



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS**

**LIVANIO CRUZ DOS SANTOS**

**CARANGUEJO RELICTUAL NA SERRA DA IBIAPABA: O QUE NOS DIZ A  
TEORIA DOS REFÚGIOS?**

**FORTALEZA**

**2020**

LIVANIO CRUZ DOS SANTOS

CARANGUEJO RELICTUAL NA SERRA DA IBIAPABA: O QUE NOS DIZ A TEORIA  
DOS REFÚGIOS?

Tese de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais- PPGERN da Universidade Federal do Ceará- UFC, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia aquática

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva

Coorientador: Prof. Dr. Allysson Pontes Pinheiro

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S236c Santos, Livanio Cruz dos.  
Caranguejo relictual na Serrada Ibiapaba: o que nos diz a teoria dos refúgios? / Livanio Cruz dos Santos. – 2020.  
96 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva.  
Coorientação: Prof. Dr. Allysson Pontes Pinheiro.
1. Caranguejo de água doce. 2. Brejos de altitude. 3. Diferenciação morfológica. 4. Diferenciação genética. 5. Conservação. I. Título.

CDD 577

---

LIVANIO CRUZ DOS SANTOS

CARANGUEJO RELICTUAL NA SERRA DA IBIAPABA: O QUE NOS DIZ A TEORIA  
DOS REFÚGIOS?

Tese de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais- PPGERN da Universidade Federal do Ceará- UFC, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia aquática

Aprovada em: 05/03/2020

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. José Roberto Feitosa Silva (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Renata Akemi Shinozaki Mendes  
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

---

Dra. Deborah Praciano de Castro  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Dra. Andréa Silveira Pereira  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Dr. Bruno Gabriel Nunes Pralon  
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Ao meu Deus

A minha família, em especial aos meus pais e meus avós paternos, GRATIDÃO.

## AGRADECIMENTOS

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

Ao meu Deus, pelo dom da vida, por ter me sustentado tantas vezes que me senti incapaz e por ter me dado forças para seguir nas inúmeras vezes em que pensei em desistir.

A minha família, em especial aos meus avós e pais: Dona Alzenir e seu José, Dona Livia e seu Francisco pelos princípios e valores a mim transmitidos e que contribuíram fortemente para ter me tornado a pessoa que sou.

Aos meus irmãos: Giovanio e Ivan, que tantas vezes me ajudam e me ajudaram em momentos difíceis, obrigado por tudo.

Ao meu orientador, Professor Roberto Feitosa, pelo apoio, pelo exemplo de ser humano e profissionalismo, por sempre acreditar que ia dar certo. E u só tenho a agradecer imensamente pelos conselhos, direcionamento, puxadas de orelha. Muito obrigado.

Ao meu Coorientador, professor Allysson Pinheiro, que me atura desde graduação, obrigado por tudo.

A todo o corpo discente do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Bruno Menezes por me ajudar na discussão da Teoria durante a escrita do Projeto.

Ao professor Rogério Parentoni, por ter me recebido tantas vezes em seu gabinete para tirar dúvidas quando estava elaborando o projeto de tese, me ensinar de uma forma tão descontraída e me fazer acreditar que ia dar certo.

A todos os amigos e colegas que passaram pelo laboratório de Ecologia e Histologia de Rios do Semiárido (Bárbara, Taís, Joaquim, Amanda, Sérgio, Keilo, Tamara, Fred, Filipe, Hélio, Mikael, Elves, Gesuína, Daniel, Milena, Maria Rita) gente vocês são incríveis.

Ao Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri.

A Francimeire Costa, pelos perrengues e muitas alegrias vividos durante esses quatro anos de doutorado.

A turma de 2016 do Mestrado e Doutorado em ecologia e recursos naturais.

Aos Professores Roberta Zandavalli e Carlos Lineu pela instrução no estágio a docência, aulas essas que fizeram a diferença na minha formação como profissional.

A todos os professores que participaram das minhas bancas (projeto, qualificação e tese), professores – Bianca Terra – Cristiane Xerez – Rogério Parentoni – Andréa Silveira – Roberta Zandavalli – Bruno Pralon – Deborah Praciano – Renata Akemi , muito obrigado.

Ao meu grande amigo Robson Mendes, pelas conversas, conselhos, orientações na rotina histológica e por sempre estar disposto a ouvir minhas angústias.

Ao pesquisador Célio Magalhães, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, por ter me recebido no Laboratório de Carcinologia e ter me autorizado a visitar a Coleção de Caranguejos da família Pseudothelphusidae bem como o uso de lupas e equipamentos que foram essências para a execução desse trabalho.

A Helaine Saraiva, grande amiga que conheci na execução do projeto de tese, pessoa que não mediu esforços quando a frente da gestão da Área de Proteção Ambiental da Bica do Ipu, para desbravarmos a Ibiapaba em busca dos pontos de ocorrência do *Fredius*, sem ela nunca teria conseguido ir tão longe na Ibiapaba.

Ao grande Edmilson, motorista da APA da Bica do Ipu, sempre tão solícito nas coletas, ajudou de todas as maneiras possíveis, inclusive coletando os caranguejos (mesmo quase ficando sem o dedo hehehe). Muito obrigado.

Aos funcionários da APA da bica do Ipu (João, Edmilson, Tarcisio, Mara) por todo apoio dado a nossa equipe quando ficamos alojados na sede da APA.

A turma da igreja, vocês sabem o quanto são especiais para mim.

A todos os proprietários de terra que nos autorizaram a adentrar nas mesmas em busca do caranguejo de água doce (Seu Quindô, Dona Lice, Max, Marcelo).

A Petinha Lira por sempre nos receber tão bem nas terras Ipuenses.

A todos os amigos que me ajudaram nas coletas de campo (Whanderson, Rayuri, Damaris, Filipe e Juliana), não teria conseguido sem a preciosa ajuda de vocês, seja embaixo de sol ou de chuva, lutando contra o cansaço e a fome para poder passar o dia em campo.

Ao meu primo Josimar, por tantas vezes ter me tirado do “prego” quando meu computador parava de funcionar.

Aos amigos que passaram pelo apartamento 202 – Darcia Vieira, Vicente Carlos, Robson Victor, Franciandro Dantas, Luanderson Alencar. Obrigado pelos momentos vividos ao longo desses quatro anos.

Ao meu grande amigo e irmão, Whanderson Nascimento, por sempre acreditar que ia dar certo, por ter me ajudado enfaticamente em todas as fases da pesquisa (Campo, escrita, análises estatísticas, discussão de resultados e revisão de texto), pelos conselhos na vida profissional e pessoal, pelos puxões de orelha. Obrigado meu amigo/irmão, tu não tens noção

de quanto é especial pra mim! Conte comigo pra tudo...e como você sempre diz: “Livania...vai dar certo”.

A minha grande amiga, Darciane Maria, pela convivência nos primeiros anos de doutorado, por aprendermos juntos como é dividir um espaço, respeitar as diferenças, por desconstruir conceitos, pelas brigas e discussões (hahahaha). Minha amiga, obrigado por me fazer mostrar o que deve ser importante na minha vida, quando pensava que não ia conseguir superar os problemas você me mostrou que era só uma fase e que ia passar. Obrigado por me acompanhar nos vinhos, nas conversas pessoais e por whatsapp, pelos puxões de orelha. Enfim, obrigado pela amizade.

Não poderia deixar de agradecer a essa pessoa que conheci durante o mestrado e que nos tornamos grandes amigos, Isis Campos. Minha amiga você conhece dos meus sentimentos só pela expressão facial (hahahah). Sou grato pelo universo ter conspirado e ter te colocado no meu caminho. Você sabe o quanto é especial para mim, obrigado pelos conselhos, conversas, puxões de orelha e por ter me ajudado nos momentos mais delicados que passei ao longo desses quatro anos. Para você eu desejo só o que há de melhor...obrigado pela amizade.

Ao meu amigo, Luanderson Alencar. Obrigado pela convivência nos meus últimos meses em Fortaleza, por dividir alegrias, perrengues e por aturar minhas lamentações.

Enfim, obrigado a todos que me ajudaram de diversas maneiras para que esse trabalho fosse realizado.

O degrau de uma escada não serve simplesmente para que alguém permaneça em cima dele, destina-se a sustentar o pé de um homem pelo tempo suficiente para que ele coloque o outro um pouco mais alto (HUXLEY, 1873, p. 57).

## RESUMO

A teoria de refúgios prevê que a distribuição dos organismos foi influenciada pelas oscilações climático-vegetacionais durante o Quaternário, de modo que locais menos afetados por essas modificações constituíram verdadeiros refúgios tanto de fauna quanto da flora que passaram a sofrer processo de especiação. Dentre esses refúgios, têm-se o Planalto da Ibiapaba um dos brejos de altitude no Nordeste brasileiro. Nesse brejo é registrada a ocorrência de um caranguejo dulcícola de origem amazônica, habitando em pequenos locais de altitudes elevadas. O objetivo desse trabalho é analisar por meio de genes mitocondriais, morfometria tradicional possíveis modificações na forma, gonópodo e genética dessa espécie de caranguejo, no intuito de encontrar diferenças significativas entre a população relictual da Ibiapaba e seus congêneres da bacia amazônica, além de serem abordados comentários sobre a conservação e ecologia dessa população relictual no Planalto da Ibiapaba. Esta tese está estruturada da seguinte forma: No primeiro capítulo (Capítulo 1), avaliamos as áreas onde essa população de caranguejo relictual está distribuída ao longo da Área de Proteção ambiental da Bica do Ipu, tendo como título: A distribuição do caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) (Brachyura, Pseudothelphusidae) em uma área de proteção ambiental no Planalto da Ibiapaba com novos registros e comentários sobre sua conservação. No segundo capítulo (Capítulo 2) proposto para esta Tese, temos como título: Estrutura populacional e biologia reprodutiva de um caranguejo de água doce em um relictual de floresta úmida no Nordeste do Brasil. Além disso, para o terceiro capítulo (Capítulo 3), aborda sobre o crescimento relativo e primeira maturidade sexual morfológica de um caranguejo de água doce em uma área de enclave úmido do Nordeste do Brasil. Por fim, para o quarto capítulo (Capítulo 4), abordamos sobre aspectos filogeográficos para a espécie em estudo onde tratamos possíveis divergências morfológicas e moleculares para a população da Serra da Ibiapaba. Os resultados encontrados nesse trabalho mostram que a população relictual de caranguejo da Serra da Ibiapaba, sofreu processo de isolamento, subsequentemente diferenciando-se dos seus congêneres da Bacia Amazônica.

**Palavras-chave:** caranguejo de água doce; Brejos de altitude; diferenciação morfológica; diferença genética; conservação.

## ABSTRACT

The refuge theory predicts that the distribution of organisms was influenced by climatic-vegetation oscillations during Quaternary, so that places less affected by these changes constituted true refuges for both fauna and flora that began to undergo a process of speciation. Among these refuges, there is Ibiapaba Plateau, one of the “brejos de altitude” in the Northeastern of Brazil. In this brejos, the occurrence of a freshwater crab of Amazonian origin, living in small places at high altitudes is registered. The objective of this study is to analyze through mitochondrial genes, traditional morphometry possible changes in shape, gonopod and genetics of this crab species, in order to find significant differences between the relictual population of Ibiapaba and its congeners in Amazon basin, in addition to being addressed comments on the conservation and ecology of this relictual population in the Ibiapaba Plateau. This thesis is structured as follows: In the first chapter (Chapter 1), we evaluate the areas where this relictual crab population is distributed throughout the Environmental Protection Area of Bica do Ipu, with the title: The distribution of freshwater crab , *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) (Brachyura, Pseudothelphusidae) in an environmental protection area in the Ibiapaba Plateau with new records and comments on its conservation. In the second chapter (Chapter 2) proposed for this Thesis, we have the title: Population structure and reproductive biology of a freshwater crab in a relic humid forest in Northeastern Brazil. Finally, for the fourth chapter (Chapter 4), we discussed phylogeographic aspects for the species under study where we deal with possible morphological and molecular divergences for the population of Serra da Ibiapaba. The results found in this study show that the relictual crab population of Serra da Ibiapaba, suffered an isolation process, subsequently differing from its congeners in the Amazon Basin.

**Keywords:** freshwater crab; Brejos de altitude; morphological differentiation; genetic difference; conservation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– A-B Rotas de dispersão entre a Floresta Atlântica e a Amazônia .....	17
Figura 2	– Modelos de distribuição atual e de 21 M.A da distribuição da Floresta Amazônica e Floresta Tropical Atlântica .....	18
Figura 3	– <i>Fredius reflexifrons</i> recentemente capturado na Área de Proteção Ambiental da Bica do Ipu .....	21
Figure 4	– A freshwater crab, <i>Fredius reflexifrons</i> from the Ibiapaba Plateau.....	28
Figure 5	– Sites with occurrence of <i>Fredius reflexifrons</i> in APA Bica do Ipu on the Ibiapaba Plateau .....	29
Figura 6	– Porcentagem de espécimes de caranguejo de água doce, <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897), coletados ao longo do período de estudo .....	38
Figura 7	– Variação do tamanho médio de Largura da carapaça (LC) de machos e fêmeas para <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897) ao longo do período de estudo .....	39
Figura 8	– Fêmea de caranguejo de água doce, <i>Fredius reflexifrons</i> , transportando ovos em seu abdômen .....	41
Figura 9	– Relação morfométrica entre machos e fêmeas de <i>F. reflexifrons</i> , indicando trajetórias ontogenéticas distintas entre machos e fêmeas. a) relação morfométrica do comprimento do própodo em resposta ao comprimento da carapaça; b) relação morfométrica da altura do própodo em resposta ao comprimento da carapaça; c) relação morfométrica da largura do própodo em resposta ao comprimento da carapaça; d) relação morfométrica da largura do abdômen em resposta ao comprimento da carapaça .....	55
Figura 10	– LC50 para caranguejos fêmeas de <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897) .....	57
Figura 11	– LC50 para caranguejos machos de <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897) .....	57
Figure 12	– (A–E) Mid-altitude, naturally isolated, humid forested patch nested within the vast semiarid Caatinga domain. Sítio Caranguejo, Ipu, Ceará, 04°18'50" S, 40°44'47"W, 729 meters high, type locality of <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp. Note	

in (E) burrow (arrow) of <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp. among the leaf litter. (E–F) Lowland, surrounding semiarid Caatinga forest. (E) View from above from Ipú. (F) Detail of a dry-stream channel .....	66
Figure 13 – (A–B) Semi-diagrammatic view of the first male gonopod in abdominal and sternal views, respectively, with the terminology used in the descriptions. Cl, cephalic lobe; cs, cephalic spine; fas, field of apical spines; mal, marginal lobe; mas, marginal suture; mel, mesial lobe; sab, subapical bulge .....	68
Figure 14 – (A–D) <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (A–B) Habitus, dorso and ventral views, respectively. (C) Cephalothorax, frontal view. (D–E) Right and left chelipeds in lateral view, respectively. Scales: A–E, 10 mm. ....	73
Figure 15 – (A–F) First right male gonopod (G1) in abdominal (tilted left), lateral and mesial views from A–C and D–F, respectively. (A–C) <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (D–F) <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897), male cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178). Note in (B, C) the G1 remarkably swollen, sloping abruptly downwards anteriorly to a nearly right-angular shoulder (arrow), and in (E, F) the G1 shoulder clearly more gently sloping distally (arrow). ....	75
Figure 16 – (A–D) First right male gonopod (G1) in sternal and apical views from A to B and C to D, respectively. (A, C) <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (B, D) <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897), male cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178). Note in (A) and (C) the G1 apex much less tilted so that the mesial lobe is not visible in sternal view (arrow), and the subapical bulge markedly less swollen (arrow), respectively. Note the opposite in (B) and (D).....	76
Figure 17 – (A–H) First right male gonopod (G1) in sternal, lateral, mesial, and abdominal views from A–D and E–H, respectively. (A–D) <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (E–H) <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897), male cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178) .....	77
Figure 18 – (A–E) <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp., paratype, male cl 41.2 mm, cw 62.6 mm (MZUSP 39742). Scanning electron microscopy of the first right male	

gonopod in mesial (tilted right), sternal, apical, lateral, and mesial views.  
Scales: A–E, 1 mm. .... 78

Figure 19 – Phylogeny inferred from the partial mitochondrial DNA sequence of the 16S  
rDNA gene. Note the sister taxon relationship between *Fredius ibiapaba* n.  
sp. and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897) ..... 79

## LISTA DE TABELAS

Table 1	– Locations surveyed for <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897) on The Ibiapaba Plateau, Northeastern Brazil, with their respective elevations and anthropic impacts.....	27
Tabela 2	– Classes de tamanho para a população de <i>F. reflexifrons</i> (Ortmann, 1897) coletados no Planalto da Ibiapaba.....	40
Tabela 3	– Abundância total de espécimes coletados para <i>F. reflexifrons</i> no Planalto da Ibiapaba, Nordeste do Brasil.....	40
Tabela 4	– Variáveis utilizadas na análise de crescimento relativo para a população de caranguejo de água doce, <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897).....	54
Tabela 5	– Resultado do estado de alometria para a população de caranguejo de água doce <i>Fredius reflexifrons</i> (Ortmann, 1897).....	55
Tabela 6	– Resultado da Análise de Covariância – ANCOVA, das relações morfométricas estudadas na população de <i>F. reflexifrons</i> (Ortmann, 1897)...	56
Table 7	– Species of <i>Fredius</i> Pretzmann, 1967, <i>Prionothelephusa</i> Rodriguez, 1980 and <i>Trichodactylus</i> Latreille, 1828 used in the phylogenetic analyses, with respective sample locality and GenBank accession number.....	69
Table 8	– Pairwise distance matrix from the portion of the mitochondrial 16S rRNA based on ~560bp.....	70
Table 9	– Geographic and altitudinal distributions for the species of <i>Fredius</i> Pretzmann, 1967.....	81

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	16
1.1	<b>Teoria dos refúgios</b> .....	16
1.2	<b>Brejos de altitude</b> .....	18
1.3	<b>Modelo biológico do estudo</b> .....	19
1.4	<b>DNA mitocondrial e morfologia</b> .....	22
1.5	<b>Pergunta e hipóteses</b> .....	23
2	<b>CAPÍTULO I - THE DISTRIBUTION OF THE FRESHWATER CRAB <i>FREDIUS REFLEXIFRONS</i> (ORTMANN, 1897) (BRACHYURA, PSEUDOTHELPHUSIDAE) IN AN ENVIRONMENTAL PROTECTION AREA OF THE PLANALTO DA IBIAPABA - NORTHEASTERN BRAZIL, WITH NEW RECORDS AND COMMENTS ON ITS CONSERVATION</b> .....	24
2.1	<b>Introduction</b> .....	25
2.2	<b>Material and methods</b> .....	26
2.2.1	<i>Study area</i> .....	26
2.2.2	<i>Field procedures</i> .....	27
2.3	<b>Results</b> .....	27
2.4	<b>Discussion</b> .....	29
3	<b>CAPÍTULO II - ESTRUTURA POPULACIONAL E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE UM CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE EM UM RELICTO DE FLORESTA ÚMIDA NO NORDESTE DO BRASIL</b> .....	33
3.1	<b>Introdução</b> .....	35
3.2	<b>Material e métodos</b> .....	36
3.2.1	<i>Coletas de <i>F. reflexifrons</i> no planalto da Ibiapaba</i> .....	36
3.2.2	<i>Identificação por sexo e obtenção de dados morfométricos</i> .....	37
3.2.3	<i>Tratamento dos dados</i> .....	37
3.2.4	<i>Estrutura populacional</i> .....	37
3.2.5	<i>Razão sexual</i> .....	37
3.2.6	<i>Biologia reprodutiva</i> .....	38
3.3	<b>Resultados</b> .....	38

3.3.1	<i>Estrutura populacional</i> .....	38
3.3.2	<i>Razão sexual</i> .....	40
3.3.3	<i>Biologia reprodutiva</i> .....	41
3.4	<b>Discussão</b> .....	41
3.4.1	<i>Estrutura populacional</i> .....	41
3.4.2	<i>Razão sexual</i> .....	43
3.4.3	<i>Período reprodutivo</i> .....	44
4	<b>CAPÍTULO III- CRESCIMENTO RELATIVO E PRIMEIRA MATURIDADE SEXUAL MORFOLÓGICA DE UM CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE EM UMA ÁREA DE ENCLAVE ÚMIDO DO NORDESTE DO BRASIL</b> .....	49
4.1	<b>Introdução</b> .....	51
4.2	<b>Material e métodos</b> .....	52
4.2.1	<i>Coletas de <i>F. reflexifrons</i> no planalto da Ibiapaba</i> .....	52
4.2.2	<i>Identificação por sexo e obtenção de dados morfométricos</i> .....	52
4.2.3	<i>Tratamento dos dados e análises estatísticas</i> .....	53
4.3	<b>Resultados</b> .....	54
4.3.1	<i>Crescimento relativo</i> .....	54
4.4	<b>Discussão</b> .....	58
4.4.1	<i>Maturidade morfológica</i> .....	58
4.4.2	<i>Crescimento relativo</i> .....	59
5	<b>CAPÍTULO IV- GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIFFERENTIATION OF A FRESHWATER CRAB IN HUMID FOREST AREA, IN THE PLANAUTO DA IBIAPABA – NORTHEASTERN BRAZIL</b> .....	63
5.1	<b>Introduction</b> .....	65
5.2	<b>Material and methods</b> .....	68
5.3	<b>Results</b> .....	71
5.4	<b>Discussion</b> .....	78
5.4.1	<i>Phylogenetic analysis</i> .....	78
5.4.2	<i>Zoogeographical notes</i> .....	80
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	90
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

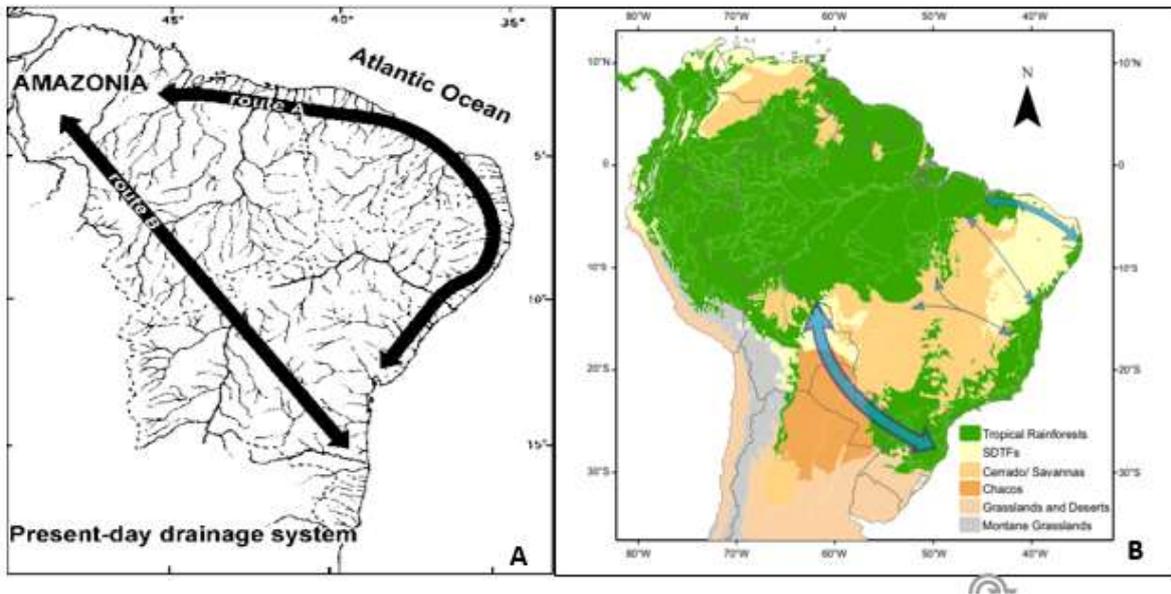
## 1.1 Teoria dos refúgios

Sabe-se que fatores históricos e biogeográficos, variáveis ambientais em escala local e mudanças no clima influenciaram nas rotas de dispersão tanto da fauna quanto da flora (DE OLIVEIRA; BARRETO; SUGUIO, 1999; SOBRAL-SOUZA; LIMA-RIBEIRO; SOLFERINI, 2015; TUMINI *et al.*, 2016; THOMÉ *et al.*, 2016). Ao longo da história geológica do Planeta Terra, o período Quaternário que corresponde aos últimos 2,6 milhões de anos, sendo dividido em duas épocas: Pleistoceno e Holoceno (HEWITT, 2011), foi um dos períodos caracterizado por pulsações climáticas que afetaram a distribuição da biota (CARNAVAL; MORITZ, 2008; CARNAVAL *et al.*, 2009; RODRIGUES; RIBEIRO, 2009).

Essas modificações foram responsáveis pela dispersão de diversos táxons como plantas (SANTOS *et al.*, 2007), aves (BATALHA-FILHO; MIYAKI, 2016; TRUJILLO-ARIAS *et al.*, 2018), lagartos (PRATES *et al.*, 2016) e serpentes (QUIJADA-MASCAREÑAS *et al.*, 2007). De acordo com esses mesmos autores, o tempo dessa dispersão é variável, dependendo das condições paleoclimáticas do hábitat e particularidades de cada grupo. Além do mais, rotas de dispersão entre a Floresta Amazônica e a Floresta Atlântica foram sugeridas na década de 60 (RIZINI, 1963). Essa rota ligou esses dois biomas através de um corredor costeiro. Enquanto dados mais recentes mostram um corredor interiorano ligando a Amazônia e a Mata Atlântica no Nordeste brasileiro (Figura 1A - B) (DE OLIVEIRA; BARRETO; SUGUIO, 1999; LEDO; COLLI, 2017).

Devido a modificações no clima, durante o Quaternário, houve retração e expansão da floresta amazônica, o que levou a um isolamento e conseqüentemente à especiação do tipo alopátrica nas manchas florestais ou “refúgios ecológicos” em populações de aves (HAFFER, 1969). Estes refúgios foram caracterizados como áreas que foram menos afetadas pelas mudanças ambientais quando comparados com regiões adjacentes (WRONSKI; HAUSDORF, 2008). Entretanto, hipóteses alternativas se opõem à teoria dos refúgios na tentativa de explicar a diversidade da Amazônia, como: Hipótese da Densidade do Dossel, Hipótese do Museu, Hipótese Paleogeográfica, Hipótese do Lago, Hipótese do Arco e Hipótese dos Rios como barreiras (veja HAFFER, 2008; RULL, 2008; PIRANI *et al.*, 2019).

Figura 1- A - B- Rotas de dispersão entre a Floresta Atlântica e Amazônia.

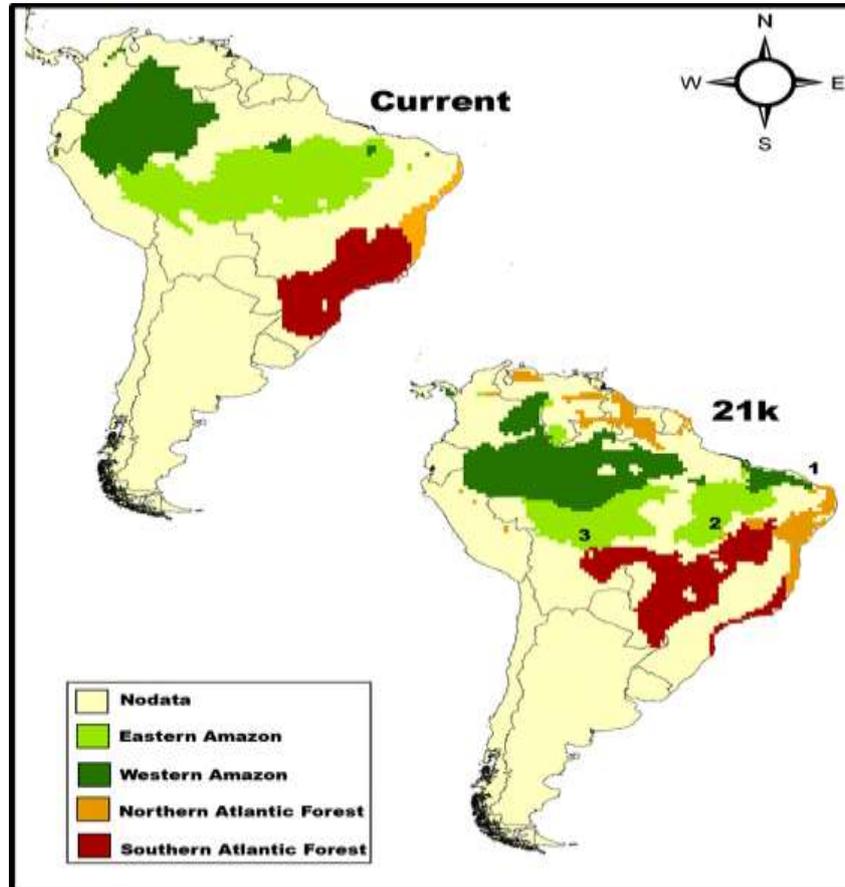


Fonte: De Oliveira et al., 1999; Ledo; Colli, 2017, respectivamente, com adaptações.

Inicialmente aplicada às regiões tropicais somente durante o Quaternário, a teoria dos refúgios, foi estendida ao terciário pela influência dos ciclos de Milankovitch sobre os biomas de todo o mundo (HAFFER; PRANCE, 2002; HAFFER, 2008). Posteriormente, a teoria foi aplicada a Floresta Atlântica baseada em modelagens paleoclimáticas associadas à distribuição de espécies com inferências fitogeográficas comparativas com refúgios do pleistoceno, associados também, a dados genéticos (CARNAVAL; MORITZ, 2008; CARNAVAL *et al.*, 2009; THOMÉ *et al.*, 2014).

A região Nordeste do Brasil passou por períodos de mudanças no clima, durante o Pleistoceno e Holoceno, vivenciando condições semelhantes às de hoje, embora períodos mais úmidos fossem observados, levando à expansão da floresta úmida (Figura 2) (SOBRAL-SOUZA; LIMA-RIBEIRO; SOLFERINI, 2015). Durante esse período, ocorreu conexão entre a Floresta Amazônica e a Floresta Tropical Atlântica e que no Nordeste são separadas pela diagonal seca, denominada Caatinga (DE OLIVEIRA; BARRETO; SUGUIO, 1999; BEHLING *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2007; PERES; SILVA; SOLFERINI, 2017). Os intervalos mais úmidos criaram rotas florestais no Nordeste do Brasil, provocando significativos deslocamentos. Assim, as conexões entre essas florestas foram responsáveis por promover o intercâmbio da biota, favorecendo a migração e especiação da fauna e da flora, embora nos dias atuais a migração da fauna e da flora entre essas duas regiões sejam dificultadas pela grande divergência do clima e fatores biogeográficos (ANDRADE; LINS, 1964; ANDRADE-LIMA, 1982; BATALHA-FILHO *et al.*, 2013; BATALHA-FILHO; MIYAKI, 2014).

Figura 2- Modelos de distribuição atual e de 21 M.A da distribuição da Floresta Amazônica e Floresta Tropical Atlântica.



Fonte: Sobral-Souza *et al.*, (2015).

Os períodos mais úmidos favoreceram a expansão das manchas de floresta, por conta disso, uma maior diversidade e endemismo foram favorecidos, evidenciando assim esses refúgios ao fim do pleistoceno (SILVA; PASSOS, 2009). Devido a essas flutuações climáticas as florestas tropicais ficaram retraídas a pequenas áreas de recorrência de umidade, conhecidos popularmente como “brejos”; constituindo verdadeiros “refúgios” que possibilitaram as populações a se diferenciarem como resultado desse isolamento (VIADANA; CAVALCANTE, 2006).

## 1.2 Brejos de altitude

Brejos de altitude são enclaves de mata úmida, formando ilhas de floresta sob clima úmido em meio a uma região onde predomina clima semiárido e vegetação de Caatinga, tendo uma condição climática bastante atípica com relação à umidade, temperatura e vegetação quando comparadas com seu entorno (PORTO; CABRAL; TABARELLI, 2004). Possuem

altitudes superiores a 900m, com o clima podendo variar de úmido a subúmido, características vegetacionais do tipo perenifólia ou subperenifólia recobrimdo os topos e as vertentes de serras, abrigando elementos das áreas oriundas do seu entorno (BORGES-NOJOSA; CARAMASCHI, 2003; MORO *et al.*, 2015). Para o estado do Ceará esses “Brejos” são denominados, frequentemente, de serras frescas ou serras úmidas (SOUZA; OLIVEIRA, 2006).

Pertencendo ao grupo de serras úmidas (MOURA-FÉ, 2017), a Serra da Ibiapaba é um brejo de altitude de localização ocidental perfazendo fronteira com o estado de Piauí, possuindo 380 km de extensão, com formação estratigráfica fazendo parte da bacia sedimentar Maranhão-Piauí; por sua localização próxima ao litoral recebe chuvas orográficas, possuindo temperaturas médias mais baixas que a região semiárida do estado do Ceará (BORJES-NOJOSA; CARAMASCHI, 2003; MORO *et al.*, 2015). O Planalto da Ibiapaba é formado por uma vegetação composta por caatingas densas, carrascos e matas plúvio nebulares (SANTOS; SOUSA, 2012).

A área do enclave úmido é estreita e abrange a porção setentrional da chamada Serra Grande, as rochas possuem uma suavidade para o oeste, configurando uma formação do tipo “cuesta”, o reverso da cuesta detém de condições climáticas bastante amenas, configuradas por chuvas abundantes e bem distribuídas (SOUZA; OLIVEIRA, 2006). As condições proporcionadas pelo clima úmido favorecem a permanência de uma expressiva mata de encosta, caracterizando-se como um verdadeiro brejo de altitude (SANTOS; SOUZA, 2012).

De acordo com Borges-Nojosa; Caramaschi; Rodrigues (2016), entender a importância biogeográfica desses Brejos de altitude é uma forma de compreender o tempo e as condições ecológicas que levaram a disjunção de espécies envolvendo a Floresta Amazônica e a Floresta Tropical Atlântica, demonstrando que no passado, essas florestas, em condições propícias de clima foram interligadas. Essa interpretação pode ser corroborada, atualmente, pela presença de caranguejos da família Pseudothelphusidae no planalto da Ibiapaba e na Chapada do Araripe - CE (MAGALHÃES *et al.*, 2005; PINHEIRO; SANTANA, 2016).

### **1.3 Modelo biológico do estudo**

Na Região Neotropical os caranguejos de água doce são restritos a duas famílias: Pseudothelphusidae e Trichodactylidae (RODRIGUEZ, 1981; MAGALHÃES, 2003; CUMBERLIDGE; ALVES; VILLALOBOS, 2014). A família Pseudothelphusidae engloba cerca de 34 gêneros e 264 espécies (CUMBERLIDGE; ALVES; VILLALOBOS, 2014), sendo a maioria das espécies distribuídas na região Norte do Brasil, embora haja registros desses

caranguejos para a região Nordeste do Brasil em pequenas manchas relictuais de floresta úmida em altitudes elevadas (MAGALHÃES *et al.*, 2005; PINHEIRO; SANTANA, 2016; SANTOS *et al.*, 2020). De acordo com Magalhães (2016), para o Brasil são registrados 21 espécies e 5 gêneros de caranguejos Pseudothelphusidae, embora esse número aumente continuamente com a descrição de novas espécies (veja em: MAGALHÃES, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2014; PEDRAZA; TAVARES, 2016; PINHEIRO; SANTANA 2016). Entretanto, essa família possui poucas espécies no Brasil quando comparados com a família Trichodactylidae (MAGALHÃES, 1986).

Estudos ecológicos para caranguejos pseudotelfusídeos são escassos (RODRÍGUEZ; MAGALHÃES, 2005; MAGALHÃES 2016). Torna-se necessário realizar estudos que englobem aspectos como dinâmica populacional, além da biologia e ecologia para as espécies desse grupo, dado que na literatura não há essas informações para nenhum representante da família (MAGALHÃES, 2016).

*Fredius reflexifrons* Ortmann 1897 (Figura 03), é um caranguejo de água doce oriundo da região Norte do Brasil (RODRIGUEZ; MAGALHÃES, 2005), possui distribuição ao longo da extensão do Rio Amazonas, além de outros países da América do Sul como a Guiana Francesa e Peru, seu habitat está relacionado com a floresta de terra firme ou pequenos igarapés (MAGALHÃES; RODRIGUEZ, 2002; CUMBERLIDGE; ALVES; VILLALOBOS, 2014). A espécie foi registrada pela primeira vez em dois pontos no Planalto da Ibiapaba, Nordeste do Brasil por Magalhães *et al.*, (2005). Posteriormente sua distribuição foi ampliada para a Área de Proteção Ambiental da Bica do Ipu, também no planalto da Ibiapaba (SANTOS *et al.*, 2020), onde esses autores relataram diversos impactos decorrentes da ação humana, que vão desde o descarte de resíduos sólidos até a canalização de corpos de água e desmatamento nos pontos de ocorrência desse caranguejo. A espécie em estudo é considerada semiterrestre, detendo a capacidade de respirar fora da água (YEO *et al.*, 2008; CUMBERLIDGE; ALVES; VILLALOBOS, 2014), facilmente são vistos alojados em tocas ao longo do solo de floresta no Planalto da Ibiapaba.

Diante da ocorrência desse caranguejo de água doce no Nordeste brasileiro, Magalhães *et al.*, (2005) postularam duas hipóteses para tentar explicar a ocorrência relictual desse caranguejo: a primeira estaria relacionada às oscilações no período quaternário, que em virtude das pulsações climáticas-vegetacionais a espécie teria se dispersado do seu centro de origem, na bacia Amazônica, até o Planalto da Ibiapaba, formando hoje, uma população relictual. A segunda hipótese estaria relacionada, à falta de esforço de coleta, ocasionando o hiato distribucional. A espécie pode estar distribuída na região Norte, bem como nos estados do

Maranhão e Piauí. Apesar das condições climáticas serem bem contrastantes na zona de transição entre a região Norte e o estado do Ceará, e a espécie seja dependente de umidade em grandes altitudes para conseguir sobreviver e completar seu ciclo de vida. Possivelmente, as populações relictuais do Planalto da Ibiapaba estão isoladas dos seus congêneres da bacia Amazônica.

Assim, a área onde as espécies são encontradas atualmente irá depender de barreiras ecológicas ou geográficas que os indivíduos encontraram durante a sua dispersão. Fenômeno este bastante difícil de precisar, uma vez que as espécies são formadas em diferentes momentos, e as barreiras não são necessariamente constantes, mas podem aparecer e desaparecer ao longo do tempo (SLATKIN 1987; SOBEL *et al.*, 2010). Além disso, pode-se afirmar que, a distribuição geográfica atual de uma espécie é frequentemente resultado de processos históricos de ocupação e sua persistência em determinado local, dá-se também devido a fatores ambientais locais (FANG *et al.*, 2013; TUMINI *et al.*, 2016).

Figura 3- *Fredius reflexifrons* recentemente capturado na Área de Proteção Ambiental da Bica do Ipu.



Fonte: elaborado pelo autor.

Assim como para os demais caranguejos Pseudothelphusidae, informações para *F. reflexifrons* são escassas na literatura. As poucas informações contidas estão relacionadas a cunho estritamente taxonômico e ampliação de distribuição geográfica (Veja: RODRIGUEZ; CAMPOS, 1998; MAGALHÃES *et al.*, 2005). Portanto, torna-se necessário ampliar os

conhecimentos para essa população relictual de caranguejo de água doce no Planalto da Ibiapaba, uma vez que serão respondidos questionamentos acerca da biologia, ecologia e filogeografia para essa espécie.

#### 1.4 DNA mitocondrial e morfologia

Apesar da dispersão e da conectividade de invertebrados aquáticos serem difíceis de estudar de forma direta, um método alternativo é verificar tanto as semelhanças quanto às diferenças entre populações (TORRES; COLLINS; GIRI, 2014). Uma forma de verificar essas variações seria por meio da técnica de morfometria geométrica, que possui como mecanismo: testar e caracterizar variações na forma do corpo, por intermédio de coordenadas de referência, marcos anatômicos – do inglês *landmarks* (ROHLF; MARCUS, 1993; ADAMS; ROHLF; SLICE, 2013).

Outra forma de verificar diferenças nas populações de caranguejos de água doce é a análise do primeiro par de gonópodos (estrutura reprodutora masculina). Estes possuem estruturas complexas em sua porção terminal que difere de espécie para espécie (RODRIGUEZ; MAGALHÃES, 2005), e sofre fraca pressão de seleção externa, porque estão abrigados na cavidade abdominal e, ficam expostos somente no período de reprodução ou de muda (VON STERNBERG; CUMBERLIDGE; RODRIGUEZ, 1999). Dessa forma, encontrar modificações nessas estruturas são indícios que a espécie vem sofrendo processo de especiação.

Apesar disso existe uma dificuldade na identificação de espécies ditas como crípticas, pela coincidência morfológica, o que leva a erros de identificação de espécies, e conseqüentemente perda da biodiversidade (LÉBEFURE *et al.*, 2006, PFENNINGER; SCHWENK, 2007). Uma maneira de evitar esses erros, seria com o auxílio de técnicas moleculares, que vêm sendo incorporadas a taxonomia tradicional como uma forte ferramenta nesse processo (PFENNINGER; SCHWENK, 2007), ao qual denomina-se taxonomia integrativa.

Frente a isso, análises de sequências de DNA seja direta, ou indiretamente pela análise de proteínas, podem ser utilizadas para a diferenciação e identificação de espécies (WARD *et al.*, 2005). Essa identificação, se dá- por meio do DNA mitocondrial que, em regra, utiliza marcadores genéticos de diversos genes da região codificante do DNA mitocondrial. Este é um filamento duplo de DNA circular com genes de cópia única, tendo como característica: inexistência de combinação gênica, ineficiência nos mecanismos de reparo de mutações, ausência de regiões não codificadoras ou raras, mutações pontuais, constituindo como principal

fonte de variação e herança geralmente uniparental (VERGAMINI, 2009; MAZZANTI *et al.*, 2010). Além disso, uma grande disponibilidade de primers para esses genes e seus sequenciamentos no Genbank, aumentam a preferência de genes mitocondriais em estudos filogenéticos dentro de Crustacea (TOON *et al.*, 2010).

Dentre os genes mitocondriais, o gene 16S (Small subunit ribossomal DNA) é um gene estrutural não-codificante, cuja combinação de regiões variáveis e conservadas é, possivelmente, uma das principais razões de ser um dos genes mais populares para a reconstrução de filogenias antigas, bem como eventos recentes (SCHUBART *et al.*, 2009). Conseqüentemente, espera-se que o isolamento alopátrico ao longo do tempo tenha levado as populações de caranguejos no Planalto da Ibiapaba a apresentarem modificações tanto em nível de gonópodo, quanto em nível de DNA mitocondrial Gene 16S. Adicionalmente, por se tratar de uma população relictual é importante saber como a mesma está estruturada e como está o grau de conservação dos locais de ocorrência da espécie para que possam ser sugeridas estratégias efetivas para sua conservação.

### **1.5 Pergunta e hipóteses**

Considerando as informações citadas acima, realizamos a seguinte pergunta:

Mesmo com isolamento recente, há diferenças entre a população relictual do caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons*, do Planalto da Ibiapaba quando comparados com seus congêneres da bacia Amazônica?

- Os processos apicais do gonópodo terão modificações quando comparados com os espécimes da bacia amazônica.
- Haverá diferenciação em nível de DNA mitocondrial (gene 16S) entre as populações Amazônicas e da Ibiapaba
- Mesmo com o isolamento em “refúgio” a população do planalto da Ibiapaba terá estrutura populacional comum a caranguejos de água doce.

## 2

**CAPÍTULO I-**

**THE DISTRIBUTION OF THE FRESHWATER CRAB FREDIUS REFLEXIFRONS (ORTMANN, 1897) (BRACHYURA, PSEUDOTHELPHUSIDAE) IN AN ENVIRONMENTAL PROTECTION AREA OF THE PLANALTO DA IBIAPABA - NORTHEASTERN BRAZIL, WITH NEW RECORDS AND COMMENTS ON ITS CONSERVATION**

**THE DISTRIBUTION OF THE FRESHWATER CRAB *FREDIUS REFLEXIFRONS* (ORTMANN, 1897) (BRACHYURA, PSEUDOTHELPHUSIDAE) IN AN ENVIRONMENTAL PROTECTION AREA OF THE PLANALTO DA IBIAPABA - NORTHEASTERN BRAZIL, WITH NEW RECORDS AND COMMENTS ON ITS CONSERVATION**

**ABSTRACT**

Freshwater crabs are important components of aquatic ecosystems; however, their distributions are restricted because of characteristics of their life history, which hinder conservation strategies. *Fredius reflexifrons* is a widely distributed freshwater crab of the Amazon basin with relictual occurrences in small wetlands on the Ibiapaba Plateau in Northeastern Brazil. Habitat degradation, destruction of forest patches, channeling of water bodies, and the use of land for legume cropping can seriously impact the species by leading to the extinction of its relic populations, which have limited distributions in the Área de Proteção Ambiental (APA; environmental protection area) Bica do Ipu of the Ibiapaba Plateau. The objectives of this study were to assess the distribution of *F. reflexifrons* in APA Bica do Ipu, identify the main impacts from anthropic activities, suggest potential actions to mitigate these impacts, besides providing recommendations for the expansion of the APA. *Fredius reflexifrons* was recorded in eleven sites in the Ibiapaba Plateau, of which nine are new records and five are not located within the APA. These findings evidence the need of expanding the APA to encompass the newly known distribution of *F. reflexifrons* in order to assure its protection.

**Keywords:** Brachyura. conservation unit. Northeastern semiarid region. Relictual distribution.

## **2.1 Introduction**

The family Pseudothelphusidae encompasses primary freshwater crabs exclusive to the Neotropical Region that complete their entire life cycle independently of salt water (CUMBERLIDGE *et al.*, 2014; YEO *et al.*, 2008). Primary freshwater crabs have direct development, by which juveniles hatch from eggs as small versions of the adults with the ability to breath out of water, and the adult females perform parental care (VOGT, 2013; 2016). The

distribution of species of the Pseudothelphusidae are strongly influenced by climatic conditions and local topography (FANG *et al.*, 2013).

Among species of the Pseudothelphusidae, *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) is widely distributed in the Amazon basin and in some coastal river basins of northern countries in South America (MAGALHÃES; 2003; CUMBERLIDGE *et al.*, 2014). Magalhães *et al.*, (2005) expanded the distribution of the species with records from the Ibiapaba Plateau in Northeastern Brazil. The occurrence of this crab in the Northeast Region of Brazil raises questions about its dispersion routes presenting disjunct distribution from its congeners occurring in the Amazon basin.

Considered as relict (MAGALHÃES *et al.*, 2005), the populations of *F. reflexifrons* on the Ibiapaba Plateau have a high degree of endemism and a low dispersion index, which limit conservation strategies (YEO *et al.*, 2008). Degradation of forest patches and water sources, as well as the use of land for agriculture, in areas of occurrence of *F. reflexifrons*, are factors that can lead to local extinction of these crustaceans.

Most species of endangered freshwater crabs are found in places of intense deforestation with altered patterns of water sources and pollution (YEO *et al.*, 2008). This situation, intensified by the low rate of dispersal of these organisms (VOGT, 2013), may accelerate the local extinction of populations. Conservation actions for members of the family Pseudothelphusidae are scarce or absent, especially for *F. reflexifrons* since there are no estimates of population structure and biology for this species up to date (MAGALHÃES, 2016). This fact raises concern, because the sites of occurrence of this species are under anthropic impacts, influencing its population structure.

The objectives of the present study were to assess the distribution of the *Fredius reflexifrons*, on the Ibiapaba Plateau in the Área de Proteção Ambiental - APA (environmental protection area) Bica do Ipu, and to identify the main impacts caused by anthropic activities. Socio-environmental measures for conservation of the species are also discussed.

## **2.2 Material and methods**

### **2.2.1 Study area**

The study took place in APA Bica do Ipu, located on the Ibiapaba Plateau within the municipality of Ipu, state of Ceará, Brazil. Encompassing 3,484.66 hectares, APA Bica do Ipu is a conservation unit for sustainable use with hillside and areas of high elevation (SEMA/CE 2013). This conservation unit was created to promote awareness and protection of the local

fauna and flora, and encourage sustainable use of its natural resources by the local community (CEARÁ, 1999).

### 2.2.2 Field procedures

Active searches were conducted in wetlands, streams, and muddy sites. Diurnal active searches of 40 minutes were performed in August and October 2017. Burrows were used as an indication of presence of crabs and were checked for the presence or absence of *F. reflexifrons*.

Temperature, humidity, elevation, and geographic coordinates were measured in every site. Impacts from anthropic activities, such as deforestation of riparian forest and wetlands, the presence of solid waste, legume cropping, and the channeling of water bodies were recorded when observed.

Captured specimens were stored in plastic bags with crushed ice and refrigerated. Afterwards, they were preserved in 70% alcohol and taken to the Semiarid Crustaceans Laboratory of the Regional University of Cariri - LACRUSE / URCA. In the laboratory, species identification was confirmed using the dichotomous key of Magalhães (2003). The specimens were deposited in the LACRUSE carcinological collection.

The parameters Extent of occurrence (EOO) and Area of Occupancy (AOO) – which refer to the size of the geographic range and the area within the EOO occupied by a species, respectively (BACHMAN *et al.*, 2011) – were determined for the specimens found in the sites of the expeditions conducted in Ibiapaba Plateau. The geographic coordinates of the distribution of the species were used to estimate the EOO and AOO by overlapping a grid of 2x2 km and summing the area of occupied cells using the software geoCAT (<http://geocat.kew.org>).

## 2.3 Results

The occurrence of *F. reflexifrons* (Figure 4) was confirmed in the 11 sites surveyed (Table 1).

Table 01- Locations surveyed for *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) on The Ibiapaba Plateau, Nordeasthern Brazil, with their respective elevations and antropic impacts.

Locality	Elevation (m)	Impacts
1- Gameleira water grove	664	water piping

2- Gameleira backyard	665	water piping, banana plantation
3- Sitio Ipuçaba (waterfall)	651	water piping
4- Sitio Ipuçaba (water source)	696	water piping
5- Cinta (water source)	717	plantation
6- Sitio Caranguejo (water source)	729	legume cropping, banana plantation, water piping
7- Santa Cruz I (water source)	782	banana plantation, water piping
8- Santa Cruz II (water source)	698	well preserved
9- Taperinha (water source)	786	well preserved
10- Taperinha stream	759	well preserved
11- Santa Luzia stream	542	well preserved

Source: prepared by the author

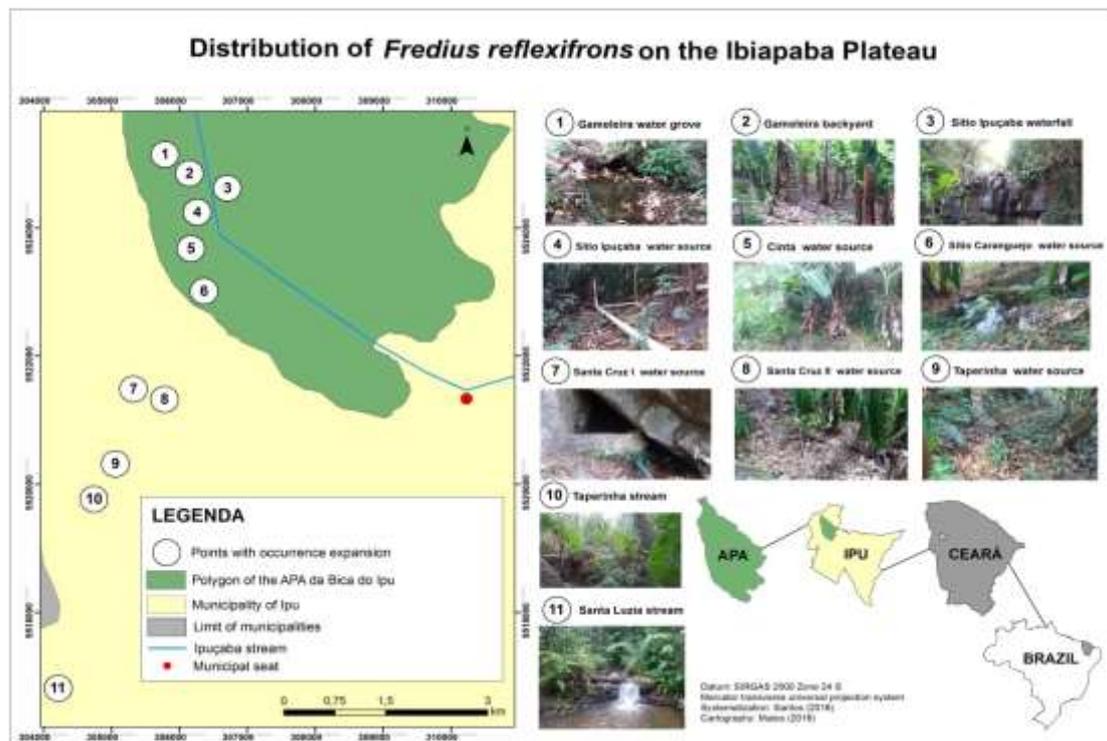
Among the 11 points surveyed, Santa Cruz I and II (water sources), Taperinha (water source), Riacho da Taperinha and Riacho da Santa Luzia, were not located within the boundaries of APA Bica do Ipu and had fewer environmental impacts than the other localities within the APA.

Figure 4- A freshwater crab, *Fredius reflexifrons* from the Ibiapaba Plateau.



Source: prepared by the author.

Figure 5- Sites with occurrence of *Fredius reflexifrons* in APA Bica do Ipu on the Ibiapaba Plateau.



Source: prepared by the author

The results showed that the areas where individuals of *F. reflexifrons* were found have the presence of a water source, are at high elevations, and have high humidity. All collecting sites (Figure 5) were under the influence of some type of anthropic action, such as the presence of solid waste, deforestation of the original vegetation for legume and fruits crops (e.g., banana), and the channeling of water sources for domestic use, crop irrigation, and animal watering.

The EOO for *F. reflexifrons* was estimated at 646,986,065 km<sup>2</sup> while the AOO was estimated at 48,000 km<sup>2</sup>. Thus, the AOO for *F. reflexifrons* appears to have been reduced in the Ibiapaba Plateau.

## 2.4 Discussion

The relic population of *F. reflexifrons* on the Ibiapaba Plateau is more widely distributed than previously known (MAGALHÃES *et al.*, 2005). However, the environmental degradation observed in the sites surveyed in this study, like channeling of water bodies for irrigation, can lead to extinction of local populations. Although individuals of *F. reflexifrons* are semi-terrestrial, and are capable of breathing out of the water, they still require moisture for survival. Thus, the channeling of water bodies on the Ibiapaba Plateau has the potential to drastically reduce the size of the populations dwelling in the sampled sites.

The distribution of *F. reflexifrons* previously encompassed only two records in the APA Bica do Ipu: Sitio Caranguejo and Sitio Santa Cruz I (MAGALHÃES *et al.*, 2005). Thus, the present study records nine additional sites. One of the most important actions for conservation of a species is to identify areas of occurrence in order to guarantee its protection (DALU *et al.*, 2017). The study of the characteristics of the habitat where these freshwater crustaceans are found can help the development of conservation strategies for threatened populations (DALU *et al.*, 2016). Thus, it is necessary to carefully conserve and manage habitat heterogeneity so that the survival of these crabs is assured (CHUA *et al.*, 2015).

Another factor to be considered is that APA Bica do Ipu does not include all the sites of occurrence of *F. reflexifrons* recorded in the present study (i.e., Santa Cruz I and II (water sources), Taperinha (water source), Riacho da Taperinha and Riacho da Santa Luzia), which further weakens the conservation actions for these populations. These sites should be included within the APA because they are better preserved, which would enable a proper management of the populations in their occurrence area.

It was not possible to capture crabs in every burrow found in some sites due to the difficulty of excavating them from their depths in dry, stony soil. This behavior may reflect a mechanism used by this crustacean to shelter themselves in the terminal portion of their burrows to prevent dehydration during periods of drought and to avoid potential predators (BLISS, 1968; ATKINSON; TAYLOR, 1988).

Since anthropic influences are everywhere and almost impossible to avoid (CUMBERLIDGE *et al.*, 2009), an alternative for minimizing threats would be the partial channeling of water sources. Such practice would provide water flow in the soil of the areas where the species is known to occur, especially during the dry season (June to December) (IPECE, 2017), and thus maintaining a suitable microclimate.

Freshwater crabs comprise a critically endangered fauna. Environmental authorities need to be cognizant of this (WEHRTMANN, 2016) and, with the help of specialists, seek strategies for their conservation. The conservation of forest patches, river springs, and water bodies in the APA Bica do Ipu can help to prevent local extinctions of *F. reflexifrons*, as well as allow the species to thrive.

The inclusion of the local community by means of environmental education is another strong tool for the conservation of this crustacean. Moreover, future studies on its ecology, reproductive biology, and population structure and dynamics are essential for understanding the status of the relic populations of the crab on the Ibiapaba Plateau. Lastly, expansion of APA Bica do Ipu encompassing all sites of occurrence of *F. reflexifrons* in the region is needed.

Although Cumberlidge (2008) considers populations of *F. reflexifrons* to be stable, the AOO for populations from Ibiapaba Plateau indicates that they should be considered Least Concern (LC), whereas at the local scale the EOO indicates that the species is critically endangered or threatened. In addition, the unabated advancement of forest degradation from anthropogenic activities will likely lead to habitat loss, and thus to potential local extinction of these small relictual populations of *F. reflexifrons* in the APA Bica do Ipu of the Ibiapaba Plateau.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio and the Secretaria de Meio Ambiente do Ceará - SEMA for the collection licenses no. 60512-1 and 16/2017. This study was partially financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

## REFERENCES

- ATKINSON, R. J. A. Physiological ecology of burrowing decapods. **Aspects of decapod crustacean biology**, 1988.
- BACHMAN, S. *et al.* Supporting Red List threat assessments with GeoCAT: geospatial conservation assessment tool. **ZooKeys**, n. 150, p. 117, 2011.
- CEARA. DECRETO Nº 25.354 dispõe sobre a criação da Área de Proteção Ambiental da Bica do Ipu. DOE 243: 6-11, 1999.
- CHUA, K. *et al.* Habitat characteristics of tropical rainforest freshwater crabs (Decapoda: Brachyura: Potamidae, Gecarcinucidae) in Singapore. **Journal of Crustacean Biology**, v. 35, n. 4, p. 533-539, 2015.
- CUMBERLIDGE N. *Fredius reflexifrons*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T135127A4064229. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T135127A4064229.en>. Downloaded on 12 July 2018.
- CUMBERLIDGE, N.; ALVAREZ, F.; VILLALOBOS, J. L. Results of the global conservation assessment of the freshwater crabs (Brachyura, Pseudothelphusidae and Trichodactylidae): The Neotropical region, with an update on diversity. **ZooKeys**, n. 457, p. 133, 2014.
- CUMBERLIDGE, N. *et al.* Freshwater crabs and the biodiversity crisis: importance, threats, status, and conservation challenges. **Biological Conservation**, v. 142, n. 8, p. 1665-1673, 2009.

CUMBERLIDGE, N. *et al.* Diversity, endemism and conservation of the freshwater crabs of China (Brachyura: Potamidae and Gecarcinucidae). **Integrative Zoology**, v. 6, n. 1, p. 45-55, 2011.

DALU, T. *et al.* Ecological assessment of two species of potamonautid freshwater crabs from the eastern highlands of Zimbabwe, with implications for their conservation. **PLoS one**, v. 11, n. 1, p. e0145923, 2016.

DALU, M.T.; WASSERMAN, R.J.; DALU, T. Can Potamonautids be used as umbrella invertebrate species for conservation: Identifying opportunities and challenges related to community sustainable livelihoods. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 101, p. 52-58, 2017.

FANG, F. *et al.* Patterns of diversity, areas of endemism, and multiple glacial refuges for freshwater crabs of the genus Sinopotamon in China (Decapoda: Brachyura: Potamidae). **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e53143, 2013.

GBIF.org (23rd May 2018) GBIF Occurrence Download. Available at: <https://doi.org/10.15468/dl.7zj0zo>.

IPECE. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. Perfil Básico Municipal Ipu. 2017. Available at <https://www.ipece.ce.gov.br/> Accessed in: May 2018.

MAGALHÃES C. Famílias Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. In: Melo, G.A.S.(Ed.), **Manual de Identificação dos Crustáceos Decápodos de Água Doce Brasileiros**, São Paulo: Editora Loyola, p.143-287, 2003.

MAGALHÃES C. Avaliação dos Pseudotelfusídeos (Decapoda: Pseudotelphusidae). In: Pinheiro MAA and Boos H (Eds), **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014**, Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Carcinologia, Porto Alegre, Brasil, p. 441-458, 2016.

MAGALHÃES, C. *et al.* New records of *Fredius denticulatus* (H. Milne-Edwards, 1853) and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897), and the eastern limits of the distribution of pseudothelphusid crabs (Crustacea: Decapoda) in Brazil. **Acta Amazonica**, v. 35, p. 93-96, 2005.

SEMA. Área de Proteção Ambiental da Bica do Ipu, 2013. Available at: [http://www.sema.ce.gov.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=43665](http://www.sema.ce.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=43665). Accessed in: May 2018.

VOGT G. Structural specialties, curiosities, and record-breaking features of crustacean reproduction. **Journal of Morphology**, v. 277, n. 11, p. 1399-1422, 2016.

VOGT G. Abbreviation of larval development and extension of brood care as key features of the evolution of freshwater Decapoda. **Biological Reviews**, v. 88, n. 1, p. 81-116, 2013.

WEHRTMANN, I.S.; MAGALHÃES, C.; OROZCO, M.N. The primary freshwater crabs of Guatemala (Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae), with comments on their conservation status. **Journal of Crustacean Biology**, v. 36, n. 6, p. 776-784, 2016.

YEO, D.C. *et al.* In: **Freshwater animal diversity assessment**. Springer, Dordrecht, 2008. p. 275-286.

## 3

**CAPÍTULO II****ESTRUTURA POPULACIONAL E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE UM  
CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE EM UM RELICTO DE FLORESTA ÚMIDA NO  
NORDESTE DO BRASIL**

### **3 CAPÍTULO II- ESTRUTURA POPULACIONAL E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE UM CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE EM UM RELICTO DE FLORESTA ÚMIDA NO NORDESTE DO BRASIL**

#### **RESUMO**

O conhecimento sobre história de vida de um organismo é importante para gerar ferramentas que auxiliem no processo de conservação das espécies. Este é o primeiro estudo realizado acerca da estrutura populacional do caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) em um enclave de floresta úmida no meio da Caatinga no semiárido brasileiro. As coletas foram realizadas bimestralmente durante um ano em uma Área de Proteção ambiental – APA com o auxílio de armadilhas e por esforço de captura. Um total de 175 espécimes foram capturados, sendo 75 fêmeas e 101 machos. Por conta do seu hábito críptico poucas fêmeas ovíferas ou transportando juvenis foram coletadas ao longo do período de estudo. O tamanho médio das fêmeas ( $40,78 \pm 11,41$  mm LC) foi significativamente maior que os machos ( $36,75 \pm 11,78$  mm LC). Encontrou-se um desvio significativo da proporção sexual de 1:1 entre machos e fêmeas durante os meses de agosto e dezembro, que correspondem ao período seco, fato que pode estar relacionado a ao hábito de refúgio das fêmeas em período de cuidado parental.

**Palavras-chave:** Brachyura. História de vida. Reprodução. População relictual.

#### **ABSTRACT**

Knowledge about life history an organism is important to create tools that assist in species conservation process. This is the first study about the population structure of the freshwater crab, *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) in a humid forest enclave in the middle of the Caatinga in Brazilian semiarid region. Samples were collected out bimonthly for one year in an Environmental Protection Area - APA with the help of traps and by capture effort. A total of 175 specimens were captured, 75 females and 101 males. Due to their cryptic habit, few ovigerous females or carrying juveniles were collected throughout the study period. The average size of females ( $40.78 \pm 11.41$  mm CW) was significantly larger than the males ( $36.75 \pm 11.78$  mm CW). A significant deviation of the sexual ratio of 1: 1 between males and females

was found during the months of August and December, which correspond to dry period, a fact that may be related to the habit of refuge of females in the period of parental care.

**Keywords:** Brachyura. Life history. Reproduction. Relict population.

### 3.1 Introdução

Entender os elementos básicos da biologia de um organismo é importante para o fornecimento de informações indispensáveis para uma ampla diversidade de estudos (DALOSTO *et al.*, 2014). Dentre eles, o entendimento das características reprodutivas numa população é essencial para o desenvolvimento de qualquer plano de manejo que tenha como objetivo a conservação da espécie (DAVANSO *et al.*, 2013). Isso se torna importante no estudo em populações cujos habitats estão em contínuo processo de degradação (e.g; caranguejos de água doce) (COLLEN *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2015). Além disso, compreender o padrão de crescimento desses organismos é fundamental para se ter um entendimento de como os fatores ambientais influenciam na estrutura de populações (SHARIFIAN *et al.*, 2017).

Pseudothelphusidae são caranguejos exclusivos da Região Neotropical (CUMBERLIDGE; ALVAREZ; VILLALOBOS, 2014), sendo encontrados em uma ampla diversidade de habitats que vão desde ambientes lênticos até manchas de floresta úmida em altitudes elevadas (CAMPOS 2005; MAGALHÃES, 2005; MAGALHÃES *et al.*, 2005; NG; GUINOT; DAVIE, 2008; CUMBERLIDGE; ALVAREZ; VILLALOBOS, 2014). Assim como para os demais Decapoda, a distribuição desses organismos está relacionada a uma tríade de fatores como: padrões biogeográficos, fatores históricos e fatores ambientais em escala local (TUMINI *et al.*, 2016).

*Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) é um caranguejo de água doce primário (VOGT, 2013), oriundo da bacia amazônica possuindo população relictual no Planalto da Ibiapaba, Nordeste brasileiro (MAGALHÃES *et al.*, 2005, SANTOS *et al.*, 2020). As informações para caranguejos Pseudothelphusidae no Brasil restringem-se a trabalhos sobre status taxonômico (MAGALHÃES, 2005), descrições de novas espécies (MAGALHÃES *et al.*, 2014; PEDRAZA; TAVARES, 2015; MAGALHÃES, 2016; PINHEIRO; SANTANA, 2016), aspectos reprodutivos (WEHRTMANN *et al.*, 2010) e distribuição biogeográfica (MAGALHÃES, 2017). Estudos para essa população relictual no semiárido nordestino são raros, apenas dois trabalhos relacionados ao registro da espécie no Planalto da Ibiapaba

(MAGALHÃES *et al.*, 2005) e a pontos de ocorrência em uma Área de Proteção Ambiental foram relatados (SANTOS *et al.*, 2020).

Informações sobre estrutura populacional, razão sexual e período reprodutivo para *F. reflexifrons* e outros caranguejos Pseudothelphusidae são ausentes na literatura. Essas informações podem auxiliar na criação de estratégias para conservação dessa população relictual que está localizada em uma Área de Proteção Ambiental no Planalto da Ibiapaba, além de nortear novos trabalhos que enfoquem a biologia reprodutiva e o padrão de distribuição dessa espécie e de outros Pseudothelphusidae. Diante disso, nosso objetivo foi fornecer informações sobre o caranguejo de água doce, *F. reflexifrons*, registrando aspectos de história de vida até então não descritos para esta espécie.

## **3.2 Material e métodos**

### ***3.2.1 Coletas de F. reflexifrons no planalto da Ibiapaba***

As coletas de *F. reflexifrons* foram realizadas bimestralmente entre agosto de 2017 e junho de 2018 em relictos de floresta úmida na Área de Proteção Ambiental - APA, localizada no Planalto da Ibiapaba, Nordeste do Brasil, sob licença do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO com o número: 605121. Foram realizadas buscas ao longo da extensão da APA e em seu entorno, onde 5 locais de ocorrência da espécie foram utilizados nesse trabalho: Sitio Santa Cruz (0305 518 E, 952 1411 N), Sítio Caranguejo (0306 142E, 952 2904 N), Grotão (03 06 146 E, 952 3054N), Sitio Ipuçaba (0306 482 E, 952 4330 N) e Gameleira (0306 298 E, 952 4846 N )

Em cada ponto amostral, os espécimes foram coletados por meio de armadilhas confeccionadas de garrafas PET, tendo como isca, ração comercial para gato, misturada com farinha de peixe conforme sugerido por Bueno; Shimizu; Rocha, 2007. Antes de anoitecer, o solo foi escavado e as armadilhas foram instaladas rente ao solo, próximas às tocas dos animais, bem como na vegetação adjacente e, inspecionadas pela manhã do dia seguinte. O número de armadilhas colocadas foi dobrado de acordo com a quantidade de tocas disponíveis (ex: 10 tocas encontradas – 20 armadilhas instaladas). Por fim, um esforço de captura foi realizado por 40 minutos em cada local de coleta após a retirada das armadilhas, para verificar a ocorrência de caranguejos no interior das tocas.

### ***3.2.2 Identificação por sexo e obtenção de dados morfométricos***

Ainda em campo os espécimes foram identificados quanto ao sexo com base na presença de gonópodos nos machos e de pleópodes nas fêmeas (MAGALHÃES; MELO, 2003). Ademais, as fêmeas foram classificadas em não ovígeras, ovígeras e transportando juvenis. Por fim, a largura do cefalotórax (LC - distância entre a base dos dois últimos espinhos anterolaterais foi mensurada com o auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,5 mm.

### ***3.2.3 Tratamento dos dados***

Os dados morfométricos foram inicialmente analisados quanto a sua normalidade e homocedasticidade, sendo utilizados os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente (SOKAL; ROHLF, 1985). Dessa forma, os testes estatísticos subsequentes foram aplicados de acordo com a natureza dos dados, se paramétricos ou não paramétricos.

### ***3.2.4 Estrutura populacional***

A estrutura populacional foi determinada a partir da observação da distribuição e frequência dos espécimes ao longo das classes de tamanhos, onde a variável morfométrica largura da carapaça (LC) foi utilizada para o agrupamento dos espécimes em cada classe. O número de classes foi obtido através da fórmula de Sturges (1926) ( $K = 1 + 3,322 * \log N$ ), onde  $N$  é o número total de espécimes analisados, e  $K$  o número de classes de tamanho obtidas.

O teste t de Student foi utilizado para analisar a diferença morfométrica entre machos e fêmeas, sendo também analisada a diferença entre os períodos seco e chuvoso. Em sequência, a Análise de Variância (ANOVA) foi utilizada para inspecionar se houve variação morfométrica entre machos e fêmeas entre os meses amostrados ao longo do estudo.

### ***3.2.5 Razão sexual***

Os espécimes foram distribuídos por sexo, amostragem e período sazonal, sendo considerados os períodos, seco (junho a dezembro) e chuvoso (janeiro a maio) (IPECE, 2017). O teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ) foi utilizado para inferência estatística da razão sexual durante o período de estudo e a cada esforço amostral, bem como por período sazonal e dentro de cada período sazonal (seco e chuvoso).

### 3.2.6 Biologia reprodutiva

Para a determinação do período reprodutivo foi considerada a frequência absoluta de fêmeas ovíferas ao longo do estudo, bem como a presença de juvenis aderidos aos pleópodes das fêmeas.

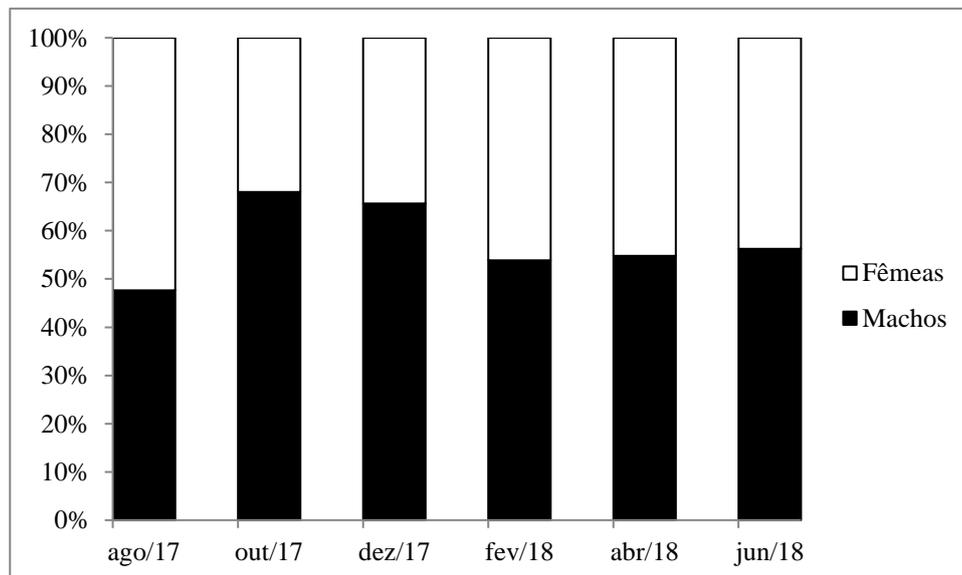
Em todas as análises estatísticas e inferenciais foi utilizado o software R (R Development Core Team 2019), sendo adotado o valor de significância de 5% (ZAR, 2010).

## 3.3 Resultados

### 3.3.1 Estrutura populacional

Durante o período de estudo, foi coletado o total de 175 espécimes de *Fredius reflexifrons*, sendo 101 (57,71%) machos e 75 (42,29%) fêmeas. No período seco foram coletados 48 (61,54%) machos e 30 (38,46%) fêmeas, e no período chuvoso 53 (54,64%) machos e 44 (45,36%) fêmeas, totalizando 78 espécimes no período seco e 97 no período chuvoso (Figura 6).

Figura 6- Porcentagem de espécimes de caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897), coletados ao longo do período de estudo.



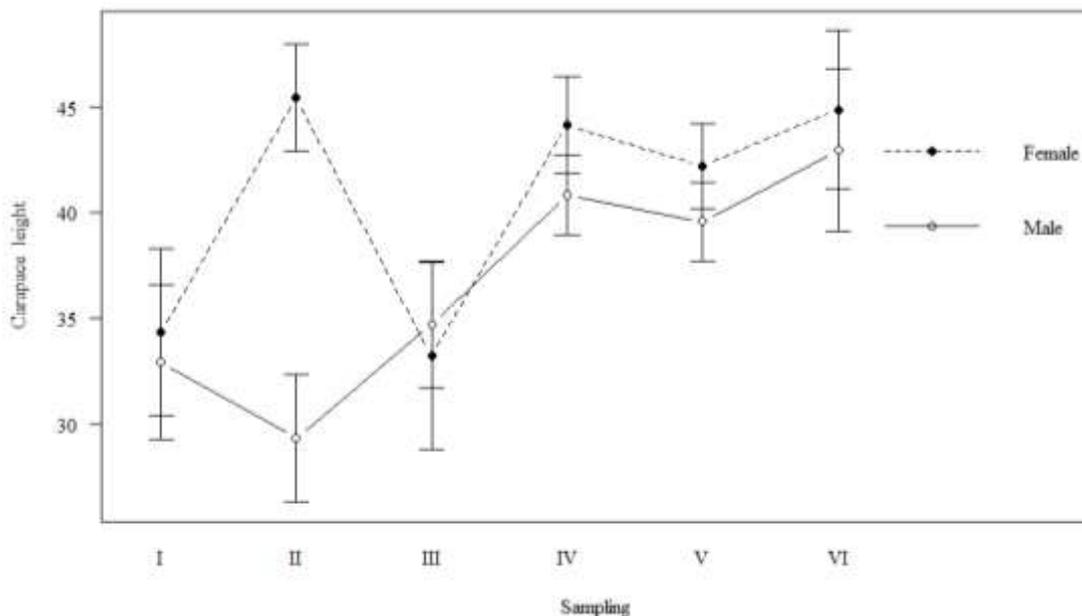
Fonte: elaborado pelo autor.

Foi observado dimorfismo sexual da largura da carapaça (LC), com as fêmeas apresentando tamanho médio morfometricamente maior em relação aos machos ( $t = 2,2763$ ;  $p < 0,05$ ). Nos machos a largura da carapaça variou de 11,35 mm à 62,60 mm, com média de

36,75 ( $\pm 11,78$ ), já em fêmeas foi observada variação entre 11,40 mm e 61,50 mm, com tamanho médio de 40,78 mm ( $\pm 11,41$ ). O tamanho médio da LC também diferiu, durante o estudo, para machos ( $F=3,293$ ; g.l. = 5;  $p<0,05$ ) e fêmeas ( $F=2,788$ ; g.l. = 5;  $p<0,05$ ), com os maiores tamanhos sendo observados no período chuvoso tanto para machos quanto para as fêmeas (Figura 7).

Em contraste aos maiores tamanhos observados no período chuvoso, foi observada diferença significativa no tamanho médio da LC entre períodos, para machos ( $t = 3,6589$ ;  $p<0,001$ ) e fêmeas ( $t = 2,3417$ ;  $p<0,05$ ). Machos apresentaram LC com tamanho médio de 40.65 mm ( $\pm 9,19$ ) no período chuvoso e 32.43 ( $\pm 12,87$ ) no período seco (Figura 07). Em fêmeas, o tamanho médio da LC no período chuvoso foi de 43,42 ( $\pm 9,23$ ) enquanto no período seco foi de 36,89 ( $\pm 13,23$ ).

Figura 7- Variação do tamanho médio de Largura da carapaça (LC) de machos e fêmeas para *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) ao longo do período de estudo.



Fonte: elaborado pelo autor.

Com base na fórmula de Sturges, foi obtido um total de nove classes de tamanho, com amplitude de 5,7 mm. Todas as classes de tamanho foram ocupadas pelos machos, enquanto às fêmeas estiveram ausentes apenas no intervalo entre 17,00 mm e 22,7 mm (Tabela 2), sendo também observado que, os machos apresentaram maior abundância entre o intervalo de 39,8 mm a 45,5 mm, e as fêmeas nos intervalos de 39,8 mm a 45,5 mm e, entre 45,5 mm e 51,2 mm. Além disso, as fêmeas foram observadas em maior abundância apenas nas duas últimas classes de tamanho.

Tabela 2 - Classes de tamanho para a população de *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897) coletados no Planalto da Ibiapaba.

Classes	Machos	Fêmeas	Razão	Prop.Machos	Prop.Fêmeas	Prop.Total
11.3 --17.0	8	4	2	66,6666667	33,3333333	100
17.0 --22.7	4	0	-	100	0	100
22.7 --28.4	14	7	2	66,6666667	33,3333333	100
28.4 --34.1	15	10	1,5	60	40	100
34.1 --39.8	15	11	1,363636	57,6923077	42,3076923	100
39.8 --45.5	18	14	1,285714	56,25	43,75	100
45.5 --51.2	17	14	1,214286	54,8387097	45,1612903	100
51.2 --56.9	8	9	0,888889	47,0588235	52,9411765	100
56.9 --61.6	2	5	0,4	28,5714286	71,4285714	100
Total	101	74	1,364865	57,7142857	42,2857143	100

Fonte: elaborado pelo autor.

### 3.3.2 Razão sexual

A razão sexual para a abundância total de machos e fêmeas (M:F), na população de *Fredius reflexifrons* do Planalto da Ibiapaba foi de 1:0,76, diferindo da esperada de 1:1 ( $X^2 = 4,1657$ , g.l. = 1,  $p < 0,05$ ). Nas análises de razão sexual por período, foi observada diferença na razão sexual encontrada no período seco, onde a razão sexual foi de 1:0,62 (M:F) ( $X^2 = 4,1538$ , g.l. = 1,  $p < 0,05$ ), entretanto, no período chuvoso a razão sexual de 1:0,83 não diferiu da esperada de 1:1 ( $X^2 = 0,83505$ , g.l. = 1,  $p = 0,36$ ). Bimestralmente não foram encontradas diferenças significativas para a razão sexual (Tabela 3).

Tabela 3- Abundância total de espécimes coletados para *F. reflexifrons* no Planalto da Ibiapaba, Nordeste do Brasil.

Mês	Campo	Machos	Fêmeas	M:F	$x^2$	$p$
ago/17	I	10	11	1,1	0,04	0,82
out/17	II	17	8	0,470588	3,24	0,07
dez/17	III	21	11	0,52381	3,125	0,07
fev/18	IV	21	18	0,857143	0,2307	0,63
abr/18	V	23	19	0,826087	0,3809	0,53
jun/18	VI	9	7	0,777778	0,25	0,61
Total	I:VI	101	74	0,732673	4,1657	<0.05
Seco	I:III	48	30	0,625	4,1538	<0.05
Chuvoso	IV:VI	53	44	0,830189	0,83505	0,3608

Fonte: elaborado pelo autor.

### 3.3.3 *Biologia reprodutiva*

Um total de nove fêmeas ovígeras (Figura 08) foi coletado, todas no período seco. A largura da carapaça variou de 41,60 mm a 58,0 mm, com tamanho médio de 48,88 ( $\pm$  5,37). Assim, todas as fêmeas ovígeras foram distribuídas nas últimas cinco classes de tamanho. Além disso, foi possível observar uma cronologia entre os eventos de reprodução para *F. reflexifrons*. Em agosto de 2017 foram encontradas duas fêmeas carregando ovos alaranjados em seus pleópodes. Em outubro e dezembro de 2017, foram encontradas cinco e duas fêmeas, respectivamente, carregando juvenis aderidos aos seus pleópodes.

Figura 8- Fêmea de caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons*, transportando ovos em seu abdômen.



Fonte: elaborado pelo autor.

## 3.4 Discussão

### 3.4.1 *Estrutura populacional*

A maior abundância tanto para machos quanto para fêmeas no período chuvoso pode ser explicada por fatores como: maior disponibilidade de recursos no ambiente nos pontos de ocorrência da espécie no Planalto da Ibiapaba; microclima favorável para a espécie nas pequenas manchas de floresta, com a queda de temperatura e aumento da umidade; bem como

uma maior exposição dos indivíduos para acasalamento. Em contraste, no período seco pode haver uma menor disponibilidade de recursos, além dos corpos de água naquela região sofrerem canalização, sendo usados durante a estiagem para irrigação de lavoura e dessedentação animal (SANTOS *et al.*, 2020).

O investimento reprodutivo em crustáceos decápodes de água doce se dá em uma demanda conflitante entre a alocação de energia entre reprodução, produção de ovos e cuidado parental com a prole (VOGT, 2013). O fato de serem encontradas, nesta espécie, fêmeas maiores especificamente no final do período chuvoso, dever estar relacionado a investimento em crescimento somático durante esse período e posteriormente o investimento reprodutivo no período seco.

Foi observado, durante todo o estudo, que as fêmeas de *F. reflexifrons* são morfometricamente maiores do que os machos, em relação à largura da carapaça. Em termos de aspectos populacionais, essa observação é inédita para a espécie em estudo e, para os Pseudothelphusidae em geral. Em crustáceos dulcícolas, os machos investem em crescimento somático, principalmente do quelípodo por ser uma estrutura evolutivamente importante nos processos agonísticos e reprodutivos, enquanto as fêmeas investem sua energia para produção de ovos grandes com uma maior quantidade de vitelo, mas em menor número quando comparados com Decápodes marinhos (LIU; LI, 2000; COPATTI *et al.*, 2016; SILVA, 2018).

Estudos para caranguejos de água doce da família Trichidoctylidae reportam o maior comprimento da carapaça em fêmeas (e.g; TADDEI; HERRERA, 2010; LIMA *et al.*, 2013; ALMEIDA; SILVA; SHINOZAKI-MENDES, 2020). O maior tamanho em fêmeas de *F. reflexifrons* pode estar relacionado a demanda conflitante entre crescimento e reprodução, mecanismo já conhecido para caranguejos de água doce, além do cuidado parental com os juvenis (como observado pelos autores em expedições de campo). Caranguejos de água doce priorizam o crescimento ao invés da reprodução contínua (TADDEI; HERRERA, 2010), mecanismo que pode ser associado a *F. reflexifrons*, pois não foram encontradas fêmeas ovígeras nem transportando juvenis nos primeiros meses do ano (janeiro a junho).

Embora existam estudos para Trichodactylidae, outra família de caranguejo de água doce exclusiva da Região Neotropical (YEO *et al.*, 2008; CUMBERLIDGE; ALVAREZ; VILLALOBOS, 2014), nos quais aspectos de biologia reprodutiva e características de história de vida são bem discutidos (e.g. TADDEI; HERRERA, 2010; LIMA *et al.*, 2013; PESCHINELLI *et al.*, 2014; PRALON *et al.*, 2018; ALMEIDA *et al.*, 2019; PESCHINELLI; MANTELATTO, COSTA, 2020), não foram encontrados trabalhos que reportem estrutura populacional ou caracterização morfométrica para representantes da família Pseudothelphusidae.

### 3.4.2 Razão sexual

A razão sexual de 1:0,62 no período seco, corrobora com os demais dados no presente estudo. Como no período seco foram encontradas fêmeas ovígeras e juvenis em todos os meses de coletas, a discrepância nessa proporção pode estar relacionada com o mecanismo de proteção das fêmeas para com os ovos e juvenis. Em observações de campo realizadas nesse estudo, as fêmeas ovígeras ou com juvenis aderidos aos pleópodes foram encontradas em tocas profundas, possuindo um caráter agressivo e autotomizando seu pereiópodos com bastante facilidade ao se tentar sua captura, tal evento é caracterizado como hábito de refúgio (SENKMAN *et al.*, 2015). Turner; Hallas; Morris, 2011 encontraram em populações de *Discoplax hirtipes* uma razão sexual de 2:1, no entanto, esses autores afirmaram que a captura dos espécimes não se deu durante o período reprodutivo, o que não explicaria as proporções encontradas em nosso trabalho.

Por outro lado, a razão sexual de 1: 0.76 e 1: 0.65 para caranguejos Trichodactlydae encontradas nos estudos de Davanzo *et al.*, (2013) e Taddei *et al.*, (2015) respectivamente, foram semelhantes aos nossos. Esses autores atribuem a diferença na razão sexual ao cuidado da fêmea com sua prole, evitando a exposição para não serem predadas. Além de cessarem a alimentação durante o período de incubação dos ovos (HARTNOLL, 2006) o que poderia explicar a proporção sexual enviesada para machos de *Fredius reflexifrons*, principalmente no período seco, quando foram observadas fêmeas em cuidado parental.

Como a espécie em nosso estudo vive em tocas no solo da floresta, essa tendência proporcional para machos pode estar relacionada a não exposição das fêmeas ovígeras ou que estão transportando juvenis que se escondem ou se alojam no interior das tocas, evitando a predação bem como as elevadas temperaturas (ELISS 1968; SALMON; ZUCKER, 1988; MANSUR; HEBLING, 2002; DAVI; MIJA, 2013; PESGINELLI *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2019), que são comuns na região entre os meses em que foram capturadas fêmeas com ovos ou transportando juvenis (Agosto a Dezembro).

O fato de as proporções serem estatisticamente iguais, embora os machos tenham sido mais abundantes durante o estudo, é um reflexo da estruturação populacional de *F. reflexifrons*, indicando que não há desvio sexual para machos ou fêmeas na população da espécie. Assim, a maior abundância no período chuvoso, pode não estar relacionada a um desvio dentro da população e sim, pelos aspectos comportamentais relacionados a biologia reprodutiva de cada sexo.

### 3.4.3 Período reprodutivo

As fêmeas classificadas em algum estágio reprodutivo, ovígeras ou transportando juvenis, foram encontradas apenas no período seco, entre agosto e dezembro de 2017 (IPECE, 2017). A presença de fêmeas ovígeras bem como transportando juvenis em seu abdômen são fortes indícios para se caracterizar o período reprodutivo (LIU; LI, 2000; DAVI; MIJA, 2013). ROSA *et al.*, (2009), ao estudarem o padrão de distribuição de três espécies de caranguejos Trichodactylidae (*Dilocarcinus pagei*, *Valdivia camerani* e *Poppiana argentiniana*) relatam que a presença de juvenis pode ser explicada pela concentração do pico reprodutivo de algumas espécies no final do período seco e início do período chuvoso.

É provável que o período reprodutivo para *F. reflexifrons* se estenda ao longo do período seco. É possível que *F. reflexifrons* seja uma espécie com reprodução sazonal, a reprodução nos meses mais quentes do ano seria uma vantagem para o desenvolvimento dos embriões antes de iniciar a quadra chuvosa (DEVI; MIJA, 2013) que se inicia nos primeiros meses do ano (IPECE, 2017). No período de chuvas o ambiente naquela região torna-se lamacento e com alto teor de matéria orgânica o que pode propiciar um ambiente com microclima favorável para a exploração da área por juvenis em busca de proteção, alimento e fuga de possíveis predadores.

Apenas um único estudo é registrado na literatura para biologia reprodutiva de Pseudothelphusidae (WEHRTMANN *et al.*, 2010). No referido estudo os autores relataram a fecundidade, presença de ovos e juvenis em duas espécies do gênero *Kingsleya* (*K. latifrons* Randall, 1840 e *K. ytipora* Magalhães, 1986), além de uma espécie do gênero *Potamocarcinus* (*P. magnus* Rathbun, 1896), reportando a produção de poucos ovos, mas com grandes quantidades de vitelo. *Fredius reflexifrons*, assim como as espécies estudadas por Wehrmann *et al.*, (2010), produziram poucos ovos, mas de grande tamanho e volume.

De maneira geral, para caranguejos de água doce as fêmeas têm cuidado parental com a prole (LIU; LI, 2000; SANT'ANNA; TAKAHASHI; HATTORI, 2013), provavelmente, fêmeas de *F. reflexifrons* exibem tal padrão de cuidado parental, uma vez que fêmeas foram capturadas transportando juvenis em seu abdômen, além de serem observados em trabalhos de campo (Campo de Dezembro/2017), juvenis possivelmente com a cutícula recém calcificada próximos à fêmea, indicando a diminuição da dependência em relação às fêmeas.

As populações de *Fredius reflexifrons* estudadas no planalto da Ibiapaba estão isoladas de seus coespecíficos e congêneres de origem amazônica. No presente estudo a espécie habita fragmentos florestais com diferentes escalas de conservação (SANTOS *et al.*, 2020),

dificultando a permanência das mesmas nos locais mais degradados. Sendo necessária a realização de mais estudos, também com outras espécies, uma vez que os aspectos biológicos e ecológicos dos Pseudothelphusidae ainda são pouco conhecidos.

Embora *F. reflexifrons* estudado esteja na Serra da Ibiapaba, as informações obtidas no presente estudo servem de subsídios para futuras pesquisas e discussões acerca dos aspectos ecológicos e estratégias de conservação para esses organismos, bem como para os Pseudothelphusidae em geral. Por fim, investigações futuras que abordem aspectos histológicos das gônadas em machos e fêmeas são sugeridas para que a determinação do ciclo reprodutivo ocorra mais detalhadamente e subsidie estratégias de conservação para esta espécie neste local.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos membros do Laboratório de Ecossistemas Aquáticos da Universidade Federal do Ceará - UFC, ao Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri – URCA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade-ICMBio e a Secretaria de Meio Ambiente do Ceará - SEMA for the collection licenses no. 60512-1 e 16/2017. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. R. S.; SILVA, L. N.; SHINOZAKI-MENDES, R. A. Reproductive biology of the freshwater crab *Goyazana castelnaui* (Brachyura: Trichodactylidae) in a semiarid region of Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 64, n. 1, p. 1-9, 2020.
- BUENO, S. L. S.; SHIMIZU, R. M.; ROCHA, S. S. Estimating the population size of *Aegla franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) by mark-recapture technique from an isolated section of Barro Preto stream, county of Claraval, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 27, n. 4, p. 553-559, 2007.
- CAMPOS, M. **Freshwater crabs from Colombia: a taxonomic and distributional study**. 2005.
- COLLEN, B. *et al.* Global patterns of freshwater species diversity, threat and endemism. **Global ecology and Biogeography**, v. 23, n. 1, p. 40-51, 2014.
- COPATTI, C. E. *et al.* Growth, sexual maturity and sexual dimorphism of *Aegla georginae* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in a tributary of the Ibicuí River in southern Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 33, 2016.

- CUMBERLIDGE, N.; ALVAREZ, F.; VILLALOBOS, J. L. Results of the global conservation assessment of the freshwater crabs (Brachyura, Pseudothelphusidae and Trichodactylidae): The Neotropical region, with an update on diversity. **ZooKeys**, n. 457, p. 133, 2014.
- DALOSTO, M. M. *et al.* Population biology of *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in a tributary of the Uruguay River, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 31, n. 3, p. 215-222, 2014.
- DAVANSO, T. M. *et al.* Population dynamics of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* in tropical waters in southeastern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 33, n. 2, p. 235-243, 2013.
- DEVI, AR S.; SMIJA, M. K. Reproductive biology of the freshwater crab, *Travancoriana schirnerae* Bott, 1969 (Brachyura: Gecarcinucidae). **Indian journal of Fisheries**, v. 60, n. 3, p. 13-21, 2013.
- ELISS, D. E. Transition from water to land in decapod crustaceans. **American Zoologist**, v. 8, n. 3, p. 355-392, 1968.
- HARTNOLL, R. G. Reproductive investment in Brachyura. **Hydrobiologia**, v. 557, n. 1, p. 31-40, 2006.
- IPECE. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. Perfil Básico Municipal Ipu. 2017. Disponível em <https://www.ipece.ce.gov.br/> Acesso em: maio de 2018
- LIU, H.C.; LI, C. W. Reproduction in the fresh-water crab *Candidiopotamon rathbunae* (Brachyura: Potamidae) in Taiwan. **Journal of Crustacean Biology**, v. 20, n. 1, p. 89-99, 2000.
- LIMA, D. J. M. *et al.* Onset of sexual maturity and relative growth of the freshwater crab *Trichodactylus fluviatilis* (Trichodactyloidea) in south-eastern Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 57, n. 2, p. 105-112, 2013.
- MAGALHÃES, C. A new genus and species of freshwater crab (Decapoda, Pseudothelphusidae) from the Tapajós River, a southern tributary of the Amazon River in Brazil. **Crustaceana**, v. 90, n. 7-10, p. 1015-1025, 2017.
- MAGALHÃES, C. Avaliação dos pseudotelfusídeos (Decapoda: Pseudotelfusidae), Cap. 25, p. 325-336. In: Pinheiro, M.A.A. & Boos, H. (Org.). Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Porto Alegre, RS: Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 466 p, 2016.
- MAGALHÃES, C. *et al.* Morphological and molecular characterization of a new species of *Fredius* (Decapoda, Pseudothelphusidae) from Rondônia, southern Amazonia, Brazil. In: **Advances in freshwater decapod systematics and biology**. Brill, p. 101-114, 2014.
- MAGALHÃES, C. *et al.* New records of *Fredius denticulatus* (H. Milne-Edwards, 1853) and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897), and the eastern limits of the distribution of pseudothelphusid crabs (Crustacea: Decapoda) in Brazil. **Acta Amazonica**, v. 35, p. 93-96, 2005.

MAGALHÃES, C. A new species of freshwater crab (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) from the southeastern Amazon Basin. **Nauplius**, v.12, n.2, p. 99-107, 2005.

MAGALHÃES, C. Famílias Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**, v. 143, p. 287, 2003.

MANSUR, C. B.; HEBLING, N. J. Análise comparativa entre a fecundidade de *Dilocarcinus pagei* Stimpson e *Sylviocarcinus australis* Magalhães & Turkay (Crustacea, Decapoda, Trichodactylidae) no Pantanal do Rio Paraguai, Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, p. 797-805, 2002.

NG, P. K. L.; GUINOT, D.; DAVIE, P. J. F. Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. **The raffles bulletin of zoology**, v. 17, n. 1, p. 1-286, 2008.

PESCINELLI, R. A.; MANTELATTO, F. L.; COSTA, R. C. Population features, sexual dimorphism and handedness of the primary freshwater crab *Trichodactylus cf. fluviatilis* (Brachyura: Trichodactylidae) from southeastern Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 64, n. 2, p. 95-105, 2020.

PESCINELLI, R. A. *et al.* Relative growth and morphological sexual maturity of the freshwater crab *Trichodactylus fluviatilis* Latreille 1828 (Decapoda, Trichodactylidae) from west central São Paulo State, Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 58, n. 2, p. 108-114, 2014.

PEDRAZA, M.; TAVARES, M. A new species of freshwater crab of the genus *Kingsleya* Ortmann, 1897 (Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae) from Amazonia, Brazil. **Zootaxa**, v. 4032, n. 4, p. 444-450, 2015.

PINHEIRO, A. P.; SANTANA, W. A new and endangered species of *Kingsleya* Ortmann, 1897 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae) from Ceará, northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 4171, n. 2, p. 365-372, 2016.

PRALON, B. G. N. *et al.* Relative growth and onset of morphological sexual maturity of the freshwater crab *Sylviocarcinus pictus* in a river of the Caatinga of northeastern Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 63, n. 1, p. 23-29, 2019.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

ROSA, F. R. *et al.* Distribuição de caranguejos Trichodactylidae (Crustacea, Brachyura) em alagados do Pantanal Mato-Grossense (Brasil) e sua correlação com a proximidade do rio Cuiabá e cobertura vegetal. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 49, p. 311-317, 2009.

SANT'ANNA, B. S.; TAKAHASHI, E. L. H.; HATTORI, G. Y. Parental care in the freshwater crab *Sylviocarcinus pictus* (Milne-Edwards, 1853). **Open Journal of Ecology**, v. 3, n 2, p. 161-163, 2013.

- SALMON, M.; ZUCKER, N. Interpreting differences in the reproductive behaviour of fiddler crabs (genus *Uca*). In: **Behavioral adaptation to intertidal life**. Springer, Boston, MA, 1988. p. 387-407.
- SANTOS, L. C. *et al.* The distribution of the freshwater crab *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897)(Brachyura, Pseudothelphusidae) in an Environmental Protection Area of the Planalto da Ibiapaba, Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.
- SENKMAN, L. E. *et al.* Reproductive behaviour of three species of freshwater crabs of the family Trichodactylidae (Crustacea: Decapoda) including forced copulation by males. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, v. 48, n. 2, p. 77-88, 2015.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**. 3rd Edition. W, H, Freeman and Co., New York. 1985.
- SHARIFIAN, S. *et al.* Population structure and growth of freshwater crab *Sodhiana iranica* from the south of Iran. **Fundamental and Applied Limnology**, v. 189, n. 4, p. 341-349, 2017.
- STURGES, H. A. The choice of a class interval. **Journal of the american statistical association**, v. 21, n. 153, p. 65-66, 1926.
- TADDEI, F. G. *et al.* Population structure, recruitment, and mortality of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 (Brachyura, Trichodactylidae) in Southeastern Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 59, n. 4, p. 189-199, 2015.
- TADDEI, F. G.; HERRERA, D. R. Crescimento do caranguejo *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 (Crustacea, Brachyura, Trichodactylidae) na represa Barra Mansa, Mendonça, SP. **Boletim do Instituto De Pesca**, v. 36, n. 2, p. 99-110, 2010.
- TUMINI, G. *et al.* The importance of biogeographical history and extant environmental conditions as drivers of freshwater decapod distribution in southern South America. **Freshwater Biology**, v. 61, n. 5, p. 715-728, 2016.
- TURNER, L. M.; HALLAS, J. P.; MORRIS, S. Population structure of the Christmas Island blue crab, *Discoplax hirtipes* (Decapoda: Brachyura: Gecarcinidae) on Christmas Island, Indian Ocean. **Journal of Crustacean Biology**, v. 31, n. 3, p. 450-457, 2011.
- VOGT, G. Abbreviation of larval development and extension of brood care as key features of the evolution of freshwater Decapoda. **Biological Reviews**, v. 88, n. 1, p. 81-116, 2013.
- WEHRTMANN, I. S. *et al.* Offspring production in three freshwater crab species (Brachyura: Pseudothelphusidae) from the Amazon region and Central America. **Zoologia (Curitiba)**, v. 27, p. 965-972, 2010.
- YEO, D. C. J. *et al.* Global diversity of crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 275, 2008.

## 4

**CAPÍTULO III****CRESCIMENTO RELATIVO E PRIMEIRA MATURIDADE SEXUAL  
MORFOLÓGICA DE UM CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE EM UMA ÁREA DE  
ENCLAVE ÚMIDO DO NORDESTE DO BRASIL**

## **CRESCIMENTO RELATIVO E PRIMEIRA MATURIDADE SEXUAL MORFOLÓGICA DE UM CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE EM UMA ÁREA DE ENCLAVE ÚMIDO DO NORDESTE DO BRASIL**

### **RESUMO**

O crescimento relativo e a maturidade sexual morfológica de *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) foi investigado em uma área de floresta úmida no nordeste brasileiro. Os espécimes foram coletados bimestralmente (entre agosto de 2017 a junho de 2018) por meio de armadilhas próximas as tocas e por esforço de captura. O crescimento relativo foi analisado por sexo. Observou-se que há dimorfismo sexual no desenvolvimento ontogenético de *F. reflexifrons*, para as variáveis morfométricas analisadas. A largura da carapaça (LC) foi determinada como crescimento padrão, sendo utilizada como variável independente, a demais variáveis morfométricas (CPQM, AP, LP, LA) e o peso, foi utilizado como variáveis dependentes. Fêmeas diferiram em maior tamanho de largura da carapaça que machos. Em relação aos valores do LC50, onde cinquenta por cento dos indivíduos estão morfológicamente maduros foram encontrados valores de largura da carapaça para machos e fêmeas de 36,4 mm e 46,0 mm respectivamente. As informações apresentadas nesse trabalho nortearão futuros estudos que priorizem a conservação desse caranguejo de água doce, bem como as áreas onde essa espécie ocorre.

**Palavras-chave:** Alometria. Isometria. Dimorfismo sexual. Pseudothelphidae

### **ABSTRACT**

The relative growth and morphological sexual maturity of *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) was investigated in an area of rainforest in northeastern Brazil. The specimens were collected bimonthly (between August 2017 and June 2018) by means of traps close to the burrows and by capture effort. The relative growth was analyzed by sex. It was observed that there is sexual dimorphism in ontogenetic development of *F. reflexifrons*, for morphometric variables analyzed. Carapace width (LC) was determined as standard growth, being used as an independent variable, other morphometric variables (CPQM, AP, LP, LA) and weight were used as dependent variables. Females differed in greater carapace width than males. Regarding LC50 values, where fifty percent of the individuals are morphologically mature, carapace width

values for males and females of 36.4 mm and 46.0 mm were found respectively. The information shown in this study will guide future studies that prioritize conservation of this freshwater crab, as well as the areas where this species occurs.

**Keywords:** allometry. Isometry. Sexual dimorphism. Pseudothelphusid

#### 4.1 Introdução

Na Região Neotropical os caranguejos de água doce são restritos a duas famílias: Pseudothelphusidae e Trichodactylidae (RODRIGUEZ, 1981; MAGALHÃES, 2003; CUMBERLIDGE; ALVAREZ; VILLALOBOS, 2014). A família Pseudothelphusidae engloba cerca de 34 gêneros e 264 espécies (CUMBERLIDGE; ALVAREZ; VILLALOBOS, 2014). O conhecimento sobre aspectos de história de vida e ecológicos para caranguejos pseudotelfusídeos são escassos (RODRÍGUEZ; MAGALHÃES 2005; MAGALHÃES, 2016), como sugerido por Magalhães (2016), torna-se necessário realizar estudos que englobem aspectos como dinâmica populacional, além da biologia e ecologia para as espécies desse grupo.

A determinação do primeiro tamanho da maturidade sexual é de grande valia para o entendimento dos padrões de história de vida em crustáceos decápodes, além de serem ferramentas poderosas ao se trabalhar com populações de espécies que estão ameaçadas (BUENO; SHIMIZU 2008). Da mesma forma, a maturação sexual é uma ferramenta importante que ajuda a compreender a biologia reprodutiva de um crustáceo (COPATTI *et al.*, 2015), tendo como características mudanças morfológicas, fisiológicas e comportamentais em machos e fêmeas (HARTNOLL, 1969; ARAÚJO *et al.*, 2012).

O padrão de crescimento de certas partes do corpo em machos e fêmeas de crustáceos podem ser aferidos de maneira precisa em virtude da rigidez do seu exoesqueleto (HARTNOLL, 1978). Essas partes podem crescer em proporções distintas (RODRIGUES, 1985), e a esse fenômeno é dado o nome de alometria (HARTNOLL, 1974). Há três padrões de crescimento alométrico para crustáceos, alometria positiva, onde uma variável dependente cresce de forma rápida em relação ao tamanho do corpo, isometria, onde o crescimento das estruturas corpóreas cresce equitativamente e alometria negativa, onde há um crescimento lento da variável dependente em relação ao tamanho do corpo (HARTNOLL, 1978; MARIAPPAN; BLASUNDARAM; SCHMITZ, 2000).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar o crescimento relativo e a maturidade sexual morfológica, do caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons*, em uma área de enclave úmido no Nordeste do brasileiro.

## **4.2 Material e métodos**

### ***4.2.1 Coletas de *F. reflexifrons* no planalto da Ibiapaba***

As coletas de *F. reflexifrons* foram realizadas bimestralmente entre agosto de 2017 e junho de 2018 em relictos de floresta úmida na Área de Proteção Ambiental - APA, localizada no Planalto da Ibiapaba, Nordeste do Brasil, sob licença do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO com o número: 605121. Foram realizadas buscas ao longo da extensão da APA e em seu entorno, onde 5 locais de ocorrência da espécie foram utilizados nesse trabalho: Sítio Santa Cruz (0305 518 E, 952 1411 N), Sítio Caranguejo (0306 142E, 952 2904 N), Grotão (03 06 146 E, 952 3054N), Sítio Ipuçaba (0306 482 E, 952 4330 N) e Gameleira (0306 298 E, 952 4846 N ).

Em cada ponto amostral, os espécimes foram coletados por meio de armadilhas confeccionadas de garrafas PET, tendo como isca, ração comercial para gato, misturada com farinha de peixe conforme sugerido por Bueno; Shimizu; Rocha (2007). Antes de anoitecer, o solo foi escavado e as armadilhas foram instaladas rente ao solo, próximas às tocas dos animais, bem como na vegetação adjacente e, inspecionadas pela manhã do dia seguinte. O número de armadilhas colocadas foi dobrado de acordo com a quantidade de tocas disponíveis (ex: 10 tocas encontradas – 20 armadilhas instaladas). Por fim, um esforço de captura foi realizado por 40 minutos em cada local de coleta após a retirada das armadilhas, para verificar a ocorrência de caranguejos no interior das tocas.

### ***4.2.2 Identificação por sexo e obtenção de dados morfométricos***

Ainda em campo os espécimes foram identificados quanto ao sexo com base na presença de gonópodos nos machos e de pleópodos nas fêmeas (MAGALHÃES; MELO, 2003). Em seguida, um paquímetro digital (com precisão de 0,5 mm) foi utilizado para a mensuração das seguintes medidas corporais: largura do cefalotórax (LC - distância entre a base dos dois últimos espinhos marginais); largura do abdômen (LA - distância correspondente à medida da largura do 4° somito abdominal para fêmeas e a do 3° para os machos); comprimento do própodo do

quelípodo maior (CPQM - distância entre a porção distal do dedo fixo e a região mais proximal ao carpo do quelípodo maior); altura do própodo do quelípodo maior (AP - distância da face inferior até a face superior do própodo na região medial do quelípodo maior); largura do própodo do quelípodo maior (LP – distância entre a face anterior e posterior na região mediana do quelípodo maior) (COPATTI, *et. al.*, 2016).

#### 4.2.3 Tratamento dos dados e análises estatísticas

Os dados morfométricos foram inicialmente analisados quanto a sua normalidade e homocedasticidade, sendo utilizados os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente (SOKAL; ROHLF, 1985). Dessa forma, os testes estatísticos subsequentes foram aplicados de acordo com a natureza dos dados, se paramétricos ou não paramétricos.

O crescimento relativo foi analisado por sexo. Dessa forma, foi observado se há dimorfismo sexual no desenvolvimento ontogenético de *F. reflexifrons*, para as variáveis morfométricas analisadas. A largura da carapaça (LC) foi determinada como crescimento padrão, sendo utilizada como variável independente. Assim, o restante das variáveis morfométricas (Comprimento do própodo do quelípodo maior - CPQM, altura do própodo - AP, Largura do própodo - LP, Largura do abdômen - LA) e o peso, foi utilizado como variáveis dependentes.

A equação alométrica ( $y=ax^b$ ) (HARTNOLL, 1974, 1978, 1982), foi log-transformada ( $\log y = \log a + b*\log x$ ) para determinar a relação entre o crescimento das variáveis dependentes ( $y$ ) em resposta ao crescimento padrão ( $x$ ). Neste caso, o coeficiente angular da regressão alométrica ( $b$ ), também chamado de coeficiente alométrico, foi utilizado como referencial de: isometria ( $0.9 < b < 1.1$ ), alometria positiva ( $b \geq 1.1$ ) ou alometria negativa ( $b \leq 0.9$ ), para as variáveis morfométricas (HARTNOLL, 1982), e: isometria ( $2.9 < b < 3.1$ ), alometria positiva ( $b \geq 3.1$ ) ou alometria negativa ( $b \leq 2.9$ ), para o aumento do peso e resposta a largura da carapaça (HARTNOLL, 1982). O ajuste das variáveis na equação, sendo a correlação entre o crescimento das mesmas, foi estimado pelo método dos mínimos quadrados e avaliado pelo coeficiente de determinação da reta ( $R^2$ ). Por fim, uma análise de covariância, ANCOVA (ZAR, 2010), foi realizada entre os coeficientes angulares de cada para identificar, estatisticamente, se há distinção no desenvolvimento ontogenético entre machos e fêmeas.

Por fim, a análise de maturidade sexual foi realizada separadamente para os sexos. Para avaliar o tamanho da primeira maturidade morfológica nos machos, foi analisado o CP em resposta ao LC, já nas fêmeas a resposta do crescimento da LA em virtude da LC foi utilizada

para determinar a maturidade morfológica. O tamanho na maturidade (L50), foi estimado com a utilização do pacote SizeMat (TORREJON-MAGALLANES, 2017) no software R (R Development Core Team 2019). Em todas as análises estatísticas o valor de significância adotado foi de 5% (ZAR, 2010).

### 4.3 Resultados

#### 4.3.1 Crescimento relativo

Todos os espécimes coletados foram utilizados na análise de crescimento relativo. A largura da carapaça (LC) variou de 11,35 mm a 62,6 mm, com média de 38,45 mm ( $\pm$ ), sendo observado para essa e outras variáveis alguma distinção entre os sexos (Tabela 04).

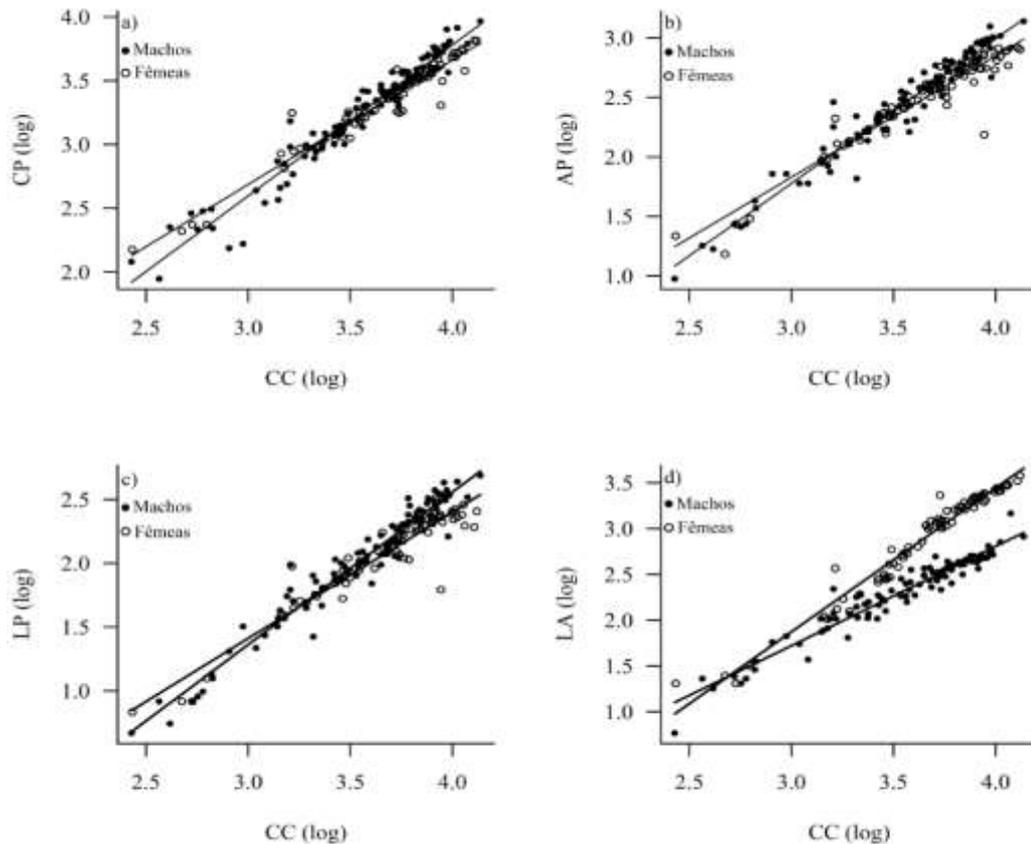
Tabela 4- Variáveis utilizadas na análise de crescimento relativo para a população de caranguejo de água doce, *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897).

Variável	Min	Média	Máx
CC	7,8	27,59	42,9
LC	11,35	38,45	62,6
CPQM	7	28,52	52,8
AP	2,65	12,69	23,1
LP	1,95	8,229	14,7
LA	2,15	14,99	35,9
PESO	1	24,34	74

Fonte: elaborado pelo autor.

Todas as variáveis morfométricas apresentam crescimento relacionado ao crescimento padrão (LC) (figura 09).

Figura 9- Relação morfométrica entre machos e fêmeas de *F. reflexifrons*, indicando trajetórias ontogenéticas distintas entre machos e fêmeas. a) relação morfométrica do comprimento do própodo em resposta ao comprimento da carapaça; b) relação morfométrica da altura do própodo em resposta ao crescimento da carapaça; c) relação morfométrica da altura do própodo em resposta ao comprimento da carapaça; d) relação morfométrica da largura do abdômen em resposta ao comprimento da carapaça.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espécimes machos de *Fredius reflexifrons* exibem alometria positiva das variáveis morfométricas referentes ao quelípodo (CP, AP e LP), com as fêmeas apresentando isometria para essas variáveis (Tabela 05).

Tabela 5- Resultado do estado de alometria para a população de caranguejo de água doce *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897).

Variáveis	Sexo	a	b	gl	F	r2	P	Alometria
CP vs LC	M	-0,9556	1,1843	99	1870	0,94	<0.001	+
AP vs LC	M	-1,8680	1,2152	99	1854	0,94	<0.001	+
LP vs LC	M	-2,2243	1,1957	99	1885	0,94	<0.001	+
CP vs LC	F	-0,2381	0,9750	72	1179	0,94	<0.001	o
AP vs LC	F	-1,2331	1,0207	72	722,4	0,9	<0.001	o

<b>LA vs LC</b>	F	-1,5608	0,9909	72	646,5	0,89	<0.001	o
	M	-1,5353	1,0858	99	1359	0,93	<0.001	o
<b>PE vs LC</b>	F	-2,8396	1,5712	72	1895	0,96	<0.001	+
	M	-7,1998	2,7868	99	1790	0,94	<0.001	-
	F	-7,0490	2,7539	72	1518	0,95	<0.001	-

Fonte: elaborado pelo autor.

Entretanto, o inverso é observado para o aumento da largura do abdome (LA), onde as fêmeas exibem expressiva taxa de crescimento alométrico positivo e os machos exibem isometria. Além disso, a trajetória ontogenética do crescimento relativo foi significativamente distinta entre machos e fêmeas (Tabela 06) para todas as variáveis analisadas.

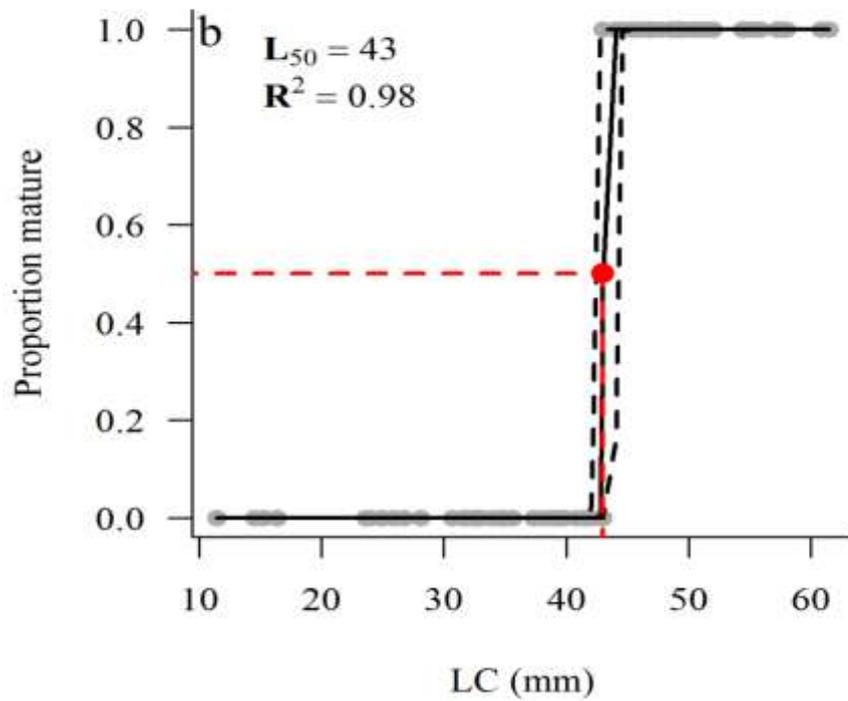
Tabela 6- Resultado da Análise de Covariância – ANCOVA , das relações morfométricas estudadas na população de *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897).

<b>Variáveis</b>	<b>Sexo</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>CP vs LC</b>	M vs F	2851,2	<0.001
<b>AP vs LC</b>	M vs F	1678,1	<0.001
<b>LP vs LC</b>	M vs F	1542,5	<0.001
<b>LA vs LC</b>	M vs F	1482,8	<0.001
<b>PE vs LC</b>	M vs F	2546,7	<0.001

Fonte: elaborado pelo autor.

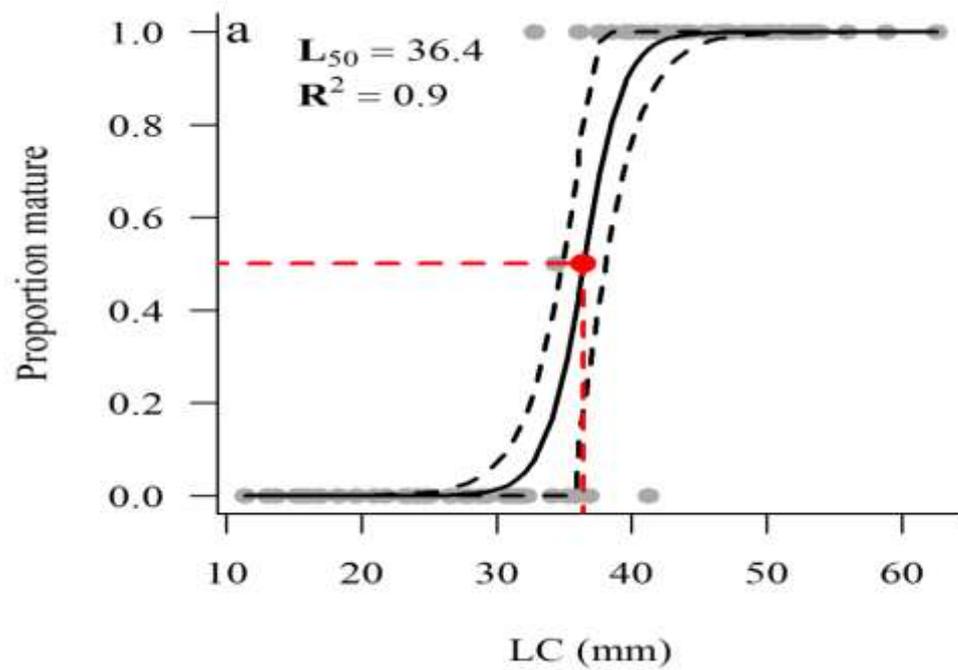
Em relação aos valores do L50, onde 50% dos indivíduos estão morfologicamente maduros foram encontrados valores de largura da carapaça para machos e fêmeas de 36,4 mm ( $R^2=0,98$ ) e 46,0 mm ( $R^2= 0,89$ ) respectivamente (Figuras 10 e 11).

Figura 10- LC50 para caranguejos fêmeas de *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897).



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 11- LC50 para caranguejos machos de *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897).



Fonte: elaborado pelo autor.

## 4.4 Discussão

### 4.4.1 Maturidade morfológica

Na população estudada, o tamanho da primeira maturidade sexual morfológica alcançada em machos e fêmeas confirma que a espécie em estudo possui dimorfismo sexual de tamanho. Em relação ao tamanho da maturidade sexual morfológica o maior valor encontrado foi em fêmeas, sugerindo que elas atingem maturidade morfológica em tamanho maior que os machos, provavelmente de forma mais tardia. Valores inversos aos desse estudo foram reportados na literatura (e.g; PARVIZI *et al.*, 2017; PRALON *et al.*, 2018 e literatura nele citadas). No entanto, esses não são valores arbitrários, podendo mudar tanto entre os sexos quanto entre espécies (HARTNOLL, 1972), podendo estar relacionados aos processos evolutivos de cada espécie.

Por outro lado, fêmeas fora do intervalo de maturidade morfológica podem realizar acasalamento, mesmo não estando fisiologicamente maduras (LIU; HARTNOLL, 2017). Esses mesmos autores relataram que fêmeas do caranguejo de água doce *Candidiopotamon rathbunae* (De Man, 1914) realizaram “acasalamento precoce” e que foram encontrados espermatozoides estocados nas fêmeas em seu receptáculo seminal. Esses resultados podem ser aplicados a *F. reflexifrons*, porque nossos resultados indicam que essa espécie possui uma sazonalidade em seu período reprodutivo; consequentemente isso seria uma estratégia reprodutiva, uma vez que a fêmea pode entrar em maturidade morfológica e fisiológica e não ter machos disponíveis para cópula.

O tamanho da primeira maturidade sexual morfológica em *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765) foi de 38 mm de LC para machos e 43 mm de LC para fêmeas (HARTNOLL, 2009), o que mostra semelhança com os dados encontrados em nosso estudo. Cobo; Alves (2009), ao estudarem o crescimento relativo e maturidade sexual morfológica em *Mithrax tortugae* (Rathbun, 1920) atribuem os maiores valores encontrados para maturidade morfológica em fêmeas a uma maior aquisição de recursos logo após a puberdade, que é dividido entre crescimento somático, demandas metabólicas e crescimento reprodutivo.

Entretanto, não é comum encontrar esses resultados para caranguejos de água doce, onde frequentemente as fêmeas são menores que os machos (DAVANSO *et al.*, 2016) e atingem maturidade morfológica em tamanhos menores. Adicionalmente, esses mesmos autores atribuem essa divergência para uma maturidade morfológica tardia em fêmeas de *Dilocarcinus*

pagei Stimpson, 1861 quando comparado com machos, o que pode ser atribuído também, para fêmeas de *F. reflexifrons*.

#### 4.4.2 Crescimento relativo

Nossos resultados mostraram que existem alometria positiva em machos e, isometria em fêmeas, em todas as variáveis relacionadas ao quelípode (Tabela 03). O dimorfismo sexual da quela em machos é resultado do uso em combate, exibição e corte (HARTNOLL, 1974). Simpson; Ambrozio; Baeza (2016) analisaram a alometria e o dimorfismo dessa estrutura em resposta aos comportamentos agonísticos em Porcellanidae e observaram que o padrão semelhante ao observado aqui é um reflexo de comportamentos agonísticos entre os machos. Como observado em um dos campos, no qual acidentalmente um caranguejo macho foi liberado em uma toca que já estava ocupada por outro espécime, onde o macho do interior da toca expulsou o caranguejo de menor tamanho.

Conseqüentemente, um animal que possui o quelípodo robusto será favorecido na competição com seus congêneres por recursos, na maior chance de obter companheiros, e também através da seleção sexual por fêmeas (MARIAPPAN; BALASUNDARAM; SCHMITZ, 2000; SPANI; SCALICI, 2016). Dessa forma, o quelípodo maior em machos de *F. reflexifrons* pode ser utilizado para disputa de território (tocas com um melhor microclima), busca por recurso bem como uso para manusear a fêmea durante a cópula.

Em relação às fêmeas, e sua alometria positiva do abdômen, é notável que esteja ligada a fixação e incubação dos ovos e, posteriormente acomodação dos juvenis (DANIELS *et al.*, 2001; PESCELLI *et al.*, 2014; DAVANSO *et al.*, 2016), características que evoluíram entre os decápodes de água doce, de exibir cuidado parental, onde a fêmea mantém os juvenis, até certo estágio de seu desenvolvimento, em sua câmara abdominal (MANSUR; HEBLING, 2002). Por outro lado, a isometria para o abdômen dos machos em *F. reflexifrons* pode ser explicada pelo não uso do abdômen diretamente para fins reprodutivos. O abdômen nos machos é utilizado para proteger o par de gonópodo que ficam alocados na cavidade esterno-abdominal, sendo utilizados para transferência de espermatozoides durante o processo de cópula (HARTNOLL, 1974; HARTNOLL, 1982; STERNBERG; CUMBERLIDGE; RODRIGUEZ, 1999; MANSUR *et al.*, 2005).

Foi observado que os machos exibem comportamento agonístico entre si, justificando a alometria positiva do quelípode em sua ontogenia, que por sua vez atinge a maturidade sexual em tamanho menor em relação às fêmeas. Dessa forma contribuimos com informações inéditas

acerca da biologia geral dessa população relictual de caranguejo de água doce no planalto da Ibiapaba.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M.S.L.C. *et al.* Population ecology of the blue crab *Callinectes danae* (Crustacea: Portunidae) in a Brazilian tropical estuary. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 1, p. 129-138, 2012.
- BUENO, S. L. S.; SHIMIZU, R. M.; ROCHA, S. S. Estimating the population size of *Aegla franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) by mark-recapture technique from an isolated section of Barro Preto stream, county of Claraval, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 27, n. 4, p. 553-559, 2007.
- BUENO, S. L. S.; SHIMIZU, R. M. Reproductive biology and functional maturity in females of *Aegla franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 28, n. 4, p. 652-662, 2008.
- COPATTI, C. E.; MACHADO, J. V. D. V.; TREVISAN, A. Morphological variation in the sexual maturity of three sympatric aeglids in a river in southern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 35, n. 1, p. 59-67, 2015.
- COPATTI, C. E. *et al.* Growth, sexual maturity and sexual dimorphism of *Aegla georginae* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in a tributary of the Ibicuí River in southern Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 33, 2016.
- CUMBERLIDGE, N.; ALVAREZ, F.; VILLALOBOS, J. L. Results of the global conservation assessment of the freshwater crabs (Brachyura, Pseudothelphusidae and Trichodactylidae): The Neotropical region, with an update on diversity. **ZooKeys**, n. 457, p. 133, 2014.
- DANIELS, S. R. Allometric growth, handedness, and morphological variation in *Potamonautes warreni* (Calman, 1918)(Decapoda, Brachyura, Potamonautidae) with a redescription of the species. **Crustaceana**, p. 237-253, 2001.
- DAVANSO, T. M. *et al.* Sexual maturity, handedness and sexual dimorphism of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* in Southeastern Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 2, p. 269-279, 2018.
- HARTNOLL, R. G. Mating in the Brachyura. **Crustaceana**, p. 161-181, 1969.
- HARTNOLL, R. G. The biology of the burrowing crab, *Corystes cassivelaunus*. **Bijdragen tot de Dierkunde**, v. 42, n. 2, p. 139-155, 1972.
- HARTNOLL, R. G. Variation in growth pattern between some secondary sexual characters in crabs (Decapoda Brachyura). **Crustaceana**, p. 131-136, 1974.
- HARTNOLL, R. G. The determination of relative growth in Crustacea. **Crustaceana**, p. 281-293, 1978.

- HARTNOLL, R.G. Growth, in: Abele, L.G. (Ed.) The biology of Crustacea: 2. Embryology, morphology and genetics. **The biology of Crustacea**, : p. 111-196, 1982
- HARTNOLL, R. G. Sexual maturity and reproductive strategy of the rock crab *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765)(Brachyura, Grapsidae) on Ascension Island. **Crustaceana**, p. 275-291, 2009.
- LIU, H. C.; HARTNOLL, R. G. Precocious mating in the freshwater crab *Candidiopotamon rathbunae* (De Man, 1914). **Crustaceana**, v. 90, n. 2, p. 225-233, 2017.
- MAGALHÃES, C. 2003. Famílias Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. In: Melo, G.A.S.(Ed.), **Manual de Identificação dos Crustáceos Decápodos de Água Doce Brasileiros**, São Paulo: Editora Loyola, p.143-287.
- MAGALHÃES C. Avaliação dos Pseudotelfusídeos (Decapoda: Pseudotelphusidae). In: Pinheiro MAA and Boos H (Eds), **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014**, Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Carcinologia, Porto Alegre, Brasil, p. 441-458, 2016.
- MANSUR, C. B.; HEBLING, N. J. Análise comparativa entre a fecundidade de *Dilocarcinus pagei* Stimpson e *Sylviocarcinus australis* Magalhães & Turkey (Crustacea, Decapoda, Trichodactylidae) no Pantanal do Rio Paraguai, Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, p. 797-805, 2002.
- MANSUR, C. B.; HEBLING, N. J.; SOUZA, J. A. Crescimento relativo de *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 e *Sylviocarcinus australis* Magalhães e Turkey, 1996 (Decapoda: Trichodactylidae) no pantanal do Rio Paraguai, Porto Murtinho-Mato Grosso do Sul **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 2, p. 103-107, 2018.
- MARIAPPAN, P.; BALASUNDARAM, C.; SCHMITZ, B. Decapod crustacean chelipeds: an overview. **Journal of biosciences**, v. 25, n. 3, p. 301-313, 2000.
- PARVIZI, E. *et al.* Life history traits and patterns of sexual dimorphism in the freshwater crab *Potamon ibericum* (Bieberstein, 1809)(Decapoda: Brachyura: Potamidae) from the western Alborz Mountains, Iran. **Journal of Crustacean Biology**, v.37, n. 3, p. 323-331, 2017.
- PESCINELLI, R. A. *et al.* Relative growth and morphological sexual maturity of the freshwater crab *Trichodactylus fluviatilis* Latreille 1828 (Decapoda, Trichodactylidae) from west central São Paulo State, Brazil. **Invertebrate reproduction & development**, v.58, n. 2, p. 108-114, 2014.
- PRALON, B. G. N. *et al.* Relative growth and onset of morphological sexual maturity of the freshwater crab *Sylviocarcinus pictus* in a river of the Caatinga of northeastern Brazil. **Invertebrate Reproduction & Development**, p. 1-7, 2018.
- RODRIGUES, S. D. A. Sobre o crescimento relativo de *Callichirus major* (Say, 1818) (Crustacea, Decapoda, Thalassinidea). **Boletim de Zoologia**, v. 9, n. 9, p. 195-211, 1985.

- RODRÍGUEZ, G. Decapoda. **Aquatic biota of tropical South America, part**, v. 1, p. 41-51, 1981.
- RODRÍGUEZ, G.; MAGALHÃES, C. Recent advances in the biology of the Neotropical freshwater crab family Pseudothelphusidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura). **Revista brasileira de Zoologia**, v. 22, p. 354-365, 2005.
- SIMPSON, L. A.; AMBROSIO, L. J.; BAEZA, J. A. Sexual Dimorphism and Allometric Growth in the Enigmatic Pygmy Crab *Petramithrax Pygmaeus* (Decapoda: Brachyura: Mithracidae), with a Formal Test of Rensch's Rule in Spider Crabs (Superfamily Majoidea). **Journal of Crustacean Biology**, v. 36, n. 6, p. 792-803, 2016.
- SOKAL, R. R.; Rohlf, F. J. **Biometry**. 3rd Edition. W, H, Freeman and Co., New York. 1985.
- SPANI, F.; SCALICI, M. Allometric Sexual Dimorphism in the River Crab *Potamon Fluviatile* (Brachyura: Potamidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 36, n. 3, p. 274-278, 2016.
- TORREJON-MAGALLANES, J. sizeMat: Estimate size at sexual maturity. R package version 0.3.0, 2017. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1685.7848>.
- STERNBERG, R.; CUMBERLIDGE, N.; RODRIGUEZ, G. On the marine sister groups of the freshwater crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 37, n. 1, p. 19-38, 1999.
- ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 5th Edition. Pearson Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ. 944 pp. 2010.

## 5

**CAPÍTULO IV****GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIFFERENTIATION OF A FRESHWATER  
CRAB IN HUMID FOREST AREA, IN THE PLANAUTO DA IBIAPABA –  
NORTHEASTERN BRAZIL**

Capítulo submetido e aceito em formato de artigo seguindo as normas da revista: PeerJ (ISSN: 2167-8359)

**GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIFFERENTIATION OF A FRESHWATER CRAB IN HUMID FOREST AREA, IN THE PLANAUTO DA IBIAPABA – NORTHEASTERN BRAZIL**

**RESUMO**

Uma nova espécie de caranguejo de água doce, *Fredius ibiapaba*, é descrita e ilustrada a partir de uma área florestal de altitude média em Ipu (planalto da Ibiapaba, Ceará, nordeste do Brasil), entre 635 e 782 m. A nova espécie pode ser separada de seus congêneres pela morfologia de seu primeiro gonópodo: metade proximal notavelmente inflada, inclinando-se abruptamente anteriormente para baixo para um ombro quase angular; lobo mesial muito menor que a coluna cefálica; lobo cefálico moderadamente desenvolvido; borda do lobo auxiliar delimitando o campo dos espinhos apicais, se projetando até a margem distal do lobo auxiliar. Sequenciamento comparativo de 16S rDNA usado para inferir a localização filogenética de *Fredius ibiapaba* n. sp. revelou que é o táxon irmão de *F. reflexifrons*, uma espécie que ocorre alopaticamente nas planícies da bacia amazônica e atlântica (<100 m). *Fredius ibiapaba* n. sp. e *F. reflexifrons* são altamente dependentes da umidade e provavelmente já fizeram parte de uma população ancestral que viveu em um amplo território úmido. O encolhimento das florestas úmidas durante vários períodos secos do terciário e do quaternário provavelmente resultou na fragmentação da área úmida ancestral e, portanto, da população ancestral de caranguejos. *Fredius reflexifrons* evoluíram e se espalharam em uma bacia húmida de planície (bacias amazônica e atlântica), enquanto *F. ibiapaba* n. sp. evoluiu isolado no topo de um platô úmido. As duas espécies agora estão separadas por uma vasta área ocupada pela Caatinga semiárida.

**Plavras-chave:** *Fredius*. Refúgios. Brejos. Ibiapaba. Ipu. Amazônia. Biogeografia

**ABSTRACT**

A new species of freshwater crab, *Fredius ibiapaba*, is described and illustrated from a mid-altitude forested patch in Ipu (Ibiapaba plateau, Ceará, northeastern Brazil), between 635 to 782 m. The new species can be separated from its congeners by the morphology of its first gonopod: proximal half remarkably swollen, sloping abruptly downwards anteriorly to a nearly right-angular shoulder; mesial lobe much smaller than cephalic spine; cephalic lobe moderately developed; auxiliary lobe lip, delimiting field of apical spines, protruded all the way to distal margin of auxiliary lobe. Comparative 16S rDNA sequencing used to infer the phylogenetic

placement of *Fredius ibiapaba* n. sp. revealed that it is the sister taxon of *F. reflexifrons*, a species which occurs allopatrically in the Amazon and Atlantic basin's lowlands (< 100 m). *Fredius ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons* are highly dependent upon humidity and most probably were once part of an ancestral population living in a wide humid territory. Shrinking humid forests during several dry periods of the Tertiary and Quaternary likely have resulted in the fragmentation of the ancestral humid area and hence of the ancestral crab population. *Fredius reflexifrons* evolved and spread in a lowland, humid river basin (Amazon and Atlantic basins), whilst *F. ibiapaba* n. sp. evolved isolated on the top of a humid plateau. The two species are now separated by a vast intervening area occupied by the semiarid Caatinga.

**Keywords:** *Fredius*. Refuges. Brejos. Ibiapaba. Ipu. Amazon. Biogeography

## 5.1 Introduction

The geological events and climate changes that occurred during Quaternary period shaped the distribution and diversification of several taxa (QUIJADA-MASCARENAS et al., 2007, CARNAVAL et al., 2009, GARZON-ORDUNA; BENETTI-LOUGHINI; BROWER, 2014). These climatic oscillations have caused profound changes in the distribution of habitats and organisms that depend on them (JANSSON; DYNESIUS, 2002), among which, the formation of connections between biomes, such as, for example, the Amazon Forest and the Atlantic Tropical Forest, in which dispersion corridors originated. (DE OLIVEIRA; BARRETO; SUGUIO, 1999; BEHLING et al., 2000; AULER et al., 2004). Nevertheless, changes in climate accompanied the retraction of these biomes, resulting in reduction of populations as well as the disjunction in refuges during glacial periods. (HEWITT, 2004).

Cumulative evidences from many independent sources argue in favor of the mid-altitude forested patches in northeastern Brazil being remnants of a once much larger humid forest, connected to both the Amazonian and Atlantic rainforests during the moister periods (e.g., ANDRADE-LIMA, 1982; CARTELLE; HARTWIG, 1996; DE VIVO, 1997; AB'SABER, 2000; AULER *et al.*, 2004; CARNAVAL; BATES, 2007; CARMIGNOTTO; VIVO; LANGGUTH, 2012; BATALHA-FILHO *et al.*, 2013; SOBRAL-SOUZA; LIMA-RIBERIRO; SOLFERINI, 2015). These humid forest refuges (Figure 12 A–D), naturally isolated by the vast surrounding semiarid Caatinga (Figure 12 F, G), are indeed known to harbor many woody plant and animal species (fossil and Recent) that are also found or are closely related to species occurring allopatrically in the Amazonian and Atlantic rainforests.

Figura 12- A–E) Mid-altitude, naturally isolated, humid forested patch nested within the vast semiarid Caatinga domain. Sítio Caranguejo, Ipu, Ceará, 04°18'50" S, 40°44'47"W, 729 meters high, type locality of *Fredius ibiapaba* n. sp. Note in (E) burrow (arrow) of *Fredius ibiapaba* n. sp. among the leaf litter. (E–F) Lowland, surrounding semiarid Caatinga forest. (E) View from above from Ipu. (F) Detail of a dry-stream channel.



Source: prepared by the author

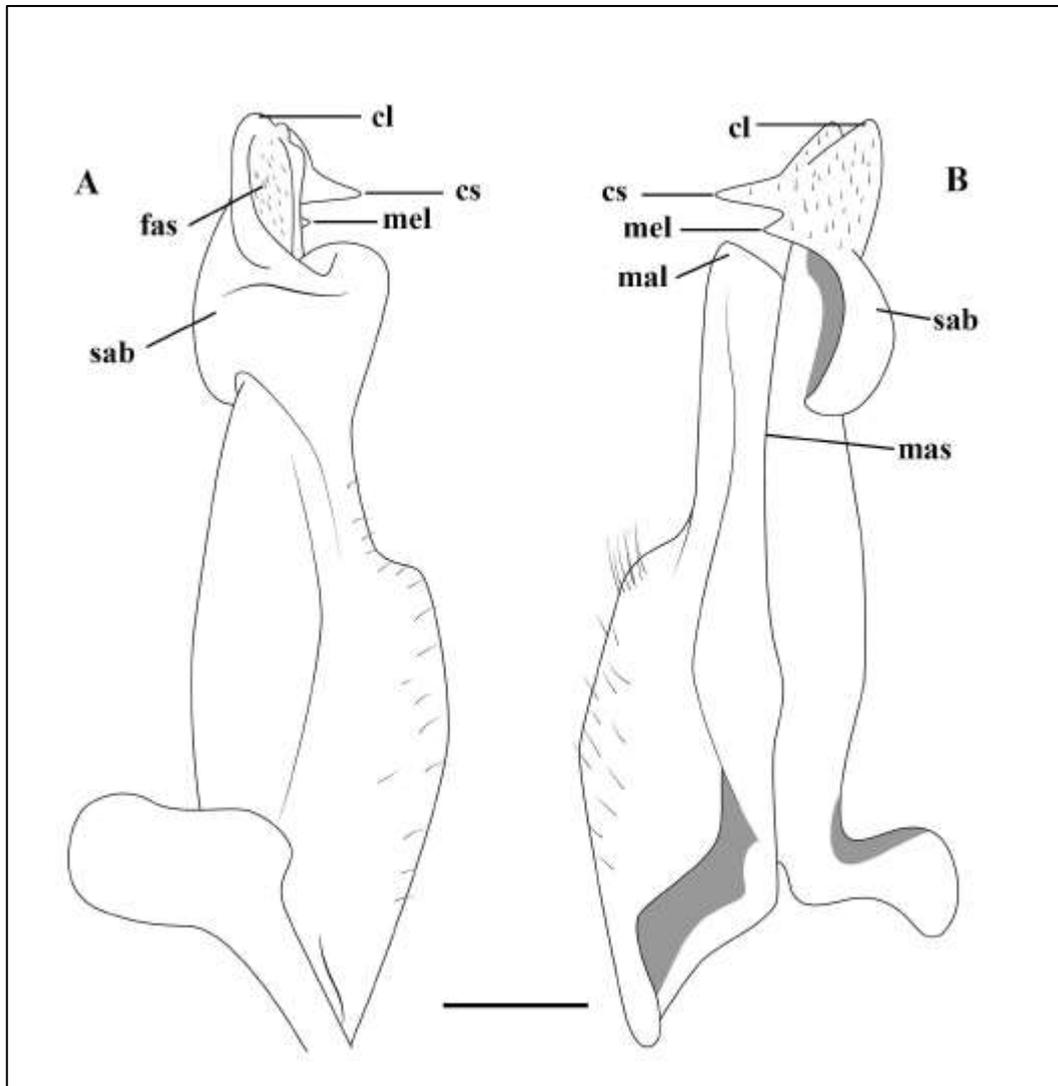
While remaining in these wetland relicts, and in turn, being isolated by the Caatinga domain, several populations lost contact with adjacent populations (e.g., crustaceans that need streams or humid environments to perform dispersion). Passing to suffer differentiation as a result of this isolation (VIADANA-CAVALCANTE, 2006).

Here we describe and illustrate a new species of a freshwater pseudoscorpion crab, *Fredius ibiapaba* n. sp., from a mid-altitude forest enclave in Ipu (Ibiapaba plateau, Ceará,

northeastern Brazil), between 665 to 782 m (Figure 12 A–D). Evidences from a phylogenetic analysis using 16S rDNA are presented for a sister taxon relationship between *Fredius ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897), a species occurring allopatrically in the Amazonian humid lowlands. Previous hypothesis on the phylogenetic relationships of *F. reflexifrons* and the possible evolutionary scenario that led to the emergence of the sister taxons *Fredius ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons* are discussed.

The specimens were collected using license permission from the Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO #605121) of the Brazilian Ministry of Environment (MMA). The studied specimens are deposited in the collections of the INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus) and MZUSP (Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, Brazil). Measurements: cl, carapace length, taken along the carapace axis to its posterior median margin, in millimeters (mm). Dates are written in the format day.month.year, with months in lower-case Roman numerals. Abbreviations are as follows: G1, G2, first and second gonopods, respectively. Mxp3, third maxilliped. The terminology used in the description of the G1 is referred in the (Figure 13 A-B).

Figura 13- (A–B) Semi-diagrammatic view of the first male gonopod in abdominal and sternal views, respectively, with the terminology used in the descriptions. Cl, cephalic lobe; cs, cephalic spine; fas, field of apical spines; mal, marginal lobe; mas, marginal suture; mel, mesial lobe; sab, subapical bulge.



Source: prepared by the author

## 5.2 Material and methods

DNA extraction, amplification and sequencing: Muscle tissue samples were obtained from the pereopods or abdomen of *Fredius ibiapaba* n. sp., *F. buritizatilis* Magalhães, Sanches, Pileggi & Mantelatto, 2014, and *Prionothelephusa eliasi* Rodriguez, 1980. At the Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- LBM/UESB a small region of the 16S rDNA gene was extracted with Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega), amplified in a 12,5 µl final volume reaction with 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen), 0,05 mM de dNTP (Invitrogen), buffer 1x (Invitrogen – 10xPCR Buffer: 200mM Tris-HCl (pH

8.4), 500mM KCl), 1U de taq platinum (Invitrogen) and 0,3 $\mu$ M of each primer. The PCR conditions were: one cycle at 94°C, 60 sec; five cycles at 94°C, 60 sec; 45°C, 40 sec and 72°C, 60 sec; and 35 cycles at 94°C, 60 sec; 51°C, 40 sec and 72°C; 60 sec; a final extension of five minutes at 72°C was performed. The primers used were 16Sar (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') and 16Sbr (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') (PALUMBI *et al.*, 1991). PCR products were purified using a polietilenoglicol (PEG) 20% and sequenced in an ABI Prism 3100 Genetic Analyzer® (Applied Biosystems) at the Departamento de Tecnologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal. Sequencing reaction was performed with Big Dye v3.1 (Applied Biosystems), prepared with 4,75  $\mu$ l ultrapure water, 1,5  $\mu$ l BigDye 5x buffer, 0,75  $\mu$ l BigDye terminator Mix, 2  $\mu$ l primer (0,8 pmol) and 1  $\mu$ l of Purified PCR product. Sequence conditions were: one minute at 96°C; 35 cycles of 15 sec at 96°C; 15 sec at 50°C and 2 minutes at 60°C. Both, forward and reverse sequence strands were obtained and the consensus generated by the software BioEdit 7.0.5 (HALL, 2005). The identities of the final sequences were confirmed with a BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) on GenBank database. Additional comparative sequences were retrieved from GenBank (Table 7).

Tabela 7-Species of *Fredius* Pretzmann, 1967, *Prionothelephusa* Rodriguez, 1980 and *Trichodactylus* Latreille, 1828 used in the phylogenetic analyses, with respective sample locality and GenBank accession number.

<b>Species</b>	<b>Locality</b>	<b>GenBank accession numbers</b>
<i>Fredius buritizatis</i>	Ji-Paraná, Rondônia, Brazil	JN402376
<i>Fredius buritizatis</i>	Ji-Paraná, Rondônia, Brazil	JN402377
<i>Fredius buritizatis</i>	Chupinguaia, Rondônia, Brazil	MN787136
<i>Fredius denticulatus</i>	Serra do Navio, Amapá, Brazil	JN402372
<i>Fredius estevisi</i>	Posto Indígena Parafuri, Roraima, Brazil	JN402379
<i>Fredius fittkaui</i>	Aldeia Balawa-ú, Amazonas, Brazil	JN402373
<i>Fredius platyacanthus</i>	Comunidade Paapi-ú, Roraima, Brazil	JQ414023
<i>Fredius ibiapaba</i> n. sp.	Sítio Caranguejo, Ipu, Ceará, Brazil	MN787135

<i>Fredius reflexifrons</i>	Rio Chumucuí, Bragança, Pará, Brazil	JN402378
<i>Fredius stenolobus</i>	Rio Tawadu, Bolívar, Venezuela	JN402374
<i>Fredius stenolobus</i>	Aldeia Palimi-ú, Rio Uraricoera, Roraima, Brazil	JN402375
<i>Prionothelphusa eliasi</i>	Japurá, Vila Bittencourt, Amazonas, Brazil	MN787137
<i>Trichodactylus dentatus</i>	Bahia, Brazil	FM208777

Source: prepared by the author

Phylogenetic analyses: Substitution saturation in 16S rDNA was tested using the saturation index implemented in DAMBE 5 (XIA, 2013). The sequences were grouped and edit in BioEdit and aligned using the ClustalW interface (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994). *Prionothelphusa eliasi* (Pseudothelphusidae) and *Trichodactylus dentatus* H. Milne Edwards, 1853 (Trichodactylidae) were chosen as outgroups. The best-fit model HKY + G was selected using jModeltest 2.1.7 (DARRIBA *et al.*, 2012). This model was used to generate Maximum Likelihood gene trees in MEGA 6.06 (TAMURA *et al.*, 2013). Branch support values were calculated using bootstrap analyses with 1,000 replicates (FELSENSTEIN, 1985). Only nodes with bootstrap support greater than 50 are shown on the phylogenetic tree. Nucleotide divergence estimated from pairwise distance was calculated in MEGA 6.06 with the same best-fit model (Table 8).

Tabela 8- Pairwise distance matrix from the portion of the mitochondrial 16S rRNA based on ~560bp.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 <i>Fredius ibiapaba</i> n. sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 <i>Fredius reflexifrons</i>	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 <i>Fredius burutizatilis</i>	0,10	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 <i>Fredius buritizatilis</i>	0,11	0,08	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 <i>Fredius buritizatilis</i>	0,11	0,08	0,02	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-
6 <i>Fredius denticulatus</i>	0,12	0,09	0,08	0,08	0,08	-	-	-	-	-	-	-

7	<i>Fredius stenolobus</i>	0,10	0,07	0,07	0,06	0,06	0,10	-	-	-	-	-	-
8	<i>Fredius stenolobus</i>	0,10	0,07	0,07	0,06	0,06	0,10	0,00	-	-	-	-	-
9	<i>Fredius estevisi</i>	0,11	0,07	0,07	0,06	0,06	0,09	0,02	0,02	-	-	-	-
10	<i>Fredius fittkai</i>	0,09	0,07	0,07	0,07	0,07	0,09	0,08	0,08	0,08	-	-	-
11	<i>Fredius platyacanthus</i>	0,10	0,07	0,06	0,06	0,06	0,09	0,02	0,02	0,02	0,08	-	-
12	<i>Prionothelphusa eliassi</i>	0,16	0,13	0,12	0,12	0,12	0,13	0,12	0,12	0,12	0,13	0,12	-
13	<i>Trichodactylus dentatus</i>	0,22	0,19	0,21	0,21	0,21	0,22	0,21	0,21	0,22	0,20	0,21	0,22

Source: prepared by the author

### 5.3 Results

Pseudothelphusidae Ortmann, 1893

*Fredius* Pretzmann, 1967

*Fredius ibiapaba* n. sp. (Figures 14A-E; 15A-C; 16A, C; 17A-D; 18A-E)

**Type material.** Holotype, male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710), Sítio Caranguejo, Ipú, Ceará, 04°18'50" S, 40°44'47"W, 729 m, xii.2017. Paratypes: male cl 34 mm, cw 48 mm (MZUSP 39169), same data as holotype; female cl 35 mm, cw 49 mm (MZUSP 39171), Sítio Gameleira, Ipu, Ceará, 04°17'17" S, 40°44'44"W, 665 m, 5.i.2018; male cl 32 mm, cw 48 mm (MZUSP 39167), Sítio Santa Cruz, Ipu, Ceará, 04°19'40" S, 40°45'09"W, 782 m, 10.x.2014; female cl 31 mm, cw 44 mm (MZUSP 39168), Sítio Santa Cruz, Ipu, Ceará, 04°19'40" S, 40°45'09"W, 782 m, 23.iv.2015; male cl 41.2 mm, cw 62.6 mm (MZUSP 39742), Sítio Ipuçaba, Ipu, Ceará, 27.x11.2017.

**Comparative material.** *Fredius fittkai* (Bott, 1967): male, cl 47.1 mm, cw 66.9 mm (MZUSP 24497), Guyana, Potaro-Siparuni, Rio Kuribrong, 05°22'35"N, 59°33'4"W, P. Bernardo & B. Newman coll., 28.ix.2010. *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897): Peru: male, cl 31 mm, cw 42.5 mm (MZUSP 6389), Rio Apiacu, Departamento Loreto, Boris Malkin coll., 15-25.iv.1966. Brazil: male cl 37 mm, cw 52 m (MZUSP 19922), Amapá, Serra do Navio, Serra do Veado, Projeto Diversitas Neotropica, M. Tavares coll. 7.v.1994. 2 males, cl 57.7 mm, cw 42 mm and cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178), Amapá, Rio Jari, montante, Cachoeira Santo Antônio, M. Jegú & J. Zuanon coll., 9-26.vi.1981. 1 macho (INPA 583), Amapá, Serra do Navio/ Serra

do Veado, 07.v.1994. 1 macho (INPA 2125), Amapá, município de Laranjal, 16.i.2012. 1 macho (INPA 889), Amazonas, Manaus, Reserva do Km 41, 02°26'56"S, 59°46'13"W. 1 macho (INPA 368), Amazonas, Manaus, Reserva Ducke, 22.ii.1986. 1 macho (INPA 850), Amazonas, Manaus, 11.vii.2001. 1 macho (INPA 852), Amazonas, Iranduba, Sítio Anaíra, 03°10'39"S, 60°07'39"W, 12.ix.1999. 1 macho (INPA 1254), Pará, Santarém, Comunidade Santa Rosa. 1 macho (INPA 851), Pará, Rio do Peixe Boi, 01°11'30"S, 47°18'54"W, E. Matos and A. Henriques Jr coll., 03.iii.1995. 1 macho (INPA 1512), Pará, Bragança, Rio Chumucuí, S. Alves coll., 12.xi.2004. *Fredius denticulatus* (H. Milne Edwards, 1853): male cl 45 mm, cw 62 mm (MZUSP 16294), Rio Amapari, Serra do Navio, AP, Projeto Diversitas Neotropica, n°151, M. Tavares coll., 30.iv.1994, C. Magalhães det. 16.ii.1996.

**Type locality.** Sítio Caranguejo, Ipu, Ceará, 04°18'50"S, 40°44'47"W, 729 m.

Distribution. Only recorded from the type locality to date.

**Etymology.** The specific name is a noun in apposition taken from the Tupi language word for plateau, "yby'ababa", ibiapaba.

**Diagnosis.** G1 robust, proximal half remarkably swollen, sloping abruptly downwards anteriorly to a nearly right-angular shoulder; mesial lobe much smaller than cephalic spine; cephalic lobe moderately developed; auxiliary lobe lip, delimiting field of apical spines, protruded all the way to distal margin of auxiliary lobe.

**Description of the holotype.** Carapace transversally ovate (Figure 14A), widest at middle (cw/cl, 1.51); dorsal surface smooth, slightly convex, regions ill-defined. Gastric pits minute, very close to each other. Cervical grooves shallow, nearly straight, poorly indicated, distal ends reaching to anterolateral margin. Front deflexed, almost straight in dorsal view, entire, marked with row of very small papillae; front lower border carinate, with an almost indistinct sinus medially in frontal view; postfrontal lobules obsolete; median groove between postfrontal lobules faint. Upper orbital margin with row of very faint papillae; lower margin minutely denticulate; exorbital angle marked by obtuse tooth, followed posteriorly by faint notch. Carapace anterolateral margin semicircular in outline, fringed by minute denticles; posterolateral margins almost straight, strongly convergent, smooth. Epistomial margin with minute papillae; epistomial tooth broadly triangular, deflexed (Figure 14C). Suborbital and

subhepatic regions of carapace smooth; pterygostomial region densely pubescent around mouthparts (Figures 14B, C).

Figure 14- (A–D) *Fredius ibiapaba* n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (A–B) Habitus, dorso and ventral views, respectively. (C) Cephalothorax, frontal view. (D–E) Right and left chelipeds in lateral view, respectively. Scales: A–E, 10 mm.



Source: prepared by the author

Mxp3 palp slender, long, reaching slightly beyond articulation of merus and ischium when folded. Merus markedly operculiform. Posterior half of mesial margin of merus and mesial margin of ischium with conical teeth (Figure 14B). Exopod short, 0.28 times length of lateral margin of ischium, devoid of flagellum. Efferent branchial channel opening subcircular (Figure 14B).

Chelipeds moderately heterochelous, right cheliped larger than left one (Figure 14E, F). Major cheliped merus subtriangular in cross-section; lateral surface smooth, irregular row of small tubercles of different sizes along dorsal surface; with irregular longitudinal row of small tubercles; mesial surface smooth, slightly concave to fit lateral sides of carapace; mesial lower margin with row of conical teeth slightly increasing in size distally; lateral lower margin with row of small teeth. Carpus smooth dorsally; mesial margin with row of small, irregular teeth and strong, acute spine about midlength of margin. Palm moderately swollen, smooth on lateral and mesial sides, with minute papillae on dorsal and ventral rounded faces. Dactylus

regenerated. Cutting margin of dactylus and fixed finger both with larger teeth interspersed with smaller ones. Fingers not gaping when closed, tips not crossing. Minor cheliped similar in shape.

Thoracic sternal suture 2/3 complete, distinct; sternal suture 3/4 interrupted, visible only laterally (Figure 14B); sternal sutures 4/5 and 5/6 interrupted, ending just before reaching midline of thoracic sternum; sternal sutures 6/7 and 7/8 complete. Midline of thoracic sternum deeply incised in sternites VII and VIII.

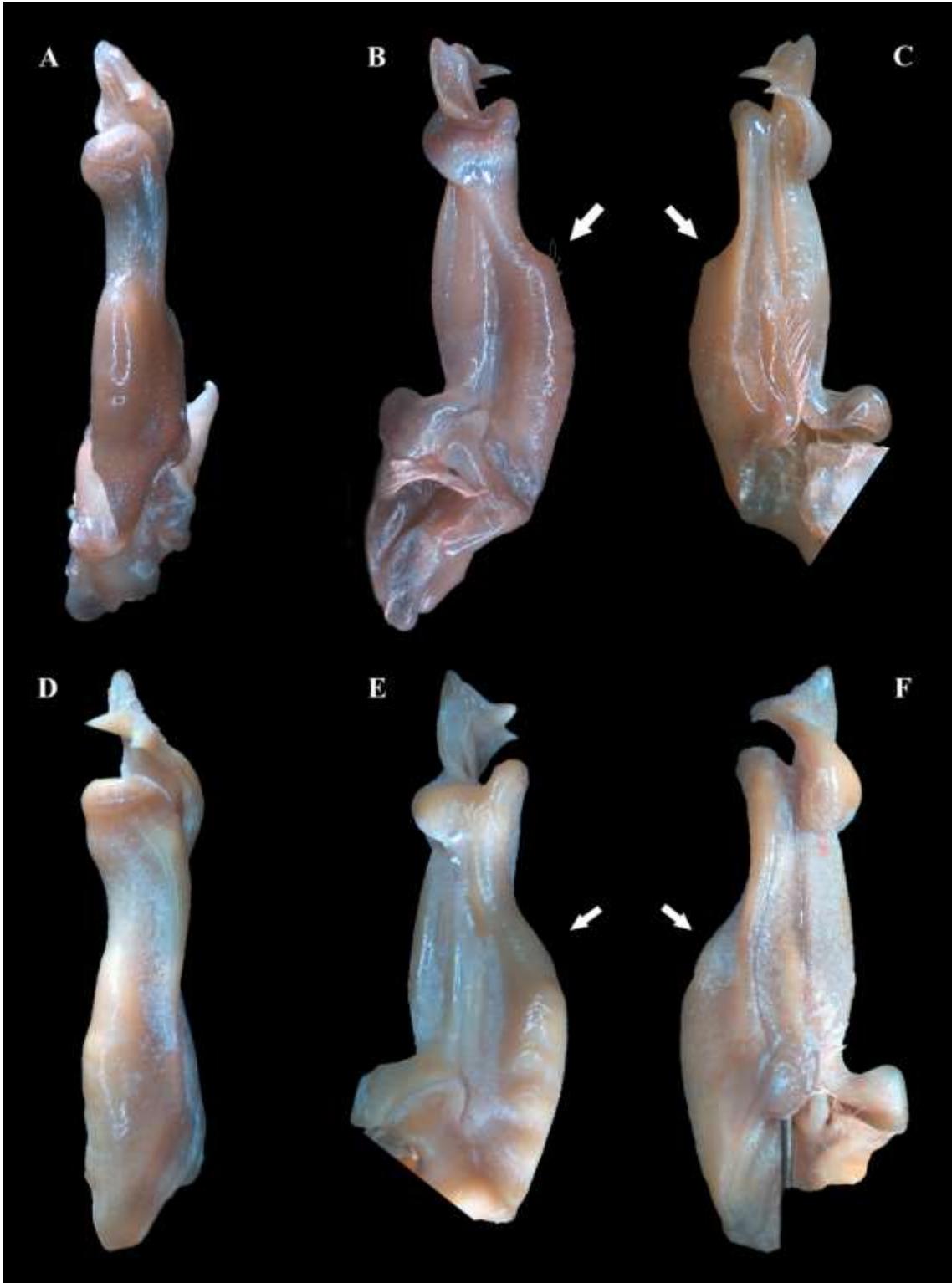
All abdominal segments free. Lateral margins of male telson slightly concave, tip rounded (Figure 14B).

G1 robust, proximal half remarkably swollen, sloping abruptly downwards anteriorly to a nearly right-angular shoulder (Figure 15B, C). Subapical bulge moderately developed around lateral and sternal sides (Figures 15B; 16A, B; 17A). Marginal suture straight (Figure 15C). Marginal lobe truncate, projected distally beyond abdominal surface, junction marked by distinct depression. Mesial lobe much smaller than cephalic spine, showing as triangular, acute spine, pointing to abdominal direction (Figures 15A, C, 16B; C; 17A, C). Cephalic spine very strong, acuminate at tip, pointing in mesial direction (Figures 15A–C, 16B; C; 17A–C). Cephalic lobe prominent, truncate, tip rounded, with several very small spines along lateral, mesial and sternal sides (Figures 15A, B; 17A, B). Auxiliary lobe much shorter than cephalic lobe in abdominal view, separated from it by distinct depression, their junction forming lateral channel running distally in almost straight direction before ending in inward curve subterminally (Figures 15A; 17A). Field of apical spines large, open, flattened, elongated, ear-shaped, provided with small spinules, delimited by lateral and abdominal lips of apex (Figures 15A, B; 16B; 6A, B).

G2 slightly longer than G1 when abdomen folded beneath cephalothorax; very slender, tapering distally progressively, distal part moderately flattened, with rather dense, minute spinules along sternal side.

**Remarks.** *Fredius ibiapaba* n. sp. is herein assigned to the genus *Fredius*, whose diagnostic characters (RODRIGUEZ, 1982; RODRIGUEZ; PEREIRA, 1992) are readily recognized in the new species, namely, exopod of mxp3 short, about 0.3 times length of outer margin of ischium. G1 widest at base (Figure 15B, C); marginal lobe simple, ending in an inverted cup-shaped elongation at base of field of apical spines; subapical bulge covering lateral and sternal sides; field of apical spines large, open, flattened, ear-shaped, with small scattered spinules at proximal sternal border (Figures 15A–C; 16B; 17A, B).

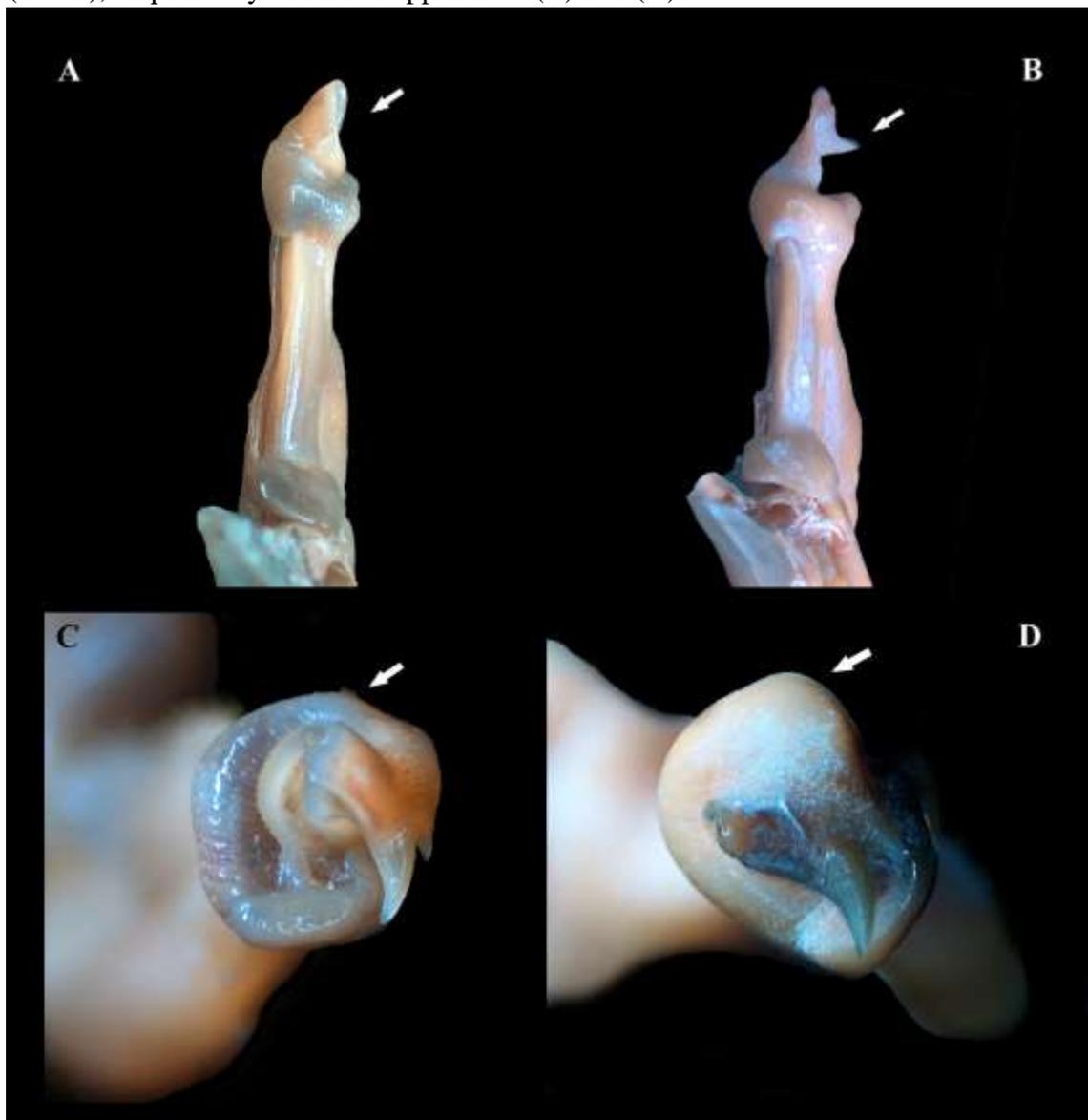
Figure 15- (A–F) First right male gonopod (G1) in abdominal (tilted left), lateral and mesial views from A–C and D–F, respectively. (A–C) *Fredius ibiapaba* n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (D–F) *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897), male cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178). Note in (B, C) the G1 remarkably swollen, sloping abruptly downwards anteriorly to a nearly right-angular shoulder (arrow), and in (E, F) the G1 shoulder clearly more gently sloping distally (arrow).



Source: prepared by the author

The new species morphologically resembles *Fredius denticulatus*, *F. fittkaui*, *F. reflexifrons* and *F. ykaa* in that the gonopod cephalic spine is much more developed than the mesial lobe (see MAGALHÃES; RODRIGUEZ, 2002: 679, fig. 1; 683, fig. 2, respectively; RODRIGUEZ; CAMPOS, 1998: 766, fig. 2O, P) (Figure 15A, C; 16B; 17A, C), whereas other species either have the gonopod cephalic spine little larger than the mesial lobe (*F. stenolobus* and *F. adpressus*), or have it much shorter than the mesial lobe (e.g., *F. buritizalis*, *F. platyacanthus*, and *F. estevi*), or have the cephalic spine and the mesial lobe similar in size (e.g., *F. granulatus*, *F. chaffanjoni* (see MAGALHÃES *et al.*, 2014 and references therein).

Figure 16- (A–D) First right male gonopod (G1) in sternal and apical views from A to B and C to D, respectively. (A, C) *Fredius ibiapaba* n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (B, D) *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897), male cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178). Note in (A) and (C) the G1 apex much less tilted so that the mesial lobe is not visible in sternal view (arrow), and the subapical bulge markedly less swollen (arrow), respectively. Note the opposite in (B) and (D).



Source: prepared by the author

*Fredius ibiapaba* n. sp. stands apart from *Fredius denticulatus*, *F. fittkaui*, *F. reflexifrons* and *F. ykaa* in having the G1 proximal half remarkably swollen on the abdominal side, sloping abruptly downwards anteriorly to a nearly right-angular shoulder (Figures 15B, C), whereas in the latter four species the G1 shoulder is clearly more gently sloping distally (Figure 15E, F).

Figure 17- (A–H) First right male gonopod (G1) in sternal, lateral, mesial, and abdominal views from A–D and E–H, respectively. (A–D) *Fredius ibiapaba* n. sp., male cl 36 mm, cw 53mm (MZUSP 39710). (E–H) *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897), male cl 73.8 mm, cw 53 mm (MZUSP 13178).



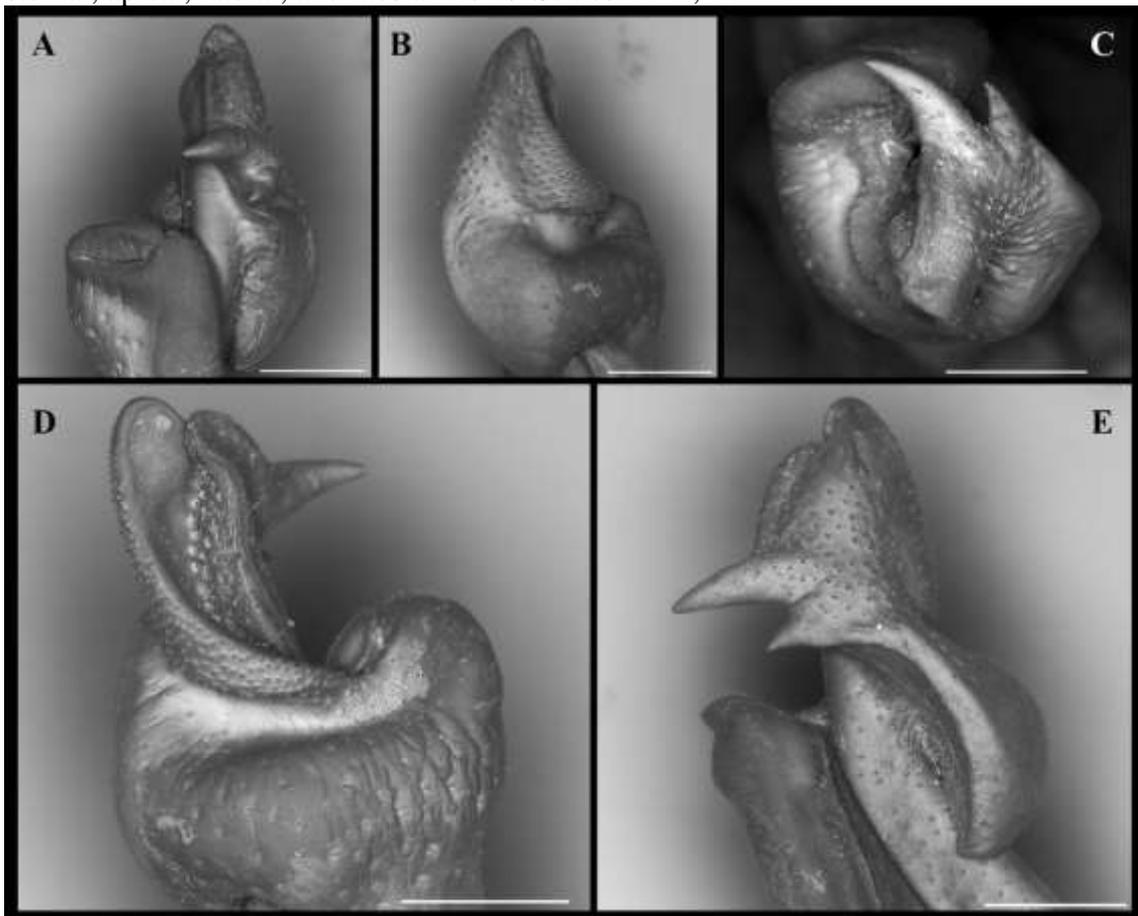
Source: prepared by the author

The closest morphological resemblance of *Fredius ibiapaba* n. sp. is with *F. reflexifrons* of which it additionally differs (1) in having the auxiliary lobe lip, delimiting the field of apical spines, protruded all the way to the distal margin of the auxiliary lobe (Figure 15A, B), whereas in *F. reflexifrons* the lip fades away well before reaching the distal margin of the lobe (Figure 15D, E); and (2) the subapical bulge markedly less swollen (Figures 16A, C) and the G1 apex

much less tilted so that the mesial lobe is not visible in sternal view (Figure 16A), in contrast to *F. reflexifrons* (Figures 16B, D, respectively). Also, in *F. ibiapaba* n. sp. the cephalic lobe is truncate (Figure 15A, 17A), whereas in *F. reflexifrons* it tapers progressively to a distinct narrower tip (Figure 15D, 17D).

*Fredius ibiapaba* n. sp. further differs from *F. ykaa* in that the G1 shoulder is high and robust (Figures 15B, C), whilst in *F. ykaa* the G1 shoulder is remarkably lower; it can be easily further differentiated from *F. denticulatus* in that its G1 caudal lobe lacks a field of spines spirally twisted to a transverse position (viz., RODRIGUEZ; CAMPOS, 1998) and from *F. fittkaui* in having the G1 cephalic spine straight and sharply acuminate, whereas in *F. fittkaui* it is curved and round tipped.

Figure 18- (A–E) *Fredius ibiapaba* n. sp., paratype, male cl 41.2 mm, cw 62.6 mm (MZUSP 39742). Scanning electron microscopy of the first right male gonopod in mesial (tilted right), sternal, apical, lateral, and mesial views. Scales: A–E, 1 mm.



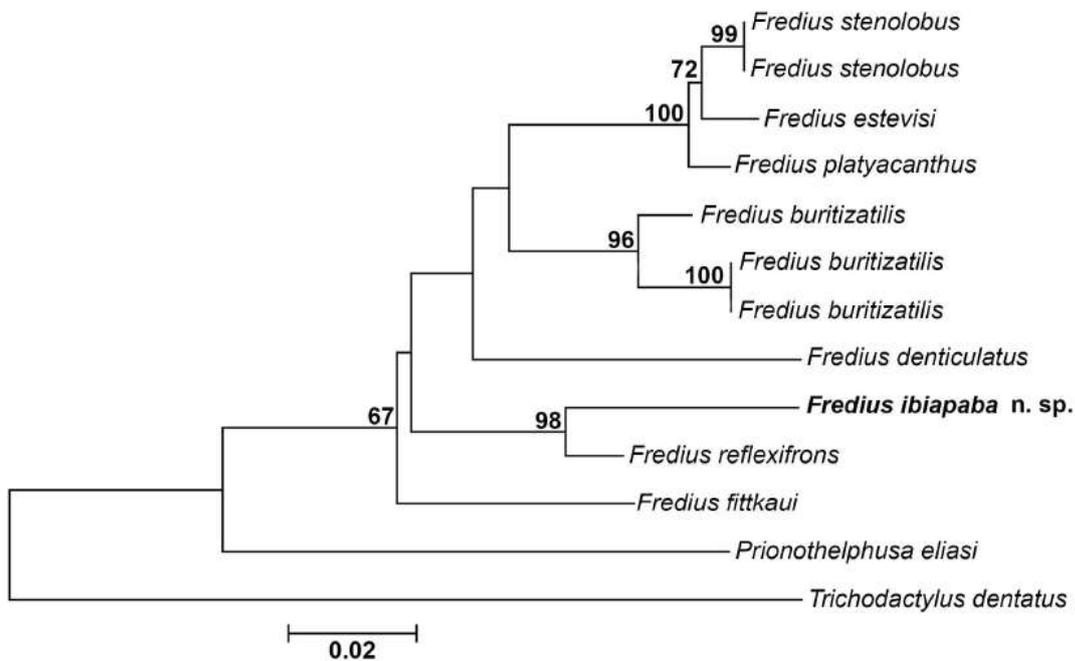
Source: prepared by the author

## 5.4 Discussion

### 5.4.1 Phylogenetic analysis

The mitochondrial loci 16S was successfully amplified and sequenced for *Fredius buritizalis*, *F. ibiapaba* n. sp., and *Prionothelphusa eliasi*. Additional sequences used were retrieved from GenBank (Table 8). Bootstrap support values are shown on nodes of the phylogenetic tree (Figure 19). *Fredius ibiapaba* n. sp. is very well supported (98) as a sister to *F. reflexifrons* reflecting the close morphological resemblance between the two species.

Figure 19- Phylogeny inferred from the partial mitochondrial DNA sequence of the 16S rDNA gene. Note the sister taxon relationship between *Fredius ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897).



Source: prepared by the author

The divergence rates between *Fredius reflexifrons* and *F. ibiapaba* n. sp. (4%) is higher than between *F. estevisi* x *F. stenolobus*, *F. platyacanthus* x *F. stenolobus* and *F. platyacanthus* x *F. estevisi* all with of 2% of divergence (Table 2). Morphology and molecular data hence provide evidences for the differentiation between *F. ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons*.

A survey of the pseudothelphusids described from 1840 to 2004 (YEO *et al.*, 2008) showed that the curve of described species is still far from being asymptotic. And indeed, new species are still being discovered either by collecting in new biomes (e.g., *F. buritizalis* from a palm swamp known as "buritizal"), or by revisiting the taxonomy of widely disjunct species for testing as to their conspecific status, such as *F. ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons*.

#### 5.4.2 Zoogeographical notes

*Fredius* currently consists of 16 species (Table 9), distributed over a vast territory, which encompass five main river basins (RODRIGUEZ; CAMPOS, 1998; MAGALHÃES *et al.*, 2014): (1) the Orinoco River basin; (2) the Essequibo-Cuyuni River basin; (3) the Amazon River basin; (4) the Madeira River basin and its tributary (Machado River); and (5) the Atlantic rivers basin, a coastal drainage of small rivers in northern South American (Guyana, Suriname and French Guiana) discharging directly into the Atlantic Ocean.

Rodriguez & Pereira (1992) performed a cladistic analysis of *Fredius* and suggested that *F. reflexifrons* and *F. adpressus* were sister species. The purported clade *F. reflexifrons*/*F. adpressus* was presumably supported by three putative synapomorphies: (1) [G1] mesial lobe attached to back of auricular lobe; (2) basal denticle of mesial lobe present; and (3) subapical bulge well developed.

Later, however, Rodriguez & Campos (1998) reviewed the previous data and performed a new analysis in which they decided that character 1 (mesial lobe attached to back of auricular lobe) was no longer tenable and hence was eliminated from the new analysis. They also realized that the basal denticle of the mesial lobe was indeed present in *F. adpressus* (character 2), but was absent in all other *Fredius* species. They further concluded that the subapical bulge was actually "reduced" in *F. adpressus* and "strongly developed" in *F. granulatus*, *F. reflexifrons*, *F. fittkauii*, and *F. denticulatus*, so that these latter two characters were also removed from the new analysis. Therefore, the putative sister taxon relationship between *F. reflexifrons* and *F. adpressus* dissolved. Rodriguez & Campos (1998) put forward, instead, the hypothesis that *F. reflexifrons* was sister to *F. fittkauii*, not to *F. adpressus*, based on the assumption that *F. reflexifrons* and *F. fittkauii* synapomorphically share the cephalic lobe distal margin armed with several spinules. However, as found here, this character is more widely distributed being also found in *F. ibiapaba* n. sp. and, therefore, cannot be used to argue for the sister taxon relationship between *F. reflexifrons* and *F. fittkauii*.

The discovery of *F. ibiapaba* n. sp. revealed that it is actually the sister group of *F. reflexifrons*, as shown by a comparative 16S rDNA sequencing used to infer the phylogenetic placement of *Fredius ibiapaba* n. sp. (Figure 19). The distribution range of

Table 9- Geographic and altitudinal distributions for the species of *Fredius* Pretzmann, 1967.

Species	Locality (Country)	Tipo de ambiente	Altitude (m)	Reference
<i>F. ykaa</i> Magalhães, 2009	Brazil	Lowland streams	36 to 73	Magalhães, 2009
<i>F. adpressus</i> Rodriguez & Pereira, 1992	Venezuela	Lowland streams	100	Rodriguez & Pereira, 1992
<i>F. beccarii</i> (Coifmann, 1939)	Brazil, Guyana, Venezuela, Suriname	Streams Igarapés	50 to 752	Rodríguez & Campos, 1998; Cumberlidge et al., 2014; Mora-Day et al., 2009; Magalhães et al., 2014; Zanetti et al. 2018
<i>F. buritizatis</i> Magalhães & Mantelatto, 2014	Brazil	Buritizal (palm) field	150	Magalhães et al., 2014
<i>F. chaffanjonii</i> (Rathbun, 1905)	Venezuela	River's headwaters and midcourses	105-300	Rodriguez & Pereira, 1992
<i>F. convexa</i> (Rathbun, 1898)	Costa Rica	Streams	770	Smalley, 1964
<i>F. cuaoensis</i> Suarez, 2015	Venezuela	Highland streams	950	Suárez, 2015
<i>F. denticulatus</i> (H. Milne Edwards, 1853)	Brazil, Suriname, French Guiana	Streams (igarapés) and along river margins	70 to 400	Rodriguez & Pereira, 1992; Rodríguez & Campos, 1998; Magalhães et al., 2005; Magalhães, 2009; Cumberlidge et al., 2014; Magalhães et al., 2014
<i>F. estevisi</i> (Rodríguez, 1966)	Brazil, Venezuela	River's headwaters and streams	446 to 944	Mora-Day et al., 2009
<i>F. fittkaui</i> (Bott, 1967)	Brazil, Venezuela, Guyana	Streams (Igarapés) and along river margins	151 to 500	Rodríguez & Campos, 1998; Magalhães & Rodriguez, 2002; Cumberlidge et al., 2014; Magalhães et al., 2014; Zanetti et al., 2018
<i>F. granulatus</i> Rodriguez & Campos 1998	Colombia	Lowlands	180 to 200	Rodríguez & Campos, 1998; Cumberlidge et al., 2014; Zanetti et al., 2018;

<i>F. platyacanthus</i> Rodríguez & Pereira, 1992	Brazil, Venezuela	Streams (igarapés) and mountain areas	106 to 1229	Rodríguez & Pereira, 1992; Cumberlidge et al., 2014; Magalhães et al., 2014; Zanetti et al., 2018
<i>F. reflexifrons</i> (Ortmann, 1897)	Brazil, Venezuela, Suriname, French Guaiana, Peru, Guyana	Lowland streams	37 to 200	Magalhães, 1986; Magalhães & Rodríguez, 2002; Magalhães et al., 2005; Cumberlidge et al., 2014
<i>F. stenolobus</i> Rodríguez & Suárez, 1994	Brazil, Venezuela	Streams in rocky areas	65 to 1020	Rodríguez & Campos, 1998; Magalhães & Pereira, 2007; Cumberlidge et al., 2014; Magalhães et al., 2014; Zanetti et al., 2018
<i>Fredius ibiapaba n. sp.</i>	Brazil (Orographic forest enclaves)	Burrows among the leaf litter, alongside little streams and water ponds inside forest stands or directly on the humid forest floor	665 to 782	Present study

---

Source: prepared by the author

*Fredius ibiapaba* n. sp. is very narrow and currently restricted to a humid enclave, a small mid-altitude forested patch in Ipu (Ceará, northeastern Brazil, Figure 12A–E), nested within the vast semiarid Caatinga domain (Figure 12F, G). The orographic forest enclaves, such as Ipu, are typically located along the slopes of plateaus, between 600 and 1100 m, hence high enough to receive rainfall of more than 1200 mm year<sup>-1</sup> of Atlantic origin (Tabarelli et al., 2004 and references therein). These enclaves are regionally known as "Brejos" (or "Brejos de altitude" or even "Brejos nordestinos") (ANDRADE-LIMA, 1982; SILVA; CASTELETTI, 2003; TABARELLI; SANTOS, 2004). *Fredius ibiapaba* n. sp. inhabits the mid-highlands of the Ibiapaba plateau, between about 635 to 782 m, where it digs burrows among the leaf litter, alongside little streams and water ponds inside forest stands or directly on the humid forest floor (Figure 12E).

In contrast, *F. reflexifrons* is widely distributed in the Amazon basin's lowlands (< 100 m) from as far west as Peru (Ampyiacu River, a tributary of the Amazonas River) to as far east as the Atlantic basin (French Guiana) (MAGALHÃES, 2003). It is found in burrows alongside the "igarapés" (streams) or digs its burrows on the humid forest floor (MAGALHÃES; RODRIGUEZ, 2002).

*Fredius ibiapaba* n. sp. and *F. reflexifrons* are highly dependent upon humidity and most probably were once part of an ancestral population living in a wide humid territory. The shrinking humid forests during several dry periods of the Tertiary and Quaternary (KATZER, 1933; ANDRADE-LIMA, 1953; BIGARELLA; ANDRADE-LIMA; RIEHS, 1975; AB'SABER, 1977; BIGARELLA, ANDRADE-LIMA, 1982; CLAPPERTON, 1993; THOMAS, 2000; HAFFER, 2001; HAFFER; PRANCE, 2002) likely have resulted in the fragmentation of the ancestral humid area and hence of the ancestral crab population, which was split into two species. *Fredius reflexifrons* evolved and spread in a lowland, humid river basin and is now widely distributed, whilst *F. ibiapaba* n. sp. evolved isolated on the top of a humid plateau (Figure 12A–E). The two species are now separated by a vast intervening area occupied by the semiarid Caatinga (Figure 12F, G).

The expansion and shrinkage of mountain, floodplain, and gallery forests, associated to complex topography are known to have affected flora and fauna (VANZOLINI, 1970; VANZOLINI; WILLIAMS, 1970; VUILLEUMIER, 1971; ANDRADE-LIMA, 1982; TEIXEIRA; NACINOVIC; TAVARES, 1986; HAFFER, 1969; 2001; HAFFER; PRANCE, 2002; SANTOS *et al.*, 2007; LEITE *et al.*, 2016).

Andrade-Lima (1982) provided a number of examples of plant species that are now confined to the Brejos, isolated from the surrounding, widely distributed Caatinga. He found

two floristic components in these refuges on the top of hills, one whose species and genera are mostly originary from the southeastern flora, lies further inland in the states of Alagoas and Rio Grande do Norte; and a second one in the humid mid highlands closer to the coast, especially between Pernambuco and the border of Ceará and Piauí states (referred to as the Pernambuco Centre by Santos et al., 2007), in which the Amazonian flora are better represented (ANDRADE-LIMA, 1982). Santos et al. (2007) found strong bootstrap support for a close floristic relationship between the Pernambuco Centre and Amazonian localities.

It has long been known that a number of freshwater fish species inhabiting the Brejos have their closest relationships with the Amazonian Basin (GÉRY, 1969; PAIVA, 1978; WEITZMAN; WEITZMAN, 1982; PLOEG, 1991; VARI, 1991; MENEZES, 1996; ROSA; GROTH, 2004). More recently, Pinheiro & Santana (2016) described a new species of freshwater crab genus *Kingsleya* Ortmann, 1897 (also a Pseudothelphusidae), from a Brejo about 750 m in Arajara, district Ceará. Previously to their discovery *Kingsleya* was known from nine species inhabiting the Amazonian lowlands (PEDRAZA; TAVARES, 2015).

### **Acknowledgements**

We are thankful to Célio Magalhães (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) and Rafael Lemaitre (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution) for granting access to their respective collections. We are in debt with Waltécio de Oliveira Almeida (Universidade Regional do Cariri) for providing access to optical equipment and laboratory space and to Jessica Colavite (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”) for the help during figure preparations. We also thank the Universidade Federal do Ceará (UFC) and Universidade Regional do Cariri (URCA), Universidade do Sagrado Coração (USC) and MZUSP for the logistic support. This study was partially financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

### **REFERENCES**

- AB'SABER, A. N. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. **Paleoclimas**, n. 3, p. 1-19, 1997
- AB'SABER, A. N. Spaces occupied by the expansion of bry climates in South America during the Quaternary ice ages. **Revista do Instituto Geológico**, v. 21, n.1-2, p. 71-78, 2000.
- ANDRADE-LIMA, D. D. Notas sobre a dispersão de algumas espécies vegetais no Brasil. **Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco**, v. 11, n.1, p. 25-49, 1953.

ANDRADE-LIMA, D. Present-day forest refuges in northeastern Brazil. **Biological diversification in the tropics**, v. 245, p. 251, 1982.

ADRIAN QUIJADA-MASCAREÑAS, J. *et al.* Phylogeographic patterns of trans-Amazonian vicariants and Amazonian biogeography: the Neotropical rattlesnake (*Crotalus durissus complex*) as an example. **Journal of biogeography**, v. 34, n. 8, p. 1296-1312, 2007.

AULER, A. S. *et al.* Quaternary ecological and geomorphic changes associated with rainfall events in presently semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Quaternary Science**, v. 19, n. 7, p. 693-701, 2004.

BEHLING, H. *et al.* Late Quaternary vegetational and climate dynamics in northeastern Brazil, inferences from marine core GeoB 3104-1. **Quaternary Science Reviews**, v. 19, n. 10, p. 981-994, 2000.

BIGARELLA, J. J. *et al.* Paleoenvironmental changes in Brazil. **Biological diversification in the tropics**, p. 27-40, 1982.

BIGARELLA, J. J.; ANDRADE-LIMA, D.; RIEHS, P. J. Considerações a respeito das mudanças paleoambientais na distribuição de algumas espécies vegetais e animais no Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 47, p. 411-464, 1975.

CARMIGNOTTO, A. P.; VIVO, M.; LANGGUTH, A. Mammals of the Cerrado and Caatinga: distribution patterns of the tropical open biomes of Central South America. **Bones, clones and biomes. The history and geography of recent Neotropical mammals (BD Patterson and LP Costa, eds.)**. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, p. 307-350, 2012.

CARNAVAL, A. C.; BATES, J. M. Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in northeastern Brazil. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, v. 61, n.12, p. 2942-2957, 2007.

CARNAVAL, A. C. *et al.* Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. **Science**, v. 323, n. 5915, p. 785-789, 2009.

CARTELLE, C.; HARTWIG, W. C. A new extinct primate among the Pleistocene megafauna of Bahia, Brazil. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 13, p. 6405-6409, 1996.

CLAPPERTON, C. M. Nature of environmental changes in South America at the Last Glacial Maximum. **Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology**, v. 101, n. 3-4, p. 189-208, 1993.

CUMBERLIDGE, N.; ALVAREZ, F.; VILLALOBOS, J. L. Results of the global conservation assessment of the freshwater crabs (Brachyura, Pseudothelphusidae and Trichodactylidae): The Neotropical region, with an update on diversity. **ZooKeys**, n. 457, p. 133, 2014.

DARRIBA, D. *et al.* jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature methods**, v. 9, n. 8, p. 772-772, 2012.

DE OLIVEIRA, P. E.; BARRETO, A. M. F.; SUGUIO, K. Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetational history of the Brazilian caatinga: the fossil dunes of the middle São Francisco River. **Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology**, v. 152, n. 3-4, p. 319-337, 1999.

DE VIVO, M. Mammalian evidence of historical change in the Caatinga semiarid vegetation of northeastern Brazil. **Journal of Comparative Biology**, v. 2, n. 1, p. 65-73, 1997.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **evolution**, v. 39, n. 4, p. 783-791, 1985.

GARZÓN-ORDUÑA, I. J.; BENETTI-LONGHINI, J. E.; BROWER, A. V. Timing the diversification of the Amazonian biota: butterfly divergences are consistent with Pleistocene refugia. **Journal of biogeography**, v. 41, n.9, p. 1631-1638, 2014.

GÉRY, J. The fresh-water fishes of South America. **Biogeography and ecology in South America**, 1969.

HAFFER, J. Speciation in Amazonian Forest Birds: Most species probably originated in forest refuges during dry climatic periods. **Science**, v. 165, n. 3889, p. 131-137, 1969.

HAFFER, J. 2001. Hypotheses to explain the origin of species in Amazônia, p. 45–118, 2001. In: VIEIRA, I.C.; SILVA, J.M.C.; OREN, D.C.; D'INCAO, M.A. (orgs) **Diversidade biológica e cultural da Amazônia. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi**, 421 p.

HAFFER, J.; PRANCE, G. T. Impulsos climáticos da evolução na Amazônia durante o Cenozóico: sobre a teoria dos Refúgios da diferenciação biótica. **Estudos avançados**, v. 16, n. 46, p. 175-206, 2002.

HALL, T. BioEdit: biological sequence alignment editor for Win95/98/NT/2K/XP. **URL** <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>, 2005.

HEWITT, G. M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1442, p. 183-195, 2004.

JANSSON, R.; DYNESIUS, M. The fate of clades in a world of recurrent climatic change: Milankovitch oscillations and evolution. **Annual review of ecology and systematics**, v. 33, n. 1, p. 741-777, 2002.

KATZER, F. Geologia do Estado do Pará: Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi de História Natural e Etnografia, v. 9. **Tradução frei Hugo Mense, do original alemão: Katzer, F**, p. 1-269, 1933.

LEITE, Y.L. R. *et al.* Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 4, p. 1008-1013, 2016.

- MAGALHÃES, C. Revisão taxonômica dos caranguejos de água doce brasileiros da família Pseudothelphusidae (Crustacea, Decapoda). **Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas**, v. 9, n. 4, p. 609-636, 1986.
- MAGALHÃES C. Famílias Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. In: MELO, G.A.S.(Ed.), **Manual de Identificação dos Crustáceos Decápodos de Água Doce Brasileiros**, São Paulo: Editora Loyola, p.143-287, 2003.
- MAGALHÃES, C. A new species of freshwater crab of the genus *Fredius* Pretzmann, 1967 from the middle Amazon River basin, Brazil (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 122, n. 1, p. 81-86, 2009.
- MAGALHÃES, C.; RODRÍGUEZ, G. Situação sistemática e biogeográfica de *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) e *Fredius fittkau* (Bott, 1967)(Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae) das bacias do rio Amazonas e dos rios costeiros das Guianas. **Acta Amazonica**, v. 32, n. 4, p. 677-677, 2002.
- MAGALHÃES, C. *et al.* New records of *Fredius denticulatus* (H. Milne-Edwards, 1853) and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897), and the eastern limits of the distribution of pseudothelphusid crabs (Crustacea: Decapoda) in Brazil. **Acta Amazonica**, v. 35, p. 93-96, 2005.
- MAGALHÃES, C.; PEREIRA, G. Assessment of the decapod crustacean diversity in the Guayana Shield region aiming at conservation decisions. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 0-0, 2007.
- MAGALHÃES, C. *et al.* Morphological and molecular characterization of a new species of *Fredius* (Decapoda, Pseudothelphusidae) from Rondônia, southern Amazonia, Brazil. In: **Advances in freshwater decapod systematics and biology**. Brill, 2014. p. 101-114.
- MENEZES, N. A. Methods for assessing freshwater fish diversity. **Biodiversity in Brazil (CEM Bicudo & NA Menezes, eds.)**. CNPq, São Paulo, p. 289-295, 1996.
- MORA-DAY, J. *et al.* Lista Sistemática de los macroinvertebrados Colectados Durante el RAP Alto Cuyuní 2008, Estado Bolívar, Venezuela. In: **Evaluación Rápida de la Biodiversidad de los Ecosistemas Acuáticos de la Cuenca Alta del Río Cuyuní, Guayana Venezolana**. Washington, DC: Conservation International, 2009. p. 196.
- PAIVA, M. P. A ictiofauna das grandes represas brasileiras. **Revista Dae**, v. 38, n. 116, p. 49-57, 1978.
- PALUMBI, S. R. *et al.* The simple fool's guide to PCR, version 2.0. **University of Hawaii, Honolulu**, v. 45, 1991.
- PEDRAZA, M.; TAVARES, M. A new species of freshwater crab of the genus *Kingsleya* Ortmann, 1897 (Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae) from Amazonia, Brazil. **Zootaxa**, v. 4032, n. 4, p. 444-450, 2015.

PINHEIRO, A. P.; SANTANA, W. R. A. A new and endangered species of *Kingsleya* Ortman, 1897 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae) from Ceará, northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 4171, n. 2, p. 365-372, 2016.

PLOEG, A. **Revision of the South American cichlid genus *Crenicichla* Heckel, 1840, with descriptions of fifteen new species groups, phylogeny and biogeography (Pisces, Perciformes, Cichlidae)**. Doctoral dissertation, PhD Thesis, Universiteit van Amsterdam, Netherland. 1991.

RODRIGUEZ, G. **Les crabes d'eau douce d'Amerique: Famille des Pseudothelphusidae**. IRD Editions, 1982.

RODRÍGUEZ, G.; MAGALHAES, C. Recent advances in the biology of the Neotropical freshwater crab family Pseudothelphusidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura). **Revista brasileira de Zoologia**, v. 22, p. 354-365, 2005.

RODRIGUEZ, G.; PEREIRA, G. New species, cladistic relationships, and biogeography of the genus *Fredius* (Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae) from South America. **Journal of Crustacean Biology**, v. 12, n. 2, p. 298-311, 1992.

RODRÍGUEZ, G.; CAMPOS, M. R. A cladistic revision of the genus *Fredius* (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) and its significance to the biogeography of the Guianan lowlands of South America. **Journal of Natural History**, v. 32, n. 5, p. 763-775, 1998.

ROSA, R. S.; GROTH, F. Ictiofauna dos ecossistemas de brejos de altitude de Pernambuco e Paraíba. **Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba: História Natural, Ecologia e Conservação. Série Biodiversidade**, v. 9, p. 201-210, 2004.

SANTOS, A. M. M. *et al.* Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. **Journal of biogeography**, v. 34, n. 3, p. 437-446, 2007.

SILVA, J. M. C.; CASTELETI, C. H. M. **Status of the Biodiversity of the Atlantic Forest of Brazil. the atlantic forest of south america: biodiversity status, threats, and outlook- CABS and Island Press**. 2003.

SOBRAL-SOUZA, T.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; SOLFERINI, V. N. Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. **Evolutionary Ecology**, v. 29, n. 5, p. 643-655, 2015.

SMALLEY, A. E. The river crabs of Costa Rica, and the subfamilies of the Pseudothelphusidae. **Tulane studies in Zoology**, v. 12, n. 1, p. 5-13, 1964.

SUÁREZ, H.. Six new species of freshwater crabs from Pantepui, Venezuela (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae). **Anartia**, v. 25, p. 64-94, 2015.

TABARELLI, M.; SANTOS, A. M. M.. Uma breve descrição sobre a história natural dos brejos nordestinos. **Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba, História Natural, Ecologia e Conservação**, v. 9, p. 17-24, 2004.

TAMURA, K. *et al.* MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.  
doi:10.1093/molbev/mst197

TEIXEIRA, D.M.; NACINOVIC, J.B.; TAVARES, M.S. Notes on some birds of northeastern Brazil. **Bulletin of the British Ornithologists' Club**, v. 106, n. p. 70–74, 1986.

THOMAS, M. F. Late Quaternary environmental changes and the alluvial record in humid tropical environments. **Quaternary International**, v. 72, n. 1, p. 23-36, 2000.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic acids research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

VANZOLINI, P. E. Zoologia sistemática, geografia e a origem das espécies. In: **Zoologia sistemática, geografia e a origem das espécies**, 56p. 1970.

VANZOLINI, P. E.; WILLIAMS, E. E. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 19, n. 3-4, p. 125-298, 1970.

VARI, R. P. Systematics of the neotropical characiform genus *Steindachnerina* Fowler (Pisces: Ostariophysi). **Smithsonian Contributions to Zoology**, v. 507, p. 1-118, 1991.

VUILLEUMIER, B. S. Pleistocene changes in the fauna and flora of South. **America. Science**, v.173, n. 3999, p. 771-780, 1971.

WEITZMAN, S.H.; WEITZMAN, M. Biogeography and evolutionary diversification in the Neotropical freshwater fishes, with comments on the refuge theory. Pp. 403-422, in: Prance, G.T. (ed.) *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, New York, 1982.

XIA, X. DAMBE5: a comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n.7, p. 1720-1728, 2013.

WoRMS (2019). *Fredius cuyunis* (Pretzmann, 1967). Accessed at:  
<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=881659> on 2019-11-19

ZANETTI, F.; CASTRO, P. M.; MAGALHÃES, Célio. Freshwater crabs (Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae, Trichodactylidae) from the state of Roraima, Brazil: species composition, distribution and new records. **Nauplius**, v. 26, 2018.

## 6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de sua ampla distribuição, principalmente na bacia Amazônica (MAGALHÃES, 2016), os aspectos biológicos e ecológicos dos caranguejos de água doce ainda são pouco conhecidos. O isolamento da população de caranguejo de água doce na Serra da Ibiapaba, mostra o quanto esses organismos são importantes para reconstruir histórias biogeográficas, entre a Amazônia e Floresta Atlântica as quais são detentoras de uma grande diversidade.

Nossos resultados mostram que mesmo isolados nesses “áreas-refúgio”, esses organismos, ao longo do tempo, conseguiram se adaptar a esses ambientes, como refletido na estrutura da população. Além do mais, esse isolamento no Platô úmido da Ibiapaba, levou a modificações no gonópodo, o que afirma, de fato, que o isolamento nesse relicto de floresta úmida levou ao processo de especiação. Por outro lado, por possuírem áreas restrita de distribuição na Serra da Ibiapaba, carecem de medidas efetivas de conservação, uma vez que protegendo efetivamente as áreas de ocorrência desses caranguejos, os corpos d’água e o relicto de vegetação natural também serão preservados, evitando assim, a extinção dessas subpopulações.

Outra faceta importante a ser analisada seria como essa população está estruturada geneticamente, afim de detectar possível problemas relacionados a depressão endogâmica. Bem como traçar efetivamente sua rota de dispersão, associando dados moleculares a dados paleoclimáticos. Qual seria o “time” correto da dispersão desses organismos cujo ancestral é oriundo da bacia Amazônica?

## REFERÊNCIAS

- AB'SÁBER, A. N. Sertões e sertanejos: uma geografia humana sofrida. **Estudos avançados**, v. 13, n. 36, p. 7-59, 1999.
- ADAMS, D. C.; ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. **Hystrix**, v. 24, n. 1, p. 7, 2013.
- ANDRADE, G. O.; LINS, R. C. Introdução ao estudo dos brejos pernambucanos. **Arquivos do Instituto de Ciências da Terra**, v. 2, p. 21-34, 1964.
- ANDRADE-LIMA, D. de. Present-day forest refuges in northeastern Brazil. **Biological diversification in the tropics**, v. 245, p. 251, 1982.
- AULER, A. S. *et al.* Palaeoenvironments in Semi-Arid Northeastern Brazil inferred from high precision mass spectrometric 230th speleothem and travertine ages and the dynamics of South American rainforests. **Trans-KARST 2004**, p. 12, 2004.
- BATALHA-FILHO, H. *et al.* Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. **Journal of Ornithology**, v. 154, n. 1, p. 41-50, 2013.
- BATALHA-FILHO, H.; MIYAKI, C. Y. Processos evolutivos na Amazônia e na Mata Atlântica. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 3, n. 2, p. 34-44, 2014.
- BATALHA-FILHO, H.; MIYAKI, C. Y. Late Pleistocene divergence and postglacial expansion in the Brazilian Atlantic Forest: multilocus phylogeography of *Rhopias gularis* (Aves: Passeriformes). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 54, n. 2, p. 137-147, 2016.
- BEHLING, H. *et al.* Late Quaternary vegetational and climate dynamics in northeastern Brazil, inferences from marine core GeoB 3104-1. **Quaternary Science Reviews**, v. 19, n. 10, p. 981-994, 2000.
- BOOKSTEIN, F. L. Morphometric tools for landmark data Cambridge University Press. **New York**, 1991.
- BORGES-NOJOSA, D. M.; CARAMASCHI, U. Composição e análise comparativa da diversidade e das afinidades biogeográficas dos lagartos e anfisbenídeos (Squamata) dos brejos nordestinos. **Ecologia e conservação da Caatinga**, v. 1, p. 489-540, 2003.
- BORGES-NOJOSA, D. M.; CARAMASCHI, U.; RODRIGUES, M. T. A new species of lizard *Placosoma Tschudi*, 1847 (Squamata: Gymnophthalmidae) from the relictual forest mountains of the State of Ceará, Brazil. **Zootaxa**, v. 4169, n. 1, p. 160-170, 2016.
- CARNAVAL, A. C. *et al.* Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. **Science**, v. 323, n. 5915, p. 785-789, 2009.

CARNAVAL, A. C.; MORITZ, C. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Biogeography**, v. 35, n. 7, p. 1187-1201, 2008.

COPATTI, C. E. *et al.* Method of capture and population structure of *Aegla georginae* Santos and Jara, 2013 (Decapoda: Anomura: Aeglididae) in a tributary of the Ibicuí River in southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 1035-1042, 2016.

CORDEIRO-ESTRELA, P. *et al.* Interspecific patterns of skull variation between sympatric Brazilian vesper mice: geometric morphometrics assessment. **Journal of Mammalogy**, v. 87, n. 6, p. 1270-1279, 2006.

CUMBERLIDGE, N.; ALVAREZ, F.; VILLALOBOS, J. L. Results of the global conservation assessment of the freshwater crabs (Brachyura, Pseudothelphusidae and Trichodactylidae): The Neotropical region, with an update on diversity. **ZooKeys**, n. 457, p. 133, 2014.

DE OLIVEIRA, P. E.; BARRETO, A. M. F.; SUGUIO, K. Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetational history of the Brazilian caatinga: the fossil dunes of the middle São Francisco River. **Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology**, v. 152, n. 3-4, p. 319-337, 1999.

FANG, F. *et al.* Patterns of diversity, areas of endemism, and multiple glacial refuges for freshwater crabs of the genus *Sinopotamon* in China (Decapoda: Brachyura: Potamidae). **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e53143, 2013.

HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, v. 165, n. 3889, p. 131-137, 1969.

HAFFER, J. Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, p. 917-947, 2008.

HAFFER, J.; PRANCE, G. T. Impulsos climáticos da evolução na Amazônia durante o Cenozóico: sobre a teoria dos Refúgios da diferenciação biótica. **Estudos avançados**, v. 16, p. 175-206, 2002.

HEWITT, G. M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1442, p. 183-195, 2004.

HEWITT, G. M. Quaternary phylogeography: the roots of hybrid zones. **Genetica**, v. 139, n. 5, p. 617-638, 2011.

JANSSON, R.; DYNESIUS, M. The fate of clades in a world of recurrent climatic change: Milankovitch oscillations and evolution. **Annual review of ecology and systematics**, v. 33, n. 1, p. 741-777, 2002.

LEDO, R. M. D.; COLLI, G. R. The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited. **Journal of biogeography**, v. 44, n. 11, p. 2551-2563, 2017.

LEFÉBURE, T. *et al.* Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: proposal of a molecular threshold to help species delimitation. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 40, n. 2, p. 435-447, 2006.

MAGALHÃES, C. Revisão taxonômica dos caranguejos de água doce brasileiros da família Pseudothelphusidae (Crustacea, Decapoda). **Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas**, v. 9, n. 4, p. 609-636, 1986.

MAGALHÃES, C. A new species of freshwater crab of the genus *Fredius* Pretzmann, 1967 from the middle Amazon River basin, Brazil (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 122, n. 1, p. 81-86, 2009.

MAGALHÃES, C. Famílias Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**, v. 143, p. 287, 2003.

MAGALHÃES, C. Avaliação dos pseudotelfusídeos (Decapoda: Pseudothelphusidae), Cap. 25, p. 325-336. In: Pinheiro, M.A.A. & Boos, H. (Org.). Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014. Porto Alegre, RS: Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 466 p, 2016.

MAGALHÃES, C. *et al.* New records of *Fredius denticulatus* (H. Milne-Edwards, 1853) and *F. reflexifrons* (Ortmann, 1897), and the eastern limits of the distribution of pseudothelphusid crabs (Crustacea: Decapoda) in Brazil. **Acta Amazonica**, v. 35, p. 93-96, 2005.

MAGALHÃES, C. *et al.* Morphological and molecular characterization of a new species of *Fredius* (Decapoda, Pseudothelphusidae) from Rondônia, southern Amazonia, Brazil. In: **Advances in freshwater decapod systematics and biology**. Brill, p. 101-114, 2014.

MAGALHÃES, C.; RODRÍGUEZ, G. The systematic and biogeographical status of *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897) and *Fredius fittkauii* (Bott, 1967) (Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae) from the Amazon and Atlantic Guianas River basins. **Acta Amazonica**, v. 32, n. 4, p. 677-677, 2002.

MAZZANTI, M. *et al.* DNA degradation and genetic analysis of empty puparia: genetic identification limits in forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 195, n. 1-3, p. 99-102, 2010.

MORO, M. F. *et al.* Vegetação, unidades fitoecológicas e diversidade paisagística do estado do Ceará. **Rodriguésia**, v. 66, p. 717-743, 2015.

MOURA-FÉ, M. M. Evolução morfoestrutural cretácica da Ibiapaba Setentrional, Região Noroeste do estado do Ceará. **Geo UERJ**, n. 31, p. 389-416, 2017.

PERES, E. A.; SILVA, M. J.; SOFRERINI, V. N. Phylogeography of the spider *Araneus venatrix* (Araneidae) suggests past connections between Amazon and Atlantic rainforests. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 121, n. 4, p. 771-785, 2017.

PFENNINGER, M.; SCHWENK, K. Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. **BMC evolutionary biology**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2007.

PRATES, I. *et al.* A mid-Pleistocene rainforest corridor enabled synchronous invasions of the Atlantic Forest by Amazonian anole lizards. **Molecular Ecology**, v. 25, n. 20, p. 5174-5186, 2016.

PEDRAZA, M.; TAVARES, M.; MAGALHÃES, C. A new genus of freshwater crab of the tribe Kingsleyini Bott, 1970 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae) with description of a new species from Mato Grosso, Brazil. **Zootaxa**, v. 4173, n. 1, p. 94-100, 2016.

PINHEIRO, A. P.; SANTANA, W. A new and endangered species of *Kingsleya* Ortmann, 1897 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae) from Ceará, northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 4171, n. 2, p. 365-372, 2016.

PIRANI, R. M. *et al.* Testing main Amazonian rivers as barriers across time and space within widespread taxa. **Journal of Biogeography**, v. 46, n. 11, p. 2444-2456, 2019.

PÔRTO, K. C.; CABRAL, J. J. P.; TABARELLI, M. Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação. **Ministério do Meio Ambiente, Brasília**, 2004.

QUIJADA-MASCAREÑAS, A. J. *et al.* Phylogeographic patterns of trans-Amazonian vicariants and Amazonian biogeography: the Neotropical rattlesnake (*Crotalus durissus* complex) as an example. **Journal of Biogeography**, v. 34, n. 8, p. 1296-1312, 2007.

RIZZINI, C. T. **Nota prévia sobre a divisão fitogeográfica do Brasil**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Conselho Nacional de Geografia, 1963.

RODRÍGUEZ, G. Decapoda. **Aquatic biota of tropical South America, part**, v. 1, p. 41-51, 1981.

RODRIGUES, B. D.; RIBEIRO, C. M. Aplicação da teoria dos refúgios ecológicos sobre a flora rupestre de Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil. **Anais do 12º Encontro de Geógrafos da América Latina, Montevideo, Uruguai**, 2009.

RODRÍGUEZ, G.; CAMPOS, M. R. A cladistic revision of the genus *Fredius* (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) and its significance to the biogeography of the Guianan lowlands of South America. **Journal of Natural History**, v. 32, n. 5, p. 763-775, 1998.

RODRÍGUEZ, G.; MAGALHÃES, C. Recent advances in the biology of the Neotropical freshwater crab family Pseudothelphusidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura). **Revista brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 2, p. 354-365, 2005.

ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. A revolution in morphometrics. **Trends in ecology & evolution**, v. 8, n. 4, p. 129-132, 1993.

ROHLF, F. J.; SLICE, D. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. **Systematic biology**, v. 39, n. 1, p. 40-59, 1990.

- ROHLF, F. J. TPSDig2, version 2.16. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York. Available at <http://life.bio.sunysb.edu/morph>, 2010.
- RULL, V. Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary–Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. **Molecular ecology**, v. 17, n. 11, p. 2722-2729, 2008.
- SALGADO-LABOURIAU, M. L. **História ecológica da Terra**. Editora Blucher, 1994.
- SANTOS, F. L.; DE SOUZA, M. J. N. Caracterização geoambiental do Planalto cuestasiforme da Ibiapaba–Ceará. **Revista Geonorte**, v. 3, n. 5, p. 301-309, 2012.
- SANTOS, A. M. et al. Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. **Journal of biogeography**, v. 34, n. 3, p. 437-446, 2007.
- SANTOS, L. C. et al. The distribution of the freshwater crab *Fredius reflexifrons* (Ortmann, 1897)(Brachyura, Pseudothelphusidae) in an Environmental Protection Area of the Planalto da Ibiapaba, Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.
- SILVA, P. A. H.; PASSOS, E. A teoria dos refúgios florestais: distribuição e evolução das paisagens ao fim do pleistoceno. **Revista Geografar**, 2009.
- SOBEL, J. M. et al. The biology of speciation. **Evolution: International Journal of organic evolution**, v. 64, n. 2, p. 295-315, 2010.
- SOBRAL-SOUZA, T.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; SOLFERINI, V. N. Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. **Evolutionary Ecology**, v. 29, n. 5, p. 643-655, 2015.
- SOUZA, M. J. N.; OLIVEIRA, V. P. V. Os enclaves úmidos e sub-úmidos do semi-árido do Nordeste Brasileiro (humid and sub-humid segments of the semi-arid area of the Brazilian Northeast). **Mercator**, v. 5, n. 9, 2006.
- SCHUBART, C. D. Mitochondrial DNA and decapod phylogenies: the importance of pseudogenes and primer optimization. **Crustacean**, n. 18, p. 47-65, 2009.
- SLATKIN, M.; Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**, v. 236, n. 4803, p. 787-792, 1987.
- TEAM, R. Core. R Development Core Team (2012) R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing. **Vienna, Austria**.
- TOON, A. et al. Gondwanan radiation of the Southern Hemisphere crayfishes (Decapoda: Parastacidae): evidence from fossils and molecules. **Journal of Biogeography**, v. 37, n. 12, p. 2275-2290, 2010.
- TORRES, M. V.; COLLINS, P. A.; GIRI, F. Morphological variation of freshwater crabs *Zilchiopsis collastinensis* and *Trichodactylus borellianus* (Decapoda, Trichodactylidae)

among localities from the middle Paraná River basin during different hydrological periods. **ZooKeys**, n. 457, p. 171, 2014.

TUMINI, G. *et al.* The importance of biogeographical history and extant environmental conditions as drivers of freshwater decapod distribution in southern South America. **Freshwater Biology**, v. 61, n. 5, p. 715-728, 2016.

THOME, M. T. C. *et al.* Barriers, rather than refugia, underlie the origin of diversity in toads endemic to the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 24, p. 6152-6164, 2014.

TRUJILLO-ARIAS, N. *et al.* Forest corridors between the central Andes and the southern Atlantic Forest enabled dispersal and peripatric diversification without niche divergence in a passerine. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 128, p. 221-232, 2018.

VERGAMINI, F. G. **Análise comparativa entre populações costeiras e continentais do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)(Crustacea, Palaemonidae) por meio de dados morfológicos e moleculares.** 2009. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

VIADANA, A. G.; CAVALCANTI, A. P. B. A teoria dos refúgios florestais aplicada ao estado de São Paulo (The forest refuge's theory devoted to São Paulo state). **Revista da Casa da Geografia de Sobral (RCGS)**, v. 8, n. 1, 2006.

VOGT, G. Abbreviation of larval development and extension of brood care as key features of the evolution of freshwater Decapoda. **Biological Reviews**, v. 88, n. 1, p. 81-116, 2013.

VON STERNBERG, R.; CUMBERLIDGE, N.; RODRIGUEZ, G. On the marine sister groups of the freshwater crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 37, n. 1, p. 19-38, 1999.

WARD, R. D. *et al.* DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 360, n. 1462, p. 1847-1857, 2005.

WRONSKI, T.; HAUSDORF, B. Distribution patterns of land snails in Ugandan rain forests support the existence of Pleistocene forest refugia. **Journal of Biogeography**, v. 35, n. 10, p. 1759-1768, 2008.

YEO, D. C. J. *et al.* Global diversity of crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 275, 2008.