



Status taxonômico dos gêneros *Amphipholis* e *Microphiopholis* (Amphiuridae: Ophiuroidea): análises microestruturais

Palavras-Chave: Taxonomia, ossículos braquiais, série de crescimento, variações intra e interespecíficas.

Autores:

LIVIA ZAVAN CANO, MDBio- IB- UNICAMP; PUCC

CECÍLIA DAMIANO, MDBio-IB- UNICAMP

Profª. Dra. MICHELA BORGES, MDBio-IB- UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Amphiuridae Ljungman, 1867 é considerada a maior e mais diversa família dentre os Ophiuroidea, com 57 gêneros descritos. *Amphipholis* Ljungman, 1866 é caracterizado principalmente pelo tamanho da papila oral distal, a qual é duas vezes mais longa que a papila mais proximal (Clark, 1970; Tommasi, 1970; Alitto, 2015; Borges & Alitto, 2021). Thomas (1966) reclassificou algumas espécies desse gênero dando origem a dois outros: *Micropholis* e *Axiognathus*. Segundo o autor, as espécies que possuíam escamas do disco muito pequenas e as vértebras braquiais perfuradas ventro-dorsalmente foram classificadas como *Micropholis* (atualmente aceito como *Microphiopholis* Turner, 1985), enquanto aquelas com o espinho braquial anterior ao ventral achatado e vértebras braquiais não perfuradas, foram consideradas *Axiognathus*. Porém, muitos autores questionam essa reclassificação, a exemplo de Clark (1970), que menciona a necessidade de mais evidências, uma vez que as diferenças entre as espécies-tipo dos gêneros (*Amphipholis januarii* Ljungman, 1866 e *Axiognathus squamata* Delle Chiaje, 1829) são sutis. A partir de tal discussão, Stöhr *et al.* 2024, invalidaram *Axiognathus* e incluíram novamente as espécies em *Amphipholis*. Discute-se que a diagnose de *Amphipholis*, feita por Thomas (1966), destaca a perfuração nas vértebras, a qual pode ser visível apenas nas mais distais, o que poderia estar relacionada a ontogenia da espécie, não tendo caráter diagnóstico. Outros autores também contestaram o gênero *Microphiopholis* (Hendler *et al.*, 1995; Alitto *et al.*, 2018). Irimura & Fujita (2003) relataram a perfuração para nove espécies de Amphiuridae, para *Ophiothrix* (*Ophiothrix*) *ciliaris* (Lamarck, 1816) (Ophiotrichidae Ljungman, 1867) e *Ophiernus adpersus adpersus* Lyman, 1883 (Ophiernidae O'Hara, Stör, Hugall, Thuy & Martynov, 2018). Okanishi *et al.* (2021) identificaram a presença da perfuração na vértebra braquial distal da espécie *Amphipholis kochii* Lütken, 1872.

Desta forma, esse estudo tem o objetivo de verificar se a perfuração na vértebra braquial é uma característica exclusiva ao gênero *Microphiopholis* ou se está relacionada a uma determinada fase de

desenvolvimento de diferentes gêneros, além de validar os taxa com base na análise de indivíduos de diferentes tamanhos (série de crescimento).

METODOLOGIA:

I) Espécimes em estudo

Os espécimes estudados pertencem à coleção científica do Museu de Diversidade Biológica (MDBio), área de Zoologia (ZUEC), Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Foram analisados 173 exemplares de quatro espécies: 51 de *Microphiopholis atra*, 30 de *M. subtilis*, 69 de *Amphipholis squamata* e 23 de *A. januarii*.

II) Caracteres morfológicos

As estruturas morfológicas externas (disco, escudos radiais, espinhos, placas braquiais, escamas tentaculares, escudos oral e adorais, papilas orais) foram analisadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico. A descrição das estruturas diagnósticas e reconhecimento das espécies foram feitas utilizando-se bibliografia especializada (Borges & Amaral, 2005; Stöhr *et al.*, 2012; Thuy & Stöhr, 2016; Borges & Alitto, 2021). As medidas do disco e outras estruturas foram tomadas com auxílio de uma câmera acoplada ao estereomicroscópio ZEISS Discovery V20.

Com base no diâmetro do disco (dd) e estruturas morfológicas externas, foram estabelecidos os estágios de desenvolvimento de cada uma das espécies - (i) juvenil (j) e (ii) intermediário/adulto (i/a): *Microphiopholis atra*: (j) - 2,2 a 5,2mm dd; (i/a) - 5,3 a 10,0 mm; *Microphiopholis subtilis*: (j) – 1,5 a 2,5mm dd; (i/a) - 2,6 a 5,0 mm; *Amphipholis squamata*: (j) – 0,5 a 1,1mm dd; (i/a) - 1,2 a 3,0 mm; *Amphipholis januarii*: (j) – 1,2 a 2,2 mm dd; (i/a) - 2,3 a 5,0 mm.

III) Microestruturas

Para estudar as microestruturas braquiais (placas dorsal, ventral e lateral e vértebras) utilizou-se um fragmento braquial do 5° ao 12° segmento, os quais foram submersos em hipoclorito de sódio (NaCl). As placas separadas, foram lavadas em água destilada, secas em temperatura ambiente e posicionadas em *stubs* de alumínio. Em seguida metalizadas com ouro e fotografadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) no Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) do Instituto de Biologia da Unicamp. A partir das imagens, as microestruturas braquiais foram descritas, para os espécimes de cada um dos intervalos de tamanho (Borges & Amaral, 2005; Thuy & Stöhr, 2016; Alitto *et al.*, 2018, O'Hara *et al.*, 2018; Borges & Alitto, 2021). Foram analisados três exemplares de cada espécie: *Microphiopholis atra*: 4,3mm dd (j), 6,9mm dd (i) e 8,5mm dd (a); *M. subtilis*: 2,0mm dd (j), 2,8mm dd (i) e 4,0mm dd (a); *Amphipholis squamata*: 0,9mm dd (j), 1,8mm dd (i) e 2,4mm dd (a) e *A. januarii*: 1,7mm dd (j), 2,7mm dd (i) e 4,9mm dd (a).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram identificadas diferenças morfológicas e morfométricas das estruturas (morfologia externa e microestrutural), apresentadas nas tabelas a seguir:

Caracteres		<i>Microphiopholis atra</i>		<i>Microphiopholis subtilis</i>	
		Juvenil	Intermediário/adulto	Juvenil	Intermediário/adulto
Disco	Formato	Circular.	Circular com as bordas projetadas.	Pentagonal.	Pentagonal.
	Escamas	Imbricadas. Oito a 14 do centro a margem. Escamas primárias evidentes e maiores que as demais.	Imbricadas. 17 a 24 do centro a margem. Marginais maiores formando um bordo. Escama centro-dorsal evidente.	Imbricadas, sete a 23 do centro a margem. Escamas primárias aparentes até 2,2mm dd.	Imbricadas, 20 a 27 do centro a margem.
	Escudo radial	Tão longos quanto largos ou mais longos do que largos, unidos por toda extensão ou separados proximalmente por até duas escamas.	Mais longos que largos e separados proximalmente por até cinco escamas.	Mais longo do que largo, retangular com as bordas arredondadas, unidos por toda a extensão ou separados proximalmente por uma escama.	Mais longo do que largo, retangular com as bordas arredondadas, separados proximalmente por uma escama triangular longa.
Boca	Escudo oral	Losangular com laterais projetadas ou losangular com as laterais e ponta distal projetada.	Formato de ponta de seta ou losangular com as laterais projetadas.	Escudo oral losangular com borda distal arredondada e borda proximal longa.	Losangular ou quase circular, com parte proximal alongada ou arredondada.
	Escudo adoral	Triangular unido proximalmente.	Triangular unido proximalmente.	Triangular unido proximalmente.	Triangular unido proximalmente.
	Meia mandíbula	Com três papilas orais: espinho do escudo oral mais longo que o segundo espinho do escudo oral e papila infradental.	Com três papilas orais: espinho do escudo oral mais longo que o segundo espinho do escudo oral e papila infradental.	Três papilas orais: espinho do escudo oral mais longo que o segundo espinho do escudo oral e papila infradental.	Três papilas orais: espinho do escudo oral mais longo que o segundo espinho do escudo oral e papila infradental.
Braços	PBD	Flabeliforme ou oval semicircular. Aproximadamente 1,5 vezes mais larga do que longa.	Flabeliforme ou oval semicircular. Duas vezes mais larga do que longa.	Flabeliforme. Aproximadamente tão longa quanto larga.	Oval semi-circular. Aproximadamente duas vezes mais longa do que larga.
	PBV	Pentagonal. Margem distal côncava. Margem proximal afunilada. Margem lateral com incisões, porção mais distal com ponta. Porção distal três vezes mais larga que a proximal.	Pentagonal. Margem distal convexa a reta. Margem proximal afunilada. Margem lateral com incisões, porção mais distal com ponta Porção distal seis a nove vezes mais larga que a proximal.	Pentagonal. Margem distal convexa a reta. Margem proximal afunilada. Margem lateral com incisões. Porção distal três vezes mais larga que a proximal. Porção distal com diferente estereoma da porção proximal.	Pentagonal. Margem distal convexa a reta. Margem proximal afunilada. Margem lateral com incisões. Porção distal cinco vezes no intermediário e seis vezes mais larga que a proximal no adulto.
	PBL	Arqueada com três articulações dos espinhos.	Arqueada com três articulações dos espinhos.	Arqueada com três articulações dos espinhos.	Arqueada com três articulações dos espinhos.
	Escama tentacular	Duas. Uma fixada na placa ventral e outra na lateral, tamanhos semelhantes.	Duas. Uma fixada na placa ventral e outra na lateral, tamanhos semelhantes.	Duas escamas tentaculares, uma fixada na placa ventral e outra na lateral, interna mais longa que a externa.	Duas escamas tentaculares, uma fixada na placa ventral e outra na lateral, interna mais longa que a externa.
	Espinhas	Três. Cônicos, três vezes mais longo do que largo.	Três. Cônicos, com coluna de perfurações centrais. Aproximadamente três vezes mais longo do que largo.	Três. Cônicos, com coluna de perfurações centrais. Quatro vezes mais longo do que largo.	Três. Cônicos, com coluna de perfurações centrais. Quatro vezes mais longo do que largo.
	Vértebra- face dorsal	Perfuração central.	Perfuração central.	Perfuração central.	Perfuração central.
	Vértebra- face ventral	Perfuração central.	Sem perfuração.	Perfuração central.	Perfuração central.

Caracteres		<i>Amphipholis squamata</i>		<i>Amphipholis januarii</i>	
		Juvenil	Intermediário/adulto	Juvenil	Intermediário/adulto
Disco	Formato	Circular	Circular	Circular.	Circular.
	Escamas	Imbricadas. Quatro a seis do centro a margem.	Imbricadas. Seis a 11 do centro a margem. Escama centrodorsal visível, maior que as demais.	Imbricadas. Sete a nove do centro a margem. Escamas primárias evidentes.	Imbricadas. 13 a 29 do centro a margem. Escamas primárias evidentes até 4,2mm dd.
	Escudo radial	Mais largo do que longos. Levemente ovais, unidos por toda extensão ou separados proximalmente por uma escama.	Mais longo do que largos e separados proximalmente por uma escama.	Mais longo do que largo, unidos por toda extensão ou separados proximalmente por uma escama.	Mais longo do que largo, separados proximalmente por até três escamas.
Boca	Escudo oral	Losangular com parte proximal alongada.	Losangular	Losangular.	Losangular com ponta proximal alongada.
	Escudo adoral	Triangulares, unidos proximalmente.	Triangulares, unidos proximalmente.	Triangular. Unidos proximalmente.	Triangular. Unidos proximalmente.
	Meia mandíbula	Três papilas orais: espinho do escudo oral mais longo que o segundo espinhos do escudo oral e papila infradental.	Três papilas orais: espinho do escudo oral mais longo que o segundo espinhos do escudo oral e papila infradental.	Três papilas orais: espinho do escudo adoral mais longo e largo que o segundo espinho do escudo oral e a papila infradental.	Três papilas orais: espinho do escudo adoral mais longo e largo que o segundo espinho do escudo oral e a papila infradental.
Braços	PBD	Flabeliforme. Tão larga quanto longa.	Flabeliforme ou oval semi-circular. Tão larga quanto longa.	Flabeliforme ou retangular com as bordas arredondadas. Aproximadamente 1,5 vezes mais larga do que longa.	Oval semi-circular, aproximadamente duas ou 2,5 vezes mais longo do que largo.
	PBV	Pentagonal. Margem distal reta. Margem proximal afunilada. Margem lateral com incisões, porção mais distal com projeção. Margem distal seis vezes mais larga do que a proximal.	Pentagonal, margem distal Margem distal convexa a reta no intermediário e côncava no adulto, margem proximal afunilada, lateral com incisões, porção mais distal-lateral com projeção. Margem distal duas vezes mais larga que proximal.	Pentagonal. Margem distal reta. Margem proximal afunilada. Margem lateral com incisões, porção mais distal com ponta. Porção distal cinco vezes mais larga que a proximal.	Pentagonal. Margem distal convexa a reta. Margem proximal côncava e incisa/afunilada. Margem lateral com incisões, porção distal com ponta. Porção distal cinco ou seis vezes mais larga que a porção proximal.
	PBL	Arqueada com três articulações dos espinhos.	Arqueada com três articulações dos espinhos.	Arqueada com três articulações dos espinhos.	Arqueada com quatro articulações dos espinhos.
	Escama tentacular	Duas escamas tentaculares, uma fixada na placa ventral e outra na lateral, tamanhos semelhantes.	Duas escamas tentaculares, uma fixada na placa ventral e outra na lateral, tamanhos semelhantes.	Duas, uma fixada na placa ventral e outra na lateral, interna mais larga que a externa.	Duas, uma fixada na placa ventral e outra na lateral, interna mais larga que a externa.
	Espinhos	Três. Cônicos, com coluna de perfurações. Três vezes mais longo do que largo.	Três. Cônicos, com coluna de perfurações central. Aproximadamente 3,5 vezes mais longo do que largo no adulto e três vezes mais longo do que largo no intermediário.	Cônicos. Três a quatro. Segundo espinho ventral com dentículos na ponta. Aproximadamente três vezes mais longo do que largo.	Cônicos. Três a quatro. Segundo espinho ventral com dentículos na ponta. Aproximadamente três ou quatro vezes mais longo do que largo. Coluna de perfurações centrais no intermediário. Estereoma da base com ornamentação vertical
	Vértebra- face dorsal	Perfuração central.	Perfuração central.	Perfuração central.	Perfuração central.
	Vértebra-face ventral	Em análise.	Perfuração central no adulto.	Sem perfuração.	Sem perfuração.

Discussão

Foi possível identificar a perfuração ventro-dorsal nas vértebras braquiais no juvenil de *Microphiopholis atra*, adulto de *Amphipholis squamata* e em todos os estágios (juvenil, intermediário e adulto) de *M. subtilis*. Não foi visto perfuração em nenhum indivíduo analisado de *A. januarii*. Esses resultados confirmariam a ideia de Clark (1970) de que a perfuração poderia estar relacionada com o crescimento do animal.

Em Alitto *et al.* (2018), também foi vista perfuração em um indivíduo adulto de *A. squamata*, (3,5mm dd) e *M. subtilis* (3,7mm dd). No mesmo trabalho, o adulto de *M. atra* (9,1mm dd) apresentou perfuração, diferentemente dos espécimes adultos (6,9mm dd e 8,5mm dd) analisados no presente trabalho. *A. januarii* (4,4mm dd) de Alitto *et al.* (2018) também não apresentou perfuração. Outros trabalhos, como Irimura & Fujita, 2003 e Okanish, 2021, constatarem a perfuração da vértebra braquial em outras espécies como *Ophiothrix (Ophiothrix) ciliaris*, *Ophiernus adpersus adpersus* e em segmento distal de *Amphipholis kochii*.

A presença da perfuração das vértebras em outros gêneros, além de *Microphiopholis*, e em diferentes estágios de desenvolvimento das espécies, confirmam que esse caractere diagnóstico não pode ser usado para validar o gênero *Microphiopholis*, sendo necessária a análise do tamanho das escamas dorsais do disco (outro caractere utilizado na separação dos gêneros por Thomas, 1966), o qual também pode apresentar problemas, uma vez que pode ser considerado um caráter subjetivo.

CONCLUSÕES:

Com as análises dos resultados, conclui-se que a perfuração na vértebra braquial não é um caractere diagnóstico para o gênero *Microphiopholis*. É possível que essa característica da vértebra esteja relacionada com o crescimento dos animais, fazendo-se necessário um estudo mais aprofundado para estabelecer um caractere válido para o gênero *Microphiopholis* ou uma nova reclassificação das espécies.

BIBLIOGRAFIA:

- Alitto, R. A. S. 2015. Biodiversidade dos Echinodermata da Baía do Araçá, São Sebastião, SP. Universidade Estadual de Campinas.
- Alitto, R. A. S., Bueno, M. L., Guilherme, P. D. B., Di Domenico, M., Christensen, A. B., & Borges, M. 2018. Shallow-water brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) from Araçá Bay (Southeastern Brazil), with spatial distribution considerations. *Zootaxa* 4405(1), 1–66.
- Borges, M. & Alitto, R.A.S. 2021. Filo Echinodermata. In: Steiner, T. M.; Amaral, A.C.Z; Borges, M. (Org.). Manual de Identificação dos Invertebrados Marinhos da Região Sudeste-sul do Brasil. 1ed. São Paulo: EDUSP, v. 2, p. 263-306
- Clark, A. M. 1970. Notes on the family Amphiuroidae (Ophiuroidea). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology* 19: 1-81.
- Hendler, G., Miller, J. E., Pawson, D. L., & Kier, P. M. 1995. Sea stars, sea urchins and allies: Echinoderms of Florida and the Caribbean. Washington: Smithsonian Institution Press.
- Irimura, S., & Fujita, T. 2003. Interspecific variation of vertebral ossicle morphology in the Ophiuroidea.
- Okanish, M., Nakamura, M., Tamura, H., & Kohtsuka, H. 2021. Redescription of *Amphipholis kochii* (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophintegrida) collected from Sagami Bay, including ossicle morphology and COI sequence. *Kitakyushu Museum of Natural History & Human History*, 41-51.
- Thomas, L. P. 1966. A revision of the tropical American species of *Amphipholis* (Echinodermata: Ophiuroidea). *Bulletin of Marine Science* 16(4): 827-833.
- Tommasi, L. R. 1970. Os ofiuróides recentes do Brasil e de regiões vizinhas. *Contribuições Avulsas do Instituto Oceanográfico* 20: 1-146.