subulinidae)**. Dissertação em mestrado em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal). Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora. 158p.
- CHASE, R.; K. C. BLANCHARD. 2006. The snail's love-dart delivers mucus to increase paternity. **Proceeding of the Royal Society**. v.73. p. 1471–1475
- CLARKE, B.; ARTHUR, W.; HORSLEY, D.T.; D.T. PARKIN. 1975. **Genetic variation and natural selection in pulmonate molluscs**. p. 215-267. In: V. FRETTER & J. PEAK (Ed.). Pulmonates. V. 1. London, Academic Press, VII+417 p. 215-267.
- CLARKE, N; FIELDS, A. 2013 Mating in *Veronicella sloanii* (Cuvier, 1817) (Veronicellidae). **American Malacological Bulletin**, v.31(2) p.235–244.
- COIFMANN, I. 1935. Vaginulidi raccolti dal Prof. Beccari nella Guiana Inglese. **Bolletino di Zoologia**, v. 6(1), p. 325–332.
- COIFMANN, I. 1934. Su una nuova specie di Vaginula Sud-Americana. **Bolletino di Zoologia**, v. 5(1), p. 25–31.



Coleção de Moluscos (MCP-Moluscos) disponível na rede speciesLink (<http://www.splink.org.br>) em 14 de Janeiro de 2016.

COLOSI, G. 1922. Contributo alle conoscanza e sistemática dei sud Vaginulidi sud americani. **Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Buenos Aires**, v. 23, p. 475–517.

COWIE, R.H. 1997. Catalog and bibliography of the nonindigenous nonmarine snails and slugs of the Hawaiian Islands. **Bishop Museum Occasional Papers**, v. 50, p. 1– 66.

DELICADO, D., RAMOS, M.A. 2012. Morphological and molecular evidence for cryptic species of springsnails [genus *Pseudamnicola* (*Corrosella*) (Mollusca, Caenogastropoda, Hydrobiidae)] **ZooKeys**, v. 190, p. 55–79.

DUNDEE, D. S; WATT, P. 1962. New Orleans greenhouse gastropods with a list of some other southern snails. **Proc. La Acad. Sci**, v.25, p. 47-49.

FORCART, L. 1969. Veronicellid land slugs from the New Hebrides, with description of *Semperula solemi*, new species. **Fieldiana, Zoology**, v. 5(12), p. 147–156.

Global Biodiversity Information facility,  
[http://www.gbif.org/species/search?q=Veronicellidae&dataset\\_key=d7dddbf4-2cf0-4f39-9b2a-bb099caae36c&offset=40](http://www.gbif.org/species/search?q=Veronicellidae&dataset_key=d7dddbf4-2cf0-4f39-9b2a-bb099caae36c&offset=40) / Acessado em: 05/010/2015.

GOMES, S. R. 2007. **Filogenia morfológica de Veronicellidae, filogenia molecular de *Phyllocaulis* Colosi e descrição de uma nova espécie para a família (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata)**. Dissertação em doutorado em Biologia Animal Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.174p.

GOMES, S. R; PICANÇO, J. B; SCHILTHUIZEN, M; THOMÉ, J.W. 2008. *Valiguna flava* (Heynemann, 1885) from Indonesia and Malaysia: Redescription and Comparison with *Valiguna siamensis* (Martens, 1867) (Gastropoda: Soleolifera: Veronicellidae). **The Veliger**, v.50 (3), p.163-170.

GOMES, S. R., SILVA, F. B., MENDES, I. L.V. THOMÉ, J. W., BONATTO, S. L. 2010. Molecular phylogeny of the South American land slug *Phyllocaulis* (Mollusca, Soleolifera, Veronicellidae). **Zoologica Scripta**, v. 39( 2), p. 177–186.

GOMES, S. R., ROBINSON, D. G., ZIMMERMAN, F. J., OBREGÓN, O., BARR, N. B. 2013 Morphological and molecular analysis of the andean slugs *Colosius confusus*, N. Sp., newly recognized pest of cultivated flowers and coffee from Colombia, Ecuador and Peru, and *Colosius pulcher* (Colosi, 1921) (gastropoda, Veronicellidae). **Malacologia**, v.56 (1-2), p. 1-30.

GRIMPE, G; HOFFMANN, H. 1925. Die Nacktschnecken Von Neu-Caledonien, den Loyalty-Inseln und den Neuen-Hebriden. In: Sarasin, F. & Roux, J. Nova Caledonia, Zoologie. **C. W. Kreidel's Verlag**, v.3, p.339-476.

HEALY, J.M. Spermatogenesis and oogenesis. In: BARKER, G. M. (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. London, CABI Publishing, X+552p, p. 357-382. 2001

HOFFMANN, H. 1927. Ueber Vaginuliden aus dem Reichsmuseum Stockholm. **Archivio Zoologico**. v. 19(25), p. 1–39.

KOENE, J. M; R. CHASE. 1998. Changes in the reproductive system of the snail *Helix aspersa* caused by mucus from the love dart. **The Journal of Experimental Biology** v.201, p. 2313–2319.

KOENE J. M. 2006. Tales of two snails: sexual selection and sexual conflict in *Lymnaea stagnalis* and *Helix aspersa*. *Integrative and Comparative Biology*, v. 46 (4), p. 419-429.

KOENE. J. M, SCHULENBURG. H. 2005. Shooting darts: co-evolution and counter-adaptation in hermaphroditic snails. **BMC Evol Biolgy**, v. 5, p. 25.

LAITANO, A. C., GENRO, J. P., FONTOURA, R., BRANCO, S. S. L., MAURER, R. L., GRAEFF-TEIXEIRA, C., MILANEZ, M. J., CHIARADIA, L. A., THOMÉ, J. W. 2001. Report on the occurrence of *Angiostrongylus costaricensis* in southern Brazil, in a new intermediate host from the genus *Sarasinula* (Veronicellidae, Gastropoda). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34(1), p. 95–97.

LEACHÉ, A. D.; KOO, M. S., SPENCER, C. L.; PAPENFUSS, T. J, FISCHER, R. N.; GUIRE, J.A. 2009. Quantifying ecological, morphological, and genetic variation to delimit species in the coast horned lizard species complex (Phrynosoma). **Proc Natl Acad Sci**, v. 106, p. 12418-12423.

LIMA, L. C.; SOARES, D. M.; GUIMARÃES, C. T. 1993. *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 88 (2), p. 289-292.

MANSUR, G. G. 2001. **Biometria da rádula e padrão dos fragmentos de restrição do DNA de espécies do gênero *Phyllocaulis* (Mollusca: Gastropoda: Veronicellidae)**. Dissertação em doutorado em Biociências – Zoologia Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 57p.

MANSUR, G; THOMÉ, J.W. 1994. Contribuição à biologia de *Sarasinula linguaeformis* (Semper, 1885) e *Sarasinula plebeia* (Fischer, 1868) (Veronicellidae, Gastropoda). **Biociências**, v. 2 (2), p. 39-48.

- MANSUR, G. G., THOMÉ, J. W. 2008. Revalidation of *Phyllocaulis renschi* (Mollusca: Gastropoda: Veronicellidae) based on radula and mandible structures of taxonomic significance for the genus, **Studies on Neotropical Fauna and Environment** v. 43, p. 77-84.
- MENDONÇA, C. L. G. F., CARVALHO, O. S., MOTA, E. M., VIDIGAL, T. H. D. A., LENZI, H. L. 2003. *Angiostrongylus costaricensis* and experimental infection of *Sarasinula marginata* – II. Elimination routes. **Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98(7), p. 893–898.
- MENDONÇA, C. L. G. F., CARVALHO, O. S., MOTA, E. M., VIDIGAL, T. H. D. A., LENZI, H. L. 2008. Development of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes 1971 (Nematoda: Angiostrongylidae) larvae in the intermediate host *Sarasinula marginata* (Semper 1885) (Mollusca: Soleolifera). **Parasitology Research**, v. 102, p. 861-865.
- MORERA, P. 1973. Life history and redescription of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes, 1971. *Am. J. Trop Med Hyg*, v.22 (5), p. 613-621.
- NEAVE, S. A. 1939. Nomenclator Zoologicus. **The Zoological Society of London**. v. 1(XIV), p. 957.
- PADIAL, J. M., MIRALLES, A., DE LA RIVA, I., VENCES, M. 2010 The integrative future of taxonomy. **Frontiers in zoology**, 2-14.  
Acessado:<http://www.frontiersinzoology.com/content/7/1/16>.
- PARAENSE, W. L. 1975. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro v. 55, p. 105-128.
- PRÉVOT, V.; JORDAENS, K.; SONET, G.; BACKELJAU, T. 2013. Exploring species level taxonomy and species delimitation methods in the facultatively self-fertilizing land snail genus *Rumina* (Gastropoda: Pulmonata). **Plos One**, v.8.
- RUEDA, A. A. P. 1989. **Biology, nutritional ecology, and natural enemies of the slug *Sarasinula plebeia* (Fischer, 1968)** (Soleolifera: Veronicellidae). M.S. Dissertation, The University of Florida, Gainesville, U.S.A.
- SIMROTH, H. A. 1914. Beitrag zur Kenntniss der Nacktschnecken Columbiens. Zugleich eine Uebersicht ueber die neotropische Nacktschnecken-Fauna ueberhaupt. **Memóires de la Société Neuchâteloise des Sciences Natural's**, v. 5, p. 270–341.
- SOARES, B. M.; THOMÉ, J. W. 2002. Variabilidade Morfológica de *Phyllocaulis variegatus* (Mollusca, Gastropoda, Veronicellidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, v.49, p.149-168.
- SPENCER, H.G., MARSHALL, B.A., WATERS, J.M. 2009. Systematics and phylogeny of a new cryptic species of *Diloma* Philippi (Mollusca: Gastropoda: Trochidae) from a novel habitat, the bull kelp holdfast communities of southern New Zealand. **Invertebrate Systematics**, v. 23, p.19–25.

STANGE, L. A. 2006. Pest alert. Snails and Slugs of Regulatory Significance to Florida. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Available at: [http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/ento/snail\\_slugs-pa.html](http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/ento/snail_slugs-pa.html). Acessado em: 12/01/2016.

THIELE, J. 1929/1935. Handbuch der Systematischen weichtirkunde. **Jena Gustav Fischer Verlag**, v.2 p.1154.

THIELE, J. 1927. Über einige brasilianische Landschnecken. Abh. **Senckenb. Naturforsch. Ges.**, v. 40(3), p. 307–328.

THOMÉ, J. W. 1965. *Phyllocaulis renschi*, eine neue Veronicellidae (Mollusca) aus Rio Grande do Sul Brasilien. **Sonderdruck aus Zoologischer Anzeiger**, v. 174(3), p. 201-209.

THOMÉ, J. W. 1967. A ocorrência de Veronicellidae na Amazônia brasileira, com descrição de duas espécies novas (Soleolifera, Gastropoda). Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica, v. 5, p.521-532.

THOMÉ, J.W. 1968. Zm Biologie der Veronicellidae (Mollusca; Gastropoda). Beobachtungen über die Begattung und Eiablage. **Arch. Molluskenk**, v. 98 (3/4), p. 143-149.

THOMÉ, J. W. 1969. Euneute Beschreibung neotropischer Veronicellidae – Typen (Mollusca, Gastropoda). II. Arte naus der Sammlung des Senckenberg-Museums in Frankfurt. **Arch für Molluskenkunde**, v. 99, p. 331–363.

THOMÉ, J. W. 1970. 1971. Redescrção dos tipos de Veronicellidae (Mollusca, Gastropoda) Neotropicais: VII. Espécies depositadas no” Muséum National d’ Histoire Naturelle”. **Iheringia**, v. 40, p. 27-52.

THOMÉ, J. W. 1970a. Redescrção dos tipos de Veronicellidae (Mollusca, Gastropoda) Neotropicais: Espécies depositadas no “II. Zoologisches Institut und Museum der Universität” de Göttingen, Alemamanha. **Iheringia**, v. 38, p.73–88.

THOMÉ, J. W. 1970b. Redescrção dos tipos de Veronicellidae (Mollusca, Gastropoda) Neotropicais. V. Espécies depositadas no “Museo Ed Istituto di Zoologia Sistematica della Università”, de Turim, Itália. **Iheringia**, v. 39, p. 19–31.

THOMÉ, J. W. 1972a. Redescrção dos tipos de Veronicellidae (Mollusca, Gastropoda) Neotropicais. VIII. Espécies depositadas no “Institut Für Spezielle Zoologie und Zoologisches Museum” de Berlim, Alemanha Oriental. **Arquivo Zoologia**, v. 21(5), p. 235–281.

THOMÉ, J. W. 1972b. Uma nova espécie de *Phyllocaulis* do Brasil (Veronicellidae, Gastropoda). **Iheringia**, v. 41, p. 59-68.

THOMÉ, J. W. 1975. Os gêneros da família Veronicellidae nas Américas (Mollusca: Gastropoda). **Iheringia**, v. 48, v. 3–56.

THOMÉ, J. W. 1976. Revisão do gênero *Phyllocaulis* Colosi, 1922 (Mollusca; Veronicellidae). **Iheringia**, v. 49, p. 67-90.

THOMÉ, J. W. 1979. A redescription of types of six species of Neotropical Veronicellidae (Mollusca; Gastropoda) in the British Museum (Natural History). **Bulletin of the British Museum (Natural History)**, v. 35(2), p. 127–200.

THOMÉ, J. W. 1981. Contribuição ao estudo dos Veronicellidae (Gastropoda, Mollusca): nova espécie do gênero *Angustipes* Colosi, 1922. **Iheringia**, v. 60, p. 75-79.

THOMÉ, J. W. 1983. Veronicellidae (Mollusca, Gastropoda) pantropicais: primeira ocorrência nas ilhas Christmas (Austrália) do Oceano Índico. **Iheringia**, v. 60, p. 75-79.

THOMÉ, J. W. 1984. Veronicellidae (Mollusca, Gastropoda) pantropicais: III. Redescricao de 5 espécies, com base no exame dos tipos depositados no “Naturhistoriska Rikmuseet”, de Estocolmo, Suécia. **Iheringia Série Zoológica**, v. 64, p. 29-46.

THOMÉ, J. W. 1986. Uma estranha anomalia em *Veronicella laevis* Blainville, 1817 (Gastropoda, Veronicellidae): bifalia aparentemente funcional. **Ciência e Cultura**, v. 38, n. 3, p. 517-522.

THOMÉ, J. W., GOMES, S. R. 1999. Nova espécie de *Latipes* Colosi, 1922 para o Peru (Mollusca, Gastropoda, Veronicellidae). **Biociências Porto Alegre**, v. 7(1), p. 179–187.

THOMÉ, J. W., GOMES, S. R., SILVA, R. S. 2001. Illustrierte und Kommentierte Liste der Veronicellidae von Peru (Mollusca: Gastropoda). **Arch. Molluskenkunde**, v. 129 (1/2), p. 69–75.

THOMÉ, J. W., LOPES, V. L. R. 1973. Aulas práticas de zoologia, I. Dissecção de um molusco gastrópode desprovido de concha. **Iheringia**, v.3, p. 4–45.

**ANEXOS**

## ANEXO I

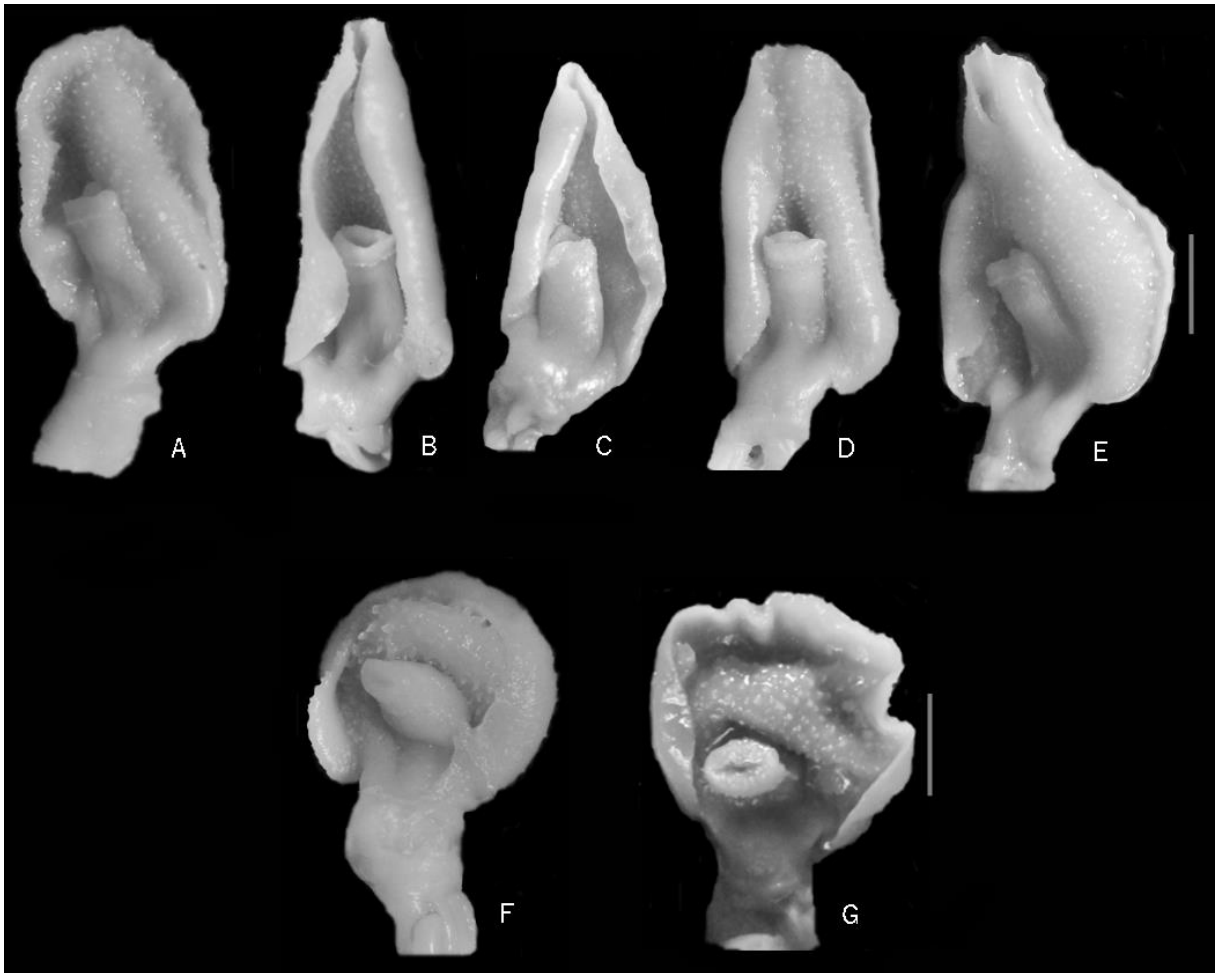


Figura 11. Complexo peniano de espécimes *Phyllocaulis* de campo localidade Juiz de Fora MG. Brasil. *Phyllocaulis* sp. A, B,C,D: coletados em 2013; E: coletado em 2016. *Phyllocaulis boraceiensis* F: coletado em 2013; G: 2006. Barra:2mm.