

Camile Sorbo Fernandes

Morfometria geométrica de populações subterrâneas e epígeas dos caranguejos de água doce do gênero *Aegla* Leach 1820, (Crustacea: Anomura: Aeglidae) no Vale do Ribeira, Iporanga, SP

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPGERN) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – **Área de Concentração Ecologia.**

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Elina Bichuette

São Carlos, SP

2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

F363mg

Fernandes, Camile Sorbo.

Morfometria geométrica de populações subterrâneas e epígeas dos caranguejos de água doce do gênero *Aegla* Leach 1820, (Crustacea: Anomura: Aeglidae) no Vale do Ribeira, Iporanga, SP / Camile Sorbo Fernandes. -- São Carlos : UFSCar, 2011.

102 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Ecologia. 2. Rochas calcárias. 3. Morfotipos. 4. Troglófilos. I. Título.

CDD: 574.5 (20<sup>a</sup>)

Camile Sorbo Fernandes

**Morfometria geométrica de populações subterrâneas e epígeas dos caranguejos de água doce do gênero *Aegla* Leach 1820, (Crustacea: Anomura: Aeglidae) no Vale do Ribeira, Iporanga, SP**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

**Aprovada** em 30 de maio de 2011

BANCA EXAMINADORA

Presidente maria Elina Bichuette  
Prof. Dra. Maria Elina Bichuette  
(Orientadora)

1º Examinador [assinatura]  
Prof. Dr. Marco Antônio P. L. Batalha  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador [assinatura]  
Prof. Dr. Sérgio Luiz de Siqueira Bueno  
USP/São Paulo-SP



**Laboratório de Estudos Subterrâneos**  
Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva – DEBE  
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

***“(...) the Book of Nature is written in characters of  
Geometry.”***

Platão *apud* Darcy Thompson

On Growth and Form Revised Edition, 1932.

*Dedico este trabalho a todos que me ajudaram a chegar até aqui, especialmente  
minha mãe, **Vanilde Aparecida Sorbo Fernandes***

## **AGRADECIMENTOS:**

À profa. Dra. Maria Elina Bichuette não apenas pela orientação eficiente, mas por ter me dado a oportunidade, a idéia e todo o suporte necessário para o desenvolvimento deste trabalho, e também por ser um exemplo de pesquisadora e de ética a ser seguido.

À agência financiadora Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida a mim (# 136052/2009-6).

Ao Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e aos funcionários e professores do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN) nesta Instituição, por todas as facilidades obtidas e pelo aprendizado durante o curso.

Aos membros da minha banca de qualificação, Dr. Marcel Okamoto Tanaka, Dr. Marco Antônio Portugal Luttembarck Batalha e Dra. Angélica Maria P. Martins Dias, todos da UFSCar, pelas correções e melhorias sugeridas no trabalho.

À profa. Dra. Eleonora Trajano (IB/USP), a Sergio L. S. Bueno (IB/USP), e ao prof. Dr. Marcos Tavares (MZUSP) pelo empréstimo de material biológico. Ao Allysson, Luciane, Aline e William por toda a ajuda recebida durante os dias que fiquei no Museu de Zoologia da USP.

Ao prof. Dr. Sergio L. S. Bueno, pela gentileza de me receber, tirar dúvidas e confirmar a identificação das espécies obtidas.

Ao prof. Dr. Carlos Henrique Grohmann (IGc/USP), por ter me cedido o mapa geológico da região dos Parques, e ao Prof. Dr. José Antônio Ferrari (IGc/USP) e à Dra. Georgina Bond-Buckup (UFRGS), pela disposição em me enviar trabalhos científicos não disponíveis na rede.

Ao prof. Dr. Marco A. P. L. Batalha (UFSCar) pelo auxílio com as análises estatísticas e à Dra. Erika Hingst Zaher e Fábio de Andrade Machado (Instituto Butantã) pelo esclarecimento de dúvidas com relação às análises de forma.

Ao guia Jurandir, por contribuir com seu conhecimento e experiência durante as saídas de campo.

Ao Adriano Gambarini pelas fotografias cedidas, inclusive a da capa desta dissertação.

À Dra. Maria Lucia Negreiros Fransozo e Dr. Adilson Fransozo (Unesp/Botucatu) por todas as oportunidades de aprendizado junto ao grupo NEBECC (Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos), pelas conversas e dicas recebidas e por terem me apresentado ao mundo dos crustáceos.

Aos companheiros do Laboratório de Estudos Subterrâneos, que muitas vezes coletaram material por mim e me auxiliaram com seu conhecimento biológico e de campo. Obrigada também pela companhia agradável.

Especialmente, à minha querida amiga Bianca Cechetto por ter me recebido em sua casa em São Paulo durante algumas etapas desse trabalho e à Bianca Rantin, pela amizade, por ter me ensinado o passo-a-passo da morfometria geométrica, e pelas várias noites que precisei ficar em sua casa e fui muito bem recebida.

Ao Rafael Augusto Gregati, por estar sempre ao meu lado em todas as situações da minha vida e, mais que isso, me ensinar muito a respeito da pesquisa científica, criticar com sinceridade e melhorar meus manuscritos.

À minha querida família (toda ela) por todo o suporte emocional e financeiro.

## SUMÁRIO

<b>1 APRESENTAÇÃO DO TRABALHO</b> .....	1
<b>2 RESUMO</b> .....	3
<b>3 ABSTRACT</b> .....	4
<b>4 INTRODUÇÃO</b> .....	5
4.1 <i>Ecosistemas subterrâneos</i> .....	6
4.2 <i>A família Aeglidae</i> .....	11
4.3 <i>Objetivos</i> .....	15
<b>5 MATERIAIS &amp; MÉTODOS</b> .....	16
5.1 <i>Área de estudo</i> .....	17
5.2 <i>Obtenção de material biológico</i> .....	20
5.3 <i>Análise dos dados</i> .....	23
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	28
<b>7 FIGURAS</b> .....	38
<b>8 CAPÍTULO UM: Is <i>Aegla schmitti</i> Hobbs III, 1979 (Crustacea: Decapoda: Aeglidae) troglophile?</b> .....	46
Resumo.....	47
Abstract.....	48
Introduction.....	48
Materials & Methods.....	51
Results.....	54
Discussion.....	54
Acknowledgements.....	58
References.....	58
Figure Captions.....	65
<b>9 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	70
<b>10 CONCLUSÕES</b> .....	78
<b>11 REFERÊNCIAS</b> .....	81
<b>12 ANEXO</b> .....	86

The first record of external abnormalities in the subterranean *Aegla marginata* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Crustacea: Decapoda: Aeglidae), from a karst area of southeastern Brazil.

## 1 APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

Em 1994, em sua dissertação de mestrado ainda não publicada, Morachioli relatou a ocorrência de eglídeos em vários graus de despigmentação em cavernas na região do Vale do Alto Ribeira, no município de Iporanga, SP. Entretanto, essas populações não eram de troglóbios, mas sim pertenciam, segundo critérios taxonômicos usuais, a espécies comumente encontradas no meio epígeo, *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 e *A. marginata* Bond-Buckup & Buckup, 1994. A variação na pigmentação se dava em gradiente contínuo, de modo que quase não se viam indivíduos com características de população epígea no interior afótico das cavernas.

Nesta região, as rochas calcárias encontram-se interrompidas por rochas não solúveis (KARMANN & SANCHEZ 1979; BICHUETTE 1998). O fato de as espécies troglóbias estarem restritas às respectivas localidades-tipo (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; ROCHA & BUENO 2004), sugere que não existem conexões subterrâneas recentes entre os sistemas de cavernas que sejam acessíveis a esses crustáceos e que o contato entre populações troglófilas ocorreria nos rios de superfície.

Esses fatos presentes na literatura suscitaram alguns questionamentos a respeito do que estaria ocorrendo com essas populações:

- É possível detectar adaptações morfológicas à vida subterrânea, comparando-se a mesma espécie troglófila nos ambientes epígeo e hipógeo?
- Há isolamento entre os rios subterrâneos, devido às rochas insolúveis, efeito de área, ou diferenças entre microbacias hidrográficas?

Em busca de algumas respostas para essas questões, este trabalho foi realizado.

O estudo aborda diferenças entre as populações de *Aegla schmitti* ocorrentes em meio epígeo e hipógeo no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, investigadas por meio de morfometria geométrica. As espécies troglóbias e *A. marginata* não foram analisadas quanto à morfometria geométrica, como pretendido inicialmente, devido ao número insuficiente de indivíduos obtidos. Entretanto, os padrões de distribuição foram discutidos.

A dissertação está organizada sob a forma de artigo científico com o objetivo de mostrar a estrutura do trabalho como foi concebido. Por esse motivo, algumas informações foram suprimidas e outras repetidas no texto, visando preservar o sentido do trabalho e ao mesmo tempo atender às regras de formatação da dissertação. O artigo encontra-se submetido no periódico *Italian Journal of Zoology*, e está formatado segundo as normas dessa revista. Já o texto da dissertação segue as normas ABNT (NBR 10520/2002 e NBR 14724/2005). O

anexo mostra uma nota científica já publicada na revista *Subterranean Biology* (8: 33-38, 2010 (2011) doi: 10.3897/subtbiol.8.1228), que incluímos em função de ter sido escrita durante o mestrado, utilizando material coletado para o mesmo.

## 2 RESUMO

O presente estudo foi desenvolvido com exemplares do gênero *Aegla* ocorrentes na região dos Parques Estaduais Turístico do Alto Ribeira (PETAR) e Intervalos (PEI). Nessa área se distribuem os cavernícolas facultativos *Aegla schmitti* e *A. marginata* e, ainda, as únicas espécies exclusivamente cavernícolas registradas na literatura para a família Aeglidae, *A. leptochela*, *A. microphthalma* e *A. cavernicola*. Com o propósito de compreender a atuação das condições ambientais restritivas do meio subterrâneo nas espécies troglófilas e, ainda, a influência das barreiras extrínsecas aos padrões de distribuição e especiação desses crustáceos, visitamos trechos subterrâneos e superficiais de rios entre março de 2009 e agosto de 2010. Adicionalmente, utilizamos exemplares das coleções científicas do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e do Laboratório de Estudos de Eglídeos da Universidade de São Paulo (LEEUSP). Indivíduos da espécie *A. schmitti* foram analisados por meio de métodos de morfometria geométrica, com o objetivo de determinar se estes, com raros registros de ocorrência em cavernas, estabelecem populações viáveis em meio subterrâneo e, ainda, se variações na forma do cefalotórax estariam relacionadas a indícios de adaptações à vida em cavernas. Os resultados mostraram que os indivíduos de *A. schmitti* provenientes da Caverna Santana e do Rio Betari correspondem a dois morfotipos distintos. Tais evidências sugerem que a espécie coloniza com sucesso o ambiente subterrâneo e, possivelmente, são resultantes da existência de fenótipos ambientalmente induzidos ou de ecótipos relacionados à vida em meio hipógeo. Ainda, sugerem que a colonização desse ambiente ocorre por meio de indivíduos migrantes provenientes do rio epígeo, seguindo uma dinâmica de metapopulações com a consequente existência de subpopulações transitórias em alguns locais. A análise da distribuição geográfica dos eglídeos na região permite concluir que esta depende não somente da presença ou ausência de barreiras extrínsecas, mas também da mobilidade e comportamento das espécies. O insucesso nas capturas em locais com registro de ocorrência pode sugerir declínio populacional das espécies de *Aegla* estudadas. Sendo assim, são necessários estudos ecológicos mais abrangentes visando à elaboração de políticas eficientes para manejo e, principalmente, fiscalização dos parques.

### 3 ABSTRACT

This study was developed with *Aegla* species from Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) and Parque Estadual Intervales (PEI) areas. The facultative cavernicoles *Aegla schmitti* and *A. marginata* are distributed in these areas, as well as the only exclusively subterranean Aeglidae species reported, *A. leptochela*, *A. microphthalma* and *A. cavernicola*. With the purpose of elucidating the influence of the restrictive environmental conditions of the subterranean domain in the troglophiles and, also, the role of extrinsic barriers in distribution and speciation patterns of these crustaceans, we visited epigean and hipogean stream reaches between March 2009 and August 2010. In addition, loans of specimens from the Museu de Zoologia from Universidade de São Paulo (MZUSP) and Laboratório de Estudos de Eglídeos from Universidade de São Paulo (LEEUSP) scientific collections were used. Individuals identified as *A. schmitti* were analyzed using morphometric geometrics in order to evaluate if this species, rarely registered in caves, establish viable populations in the subterranean environment and, moreover, if shape variations related to adaptations to life in caves were present. The results showed that Santana Cave and Betari River individuals correspond to two distinct morphotypes. These ones are evidences that the species colonize successfully the subterranean environment and, possibly, results from environmentally induced phenotypes or ecotypes selection associated to subterranean environment. Furthermore, it could suggest that the colonization of caves occurs by means of epigean migration, following a metapopulation dynamics with, consequently, transitory subpopulations in some places. The distribution pattern of the species in the studied area allows the conclusion that it depends not only on the absence or presence of extrinsic barriers but, also, on their behaviour and mobility. The absence of individuals in caves previously recorded in the literature could suggest populational decline of *Aegla* species in the study area. Hence, further ecological studies are needed aiming an effective environmental management and, mainly, the parks inspection.

# *Introdução*

## 4 INTRODUÇÃO

### 4.1 *Ecosistemas subterrâneos*

O meio subterrâneo compreende um conjunto de espaços do subsolo, de tamanhos variáveis, que podem estar preenchidos por ar ou água. Essa rede de espaços interconectados forma-se em vários tipos de rocha, especialmente naquelas solúveis, bem como em depósitos de sedimentos (meio intersticial) no contato com a zona inferior do solo (JUBERTHIE & DECU 1994; JUBERTHIE 2000).

Reservatórios subterrâneos de água tais como aquíferos e pequenos afloramentos (biótopo freático), corpos de água, meio intersticial saturado por água (biótopo hiporreico) e poças formadas por água proveniente do meio epígeo correspondem aos habitats aquáticos. Já os terrestres são compostos principalmente por grutas em diversos tipos de rochas e fissuras da zona de infiltração do carste (rochas passíveis de dissolução por água acidificada, originando fissuras, cavidades e galerias), além da área de contato entre a rocha fraturada e a zona inferior do solo (*Milieu Souterrain Superficiel* sensu JUBERTHIE & DECU 1994). Todos esses espaços compartilham uma propriedade física importante – a ausência completa de luz (JUBERTHIE & DECU 1994; CULVER & PIPAN 2009).

Sendo assim, as cavernas representam apenas uma pequena parte do ecossistema subterrâneo, uma vez que, na definição clássica, constituem cavidades e galerias de grandes dimensões que podem ser exploradas pelo homem (JUBERTHIE & DECU 1994; PALMER 2007). Independentemente da presença ou ausência de cavernas no sentido da definição clássica, o meio subterrâneo é um habitat potencial para espécies terrestres, de água doce ou marinhas capazes de sobreviver nessas condições (JUBERTHIE & DECU 1994).

A formação de cavernas pode ocorrer em qualquer tipo de rocha, em função de dissolução química ou de outros processos como, por exemplo, o derretimento de canais no interior de geleiras, erosão mecânica por água e resfriamento de lava vulcânica, envolvendo complexas interações entre geologia, química e mecânica do fluxo subterrâneo de água (PALMER 2007).

Paisagens em que predominam processos de dissolução química em relação a processos erosivos são chamadas de paisagens cársticas, que podem ou não conter cavernas em grande quantidade, dependendo das condições hidrológicas e geológicas locais (KARMANN & SANCHEZ 1979; PALMER 2007; CULVER & PIPAN 2009).

Geralmente, as cavernas originadas por dissolução química se formam em rochas calcárias (dolomitos, calcários e mármore), por meio do fluxo de água por fraturas e rachaduras pré-existentes entre as rochas e, com frequência, estão conectadas com outros habitats subterrâneos constituindo um sistema espeleológico (KARMANN & SANCHEZ 1979; PALMER 2007), por onde pode haver dispersão subterrânea de organismos cavernícolas (TRAJANO 1987; MORACHIOLLI 1994). Os processos que atuam na formação desse tipo de caverna incluem, além da dissolução da rocha solúvel, a erosão mecânica e, posteriormente, processos de deposição mineral (PALMER 2007).

A água penetra em fissuras da rocha solúvel com pH ligeiramente ácido proveniente principalmente da dissolução de gás carbônico atmosférico e de ácidos orgânicos do solo (em consequência de atividade microbiana). Os ácidos, principalmente o carbônico, reagem com as rochas solúveis (como dolomita e calcita), tornando-as dissolvidas na água. Essa reação alarga fissuras e origina passagens (PALMER 2007).

Ainda, em alguns estratos (*Inception horizons*), a água pode tornar-se rica em sulfatos em função da presença de minerais sulfurosos, como pirita, elevando a velocidade de dissolução nos estádios iniciais essenciais para a formação das cavernas (LOWE & GUNN 1997) (nesse caso, a caverna ostenta padrões mais raros, principalmente em climas relativamente secos) (PALMER 2007; CULVER & PIPAN 2009).

Conforme a água percorre os condutos da caverna, seu pH se eleva em função da quantidade de calcita e dolomita dissolvidas. Em condutos preenchidos por ar atmosférico, depósitos minerais secundários (os espeleotemas) podem começar a se formar, pois o ar atmosférico contém apenas cerca de 1% do gás carbônico contido no subsolo e, conseqüentemente, a capacidade de dissolução da água decresce com essa mistura, invertendo a reação química de dissolução (PALMER 2007).

De acordo com a evolução geológica e geomorfológica de uma área, poderão ser encontradas condições favoráveis à presença de cavernas, levando-se em conta o grande número de variáveis que influenciam o processo espeleogenético (KARMANN & SANCHEZ 1979).

As condições ambientais do meio subterrâneo se diferenciam das do meio epígeo pela pequena amplitude de variações (principalmente com relação à temperatura), elevada umidade relativa do ar e ausência completa de luz (nas zonas mais profundas). Essa relativa estabilidade climática pode estar sujeita à variação, geralmente anual, de parâmetros tais como correntes de ar, níveis de água e aporte alimentar (CULVER & PIPAN 2009).

A escuridão completa condiciona a ausência de organismos fotossintetizantes e, em consequência, a dependência de itens alóctones como fonte energética, trazidos por enxurradas, raízes de plantas ou animais do meio externo. A produção autóctone é restrita à atividade de bactérias quimiossintetizantes e, com raras exceções, insuficiente para sustentar uma comunidade subterrânea. Ainda, tem profundos efeitos nos organismos vivendo nesses habitats, uma vez que há o desafio em encontrar alimentos, acasalarem-se e evitarem predadores (BARR 1967; POULSON & WHITE 1969; JUBERTHIE & DECU 1994; CULVER & PIPAN 2009).

As condições ambientais se modificam com a distância a partir da entrada da caverna. Assim, o biótopo cavernícola pode ser dividido em quatro zonas: zona de entrada, ecótono entre os ambientes epígeo e hipógeo; zona de penumbra, com redução da luminosidade (indireta); zona de transição onde o escuro é completo, mas ainda há variações na temperatura; zona afótica, caracterizada por escuridão completa, umidade elevada e temperatura relativamente constante (POULSON & WHITE 1969; HOWARTH 1979; MORACHIOLLI 1994; PELLEGGATI-FRANCO 1997).

Em função dessas particularidades, os táxons capazes de colonizar habitats subterrâneos são restritos (BICHUETTE & TRAJANO 2003), sendo que o estabelecimento de organismos no meio subterrâneo é feito por espécies capazes de sobreviver nesse meio, por possuírem características que facilitariam essa colonização, como orientação não visual na captura de presas, hábito generalista e tolerância à elevada umidade (higrofilia), no caso dos terrestres (CULLINGFORD 1962). Muito frequentemente, essas chamadas “pré-adaptações” são adaptações ao habitat de procedência, as quais também são vantajosas no novo habitat – exaptações (GALAN 2000).

Uma classificação ecológico-evolutiva dos organismos subterrâneos de acordo com seu grau de especialização foi primeiramente elaborada por Schiner (1854) e posteriormente modificada por Racovitza (1907). Essa classificação é a mais utilizada atualmente, sendo conhecida como classificação de Schiner-Racovitza. Segundo essa classificação, troglófilos são organismos capazes de viver e de se reproduzir tanto fora quanto no interior das cavernas, estabelecendo aí populações viáveis; troglógenos são animais que habitam o ambiente subterrâneo, mas que, no entanto, precisam sair deste para completar seu ciclo de vida e troglóbios são os cavernícolas obrigatórios, e exibem modificações morfológicas, comportamentais, fisiológicas ou ambas, relacionadas ao ambiente subterrâneo; não sendo encontrados no ambiente epígeo. Além desses, é possível encontrar organismos acidentais que, trazidos por enxurradas ou em busca de abrigo e alimento, entraram nas cavernas e foram

incapazes de se orientar para encontrar a saída (CULLINGFORD 1962; BARR 1967; BARR & HOLSINGER 1985; BICHUETTE 1998).

As alterações relacionadas à vida exclusiva em meio subterrâneo foram descritas para troglóbios pertencentes aos mais diversos grupos taxonômicos. Essas modificações exibem um padrão convergente de regressão de algumas características sem utilidade nesse ambiente e, simultaneamente, a evolução construtiva de outras que possibilitam a sobrevivência nesse meio (WILKENS 2010). As mais descritas na literatura são alterações morfológicas como a redução de olhos e de pigmentação melânica cutânea (POULSON & WHITE 1969; TRAJANO & BRITSKI 1992), redução do tamanho corpóreo (MEJÍA-ORTIZ & LOPEZ-MEJÍA, 2005), ocorrência de compensação sensorial, caracterizada pelo aumento em número ou tamanho de estruturas responsáveis por órgãos sensoriais não ópticos (WEBER, ALLEGRUCCI & SBORDONI 2003; BICHUETTE & TRAJANO 2005) e, em artrópodes, o desenvolvimento de apêndices mais longos e redução na espessura cuticular (COOPER 1969; CULVER 1982; BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; BICHUETTE 1998). Ainda, foram observadas alterações fisiológicas como a regressão de ritmos biológicos circadianos, baixa tolerância a perturbações ambientais, maturação tardia, maior longevidade (POULSON 1963; POULSON & WHITE 1969; CULVER 1982; WILKENS 1988), e redução de taxa metabólica quando comparados com espécies epígeas aparentadas (MEJÍA-ORTIZ & LOPEZ-MEJÍA, 2005). Alterações no comportamento alimentar, agonístico e de reação à luz (MORACHIOLLI 1994) também foram descritas na literatura.

Em crustáceos Decapoda, relatou-se a ocorrência de compensação sensorial envolvendo o aumento do número de cerdas sensoriais em antênulas, antenas e carapaça, alongamento de antênulas, antenas e pereiópodos. Além disso, foi constatada a diminuição de taxa metabólica e de consumo de oxigênio em espécies cavernícolas provenientes de ambientes oligotróficos, redução ou ausência de córnea e pigmentação, além de modificações comportamentais como fotofobia, redução de comportamento agonístico e maior eficiência na procura e detecção de alimento (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; MEJÍA-ORTIZ & LOPEZ-MEJÍA 2005; MEJÍA-ORTIZ, HARTNOLL & LÓPEZ-MEJÍA 2006).

As modificações morfológicas mais acentuadas associadas ao isolamento em meio subterrâneo são designadas como troglomorfismos (BARR 1968; MORACHIOLLI 1994). Estes, de modo geral, envolvem regressão até a ausência de olhos e de pigmentação melânica (BICHUETTE 1998). Cabe ressaltar que alguns táxons epígeos já apresentam características troglomórficas anteriores à colonização do meio subterrâneo (GALAN 2000). Assim, a

definição de um organismo como portador de características relacionadas à vida em cavernas exige a comparação destes com populações epígeas aparentadas (MORACHIOLLI 1994).

Em um regime seletivo diferenciado, onde há escuridão permanente e alimento muitas vezes escasso, além das condições ambientais relativamente estáveis, alguns caracteres podem ser vantajosos como, por exemplo, diminuição de tamanho corpóreo, hipertrofia de órgãos sensoriais não relacionados à visão (compensação sensorial) e menor gasto metabólico (POULSON & WHITE 1969; MEJÍA-ORTIZ & LOPEZ-MEJÍA 2005). Alguns dos chamados caracteres regressivos, por outro lado, ainda não tiveram sua causa completamente esclarecida, como é o caso da redução ou perda de olhos, do comportamento agonístico e da pigmentação melânica cutânea.

A teoria de seleção natural por economia de energia para a regressão de estruturas tem se mostrado improvável já que, ao menos para os peixes *Astyanax mexicanus* (De Filippi, 1853) (Characidae), alguns comportamentos dependentes da visão, como o agressivo, também regridem mesmo não estando submetidos à seleção por economia de energia (WILKENS 2010). Ainda, os olhos começam a se formar durante o desenvolvimento embrionário para, logo depois, degenerarem (JEFFERY, STRICKLER & YAMAMOTO 2003), o que representaria um gasto adicional de energia.

Os defensores do neutralismo argumentam que comportamentos ou estruturas sem função no meio subterrâneo estariam sujeitos a um relaxamento das pressões de seleção, permitindo o acúmulo de mutações neutras em associação com perdas genéticas por deriva e efeito fundador (BARR 1967; POULSON 1986; TRAJANO & BRITSKI 1992; WILKENS 2010).

Para outros autores, o acúmulo ao acaso de mutações neutras dificilmente produziria o grande número de convergências em diferentes caracteres, em grupos zoológicos distintos como é observado (GALAN 2000; JEFFERY, STRICKLER & YAMAMOTO 2003; ROMERO & GREEN 2005). Estes defendem que deve haver alguma vantagem seletiva nesta regressão, ainda que indireta, como no caso da seleção de genes que atuam em mais de uma função, por pleiotropia (JEFFERY, STRICKLER & YAMAMOTO 2003). Ou, ainda, a seleção de genótipos variáveis e de mecanismos epigenéticos integrados no desenvolvimento desses caracteres regressivos, não necessariamente envolvendo isolamento alopátrico (GALAN 2000; ROMERO & GREEN 2005).

A perda de pigmentação pode ocorrer não apenas devido a fatores genéticos, mas, também, em função da dependência de luz para a agregação de pigmentos ou da escassez destes na dieta (CULLINGFORD 1962). Em crustáceos da ordem Decapoda, despigmentação

é constantemente associada à escassez de carotenoides na alimentação (MAGUIRE Jr. 1961; WOLFE & CORNWELL 1964).

Embora diversos mecanismos de isolamento possam ocorrer no meio subterrâneo, do mesmo modo como ocorrem em outros ambientes (BARR & HOLSINGER 1985; GALAN 2000; ROMERO & GREEN 2005), o modelo alopátrico de especiação é o mais aceito também para organismos cavernícolas por ser mais parcimonioso (CULVER 1982; WILKENS 1986).

#### 4.2 A família Aeglidae

Os crustáceos decápodos da família Aeglidae pertencem a um único gênero atual, *Aegla*, Leach 1820 e a dois gêneros fósseis. Habitam arroios, riachos, rios, lagoas e cavernas exclusivamente da parte subtropical e temperada da América do Sul, sendo exceção em um grupo predominantemente marinho, a infraordem Anomura (RODRIGUES & HEBLING 1978; BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; BOND-BUCKUP et al. 2008).

Dentre os trabalhos que buscam explicar a distribuição restrita à América do Sul e a conquista do ambiente dulcícola pelos eglídeos, destacam-se os realizados por Feldmann (1984) e Feldmann et al. (1998), com espécies fósseis pertencentes à família Aeglidae. O fóssil mais antigo (~110 ma), *Protaegla miniscula* Feldmann, Vega, Applegate & Bishop 1998, foi encontrado no Sul do México, e o mais recente (~75 ma) é o da espécie *Haumuriaegla glaessneri* Feldmann 1984, encontrado na Nova Zelândia. Ambos são estreitamente relacionados com o gênero *Aegla* atual, mas que, no entanto, estavam no estrato marinho e foram encontrados fora da América do Sul (FELDMANN 1984; FELDMANN et al. 1998; PÉREZ-LOSADA et al. 2004). Atualmente, a hipótese mais aceita pelos estudiosos é que o grupo é originário de ambientes marinhos com adaptação e colonização posteriores de águas continentais (FELDMANN 1984; MORRONE & LOPRETTO 1994).

Espécies do Pacífico parecem ser as mais primitivas, tendo-se como evidências as espécies fósseis, os padrões de distribuição e dados de filogenia molecular. Acredita-se que a conquista de águas continentais poderia ter ocorrido por meio de uma transgressão marinha no Oceano Pacífico há cerca de 60 milhões de anos, e sua distribuição endêmica pode ser explicada por meio da integração entre dados de filogenia (PÉREZ-LOSADA et al. 2004), paleodrenagem e paleogeografia da América do Sul (LUNDBERG et al. 1998; PÉREZ-LOSADA et al. 2004).

Estudos de conteúdo estomacal e observações em laboratório concluíram que os eglídeos em geral são onívoros generalistas e oportunistas, alimentando-se de algas, plantas vasculares, escamas de peixes, sedimentos, insetos imaturos e outros invertebrados (BAHAMONDE & LÓPEZ 1961; MORACHIOLLI 1994; BUENO & BOND-BUCKUP 2004; CASTRO-SOUZA & BOND BUCKUP 2004). De modo geral, as espécies de *Aegla* têm preferência por águas mais frias, com correnteza e bem oxigenadas, o que pode dificultar a manutenção de espécimes em laboratório (RODRIGUES & HEBLING 1978; BUENO & BOND-BUCKUP 1996).

Morfológicamente, esses crustáceos possuem o quinto par de pereiópodos de tamanho reduzido e sem função de locomoção, sendo utilizado para limpeza de apêndices e arejamento de ovos. A carapaça é achatada dorso-ventralmente e distingue o grupo entre todos os outros decápodos, uma vez que possui a região anterior bem mais afilada que a posterior, além de uma dobra cervical e suturas características do gênero. Além disso, o abdome não é totalmente fusionado com a carapaça como ocorre com os caranguejos braquiúros, mas se flexiona em direção aos somitos abdominais anteriores. As fêmeas se diferenciam dos machos por possuírem o abdome mais alargado e curto, uma abertura (poro) genital na coxa do terceiro pereiópodo, e pleópodos bem desenvolvidos nos somitos abdominais. Nos indivíduos machos, os pleópodos são vestigiais (MARTIN & ABELE 1988).

Bueno & Shimizu (2008) e Rocha et al. (2010) compilaram informações a respeito do tempo de incubação, variação no tamanho dos ovos e juvenis, e períodos reprodutivos dos eglídeos. Estes autores notaram que há uma diferenciação no padrão reprodutivo entre espécies temperadas e subtropicais, com uma tendência ao aumento do comprimento do período reprodutivo em latitudes mais elevadas. Tal efeito é possivelmente associado aos gradientes latitudinais de variabilidade (com base no desvio-padrão) na temperatura e no regime de chuvas. O padrão observado é oposto ao encontrado em decápodos marinhos bentônicos e estaria relacionado ao modo como ocorreu a dispersão de alguns clados de regiões temperadas para subtropicais (ver PÉREZ-LOSADA et al. 2004) e, em consequência, melhor adaptação ao ambiente de origem (BUENO & SHIMIZU 2008; ROCHA et al. 2010).

Espécies do gênero *Aegla* apresentam supressão de estádios larvais e a formação de segmentos e apêndices do crustáceo ainda dentro dos ovos (conhecido como desenvolvimento epimórfico), dos quais eclodem indivíduos já em estágio juvenil. Estes ficam por determinado tempo agarrados aos pleópodos da fêmea, tendo-se observado em laboratório a existência de cuidado parental (MARTIN & ABELE 1988; MORACHIOLLI 1994; LÓPEZ-GRECO et al. 2004). Ao nascer, são bastante semelhantes aos adultos, sendo que as principais diferenças

localizam-se nos epímeros abdominais e na ausência de caracteres sexuais secundários, como a presença de pleópodos abdominais nas fêmeas. Não há heteroquelia e o sexo é externamente indeterminável nas primeiras fases do desenvolvimento (RODRIGUES & HEBLING 1978).

O desenvolvimento epimórfico pode ser uma característica vantajosa à colonização do meio subterrâneo já que proporciona maior agilidade para fuga de predadores e procura de alimentos e capacita os recém nascidos a se alimentarem de uma maior variedade de alimentos (KAESTNER 1980; CULVER 1982; MAGALHÃES & WALKER 1988; MORACHIOLLI 1994; BUENO & BOND-BUCKUP 1996).

De acordo com IUCN Red List Criteria (IUCN 2001), muitas espécies (36,5% do total) do gênero *Aegla* estão em risco de extinção devido à ação antrópica em águas continentais, e acelerada por sua distribuição restrita (BOND-BUCKUP et al. 2008). Assim, esforços de conservação e estudos abrangentes desse gênero se fazem necessários.

Em levantamentos realizados nos Parques Estaduais Turístico do Alto Ribeira (PETAR) e Intervalos (PEI), área onde foi realizado este estudo, foi reportada a ocorrência de *Aegla schmitti* e *Aegla marginata* em trechos subterrâneos e epígeos dos rios e das espécies exclusivamente cavernícolas *Aegla cavernicola* Türkay, 1972, *Aegla leptochela* Bond-Buckup & Buckup, 1994 e *Aegla microphthalma* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; ROCHA & BUENO 2004). Duas novas espécies, possivelmente troglóbias, foram descobertas no núcleo Bulhas d'Água do PEI, mas sua descrição ainda não foi publicada (CAMARGO 2010). Até o momento essas são as únicas espécies troglóbias da família Aeglidae mencionadas na literatura

A biologia reprodutiva, tamanhos populacionais, comportamentos de limpeza, alimentar, agonístico, reação à luz e dieta das espécies ocorrentes na região foram estudados por Morachiolli (1994), com exceção do troglóbio mais modificado, *A. microphthalma*.

Os troglóbios possuem sua distribuição restrita à suas localidades-tipo, Caverna Areias I e II (PETAR) para *A. cavernicola*, Gruta dos Paiva (PEI) para *A. leptochela* e Caverna Santana (PETAR) para *A. microphthalma*, sendo muito vulneráveis a perturbações ambientais (ROCHA & BUENO 2004). Para essas espécies, foram descritas alterações morfológicas envolvendo o alongamento de pereiópodos e flagelos das antenas, redução de pigmentação, menor tamanho de pedúnculos oculares e dimensões reduzidas da cónea para *A. leptochela* e *A. cavernicola*. Ainda, ambas as espécies apresentaram modificações comportamentais como fotofobia acentuada, redução de comportamento agonístico e maior eficiência na detecção de alimento em comparação com as espécies epígeas ocorrentes na região. Sobre *A. microphthalma*, pouco se sabe além de que possui pedúnculos oculares

reduzidos e ausência completa de córnea e pigmentação, principalmente devido à dificuldade de obtenção de exemplares para estudo e ao insucesso na manutenção de exemplares vivos em laboratório (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994).

*A. schmitti* é a espécie mais abundante e amplamente distribuída na região do PETAR (ROCHA & BUENO 2004). Há registros de capturas em diversos rios epígeos e nas cavernas de Santana, Temimina II, Água Suja, Zezo, Calcário Branco (PETAR) e Gruta da Aegla (PEI) (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; ROCHA & BUENO 2004). Além desses trabalhos, destacam-se os de Teodósio (2007) e Teodósio & Masunari (2009) sobre a biologia e estrutura populacional da espécie e o de Trevisan & Masunari (2010) sobre a distribuição geográfica e variação morfométrica, todos com indivíduos originários do estado do Paraná.

A espécie *A. marginata* foi coletada em diversos rios de superfície no PEI e nas cavernas Gruta da Aegla, Gruta do Tatu, Queijo Suíço, Barra Bonita, Água Luminosa, Arcão, Bulha D'água, Jane Mansfield, Fendão, Colorida e Paiva. Nesta última, ocorre em simpatria com o troglóbio *A. leptochela* (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; ROCHA & BUENO 2004). Embora a descrição da espécie não seja tão recente (1994), ainda há poucos trabalhos sobre a biologia de *A. marginata* além do realizado por Morachiolli (1994). Desses, a maior parte apenas contém citações de ocorrência ou descrição morfológica, destacando-se Bond-Buckup & Buckup (1994) e Rocha & Bueno (2004).

Há preocupação crescente com os eglídeos nessa região, já que se constatou uma redução drástica em populações dos troglóbios *Aegla leptochela* e *A. cavernicola* em relação ao estudo realizado anteriormente por Morachiolli (1994) (MAIA et al. 2009). Nesse mesmo trabalho, também foi confirmada a situação crítica da espécie *A. microphthalma*, de ocorrência extremamente rara desde a década de 70, e cuja recuperação pode ser dificultada pela colonização recente da Caverna Santana por camarões do gênero *Macrobrachium* Bate, 1868 (Palaemonidae) (MAIA et al. 2009). Essa situação é agravada pelo comprometimento dos habitats naturais desses crustáceos (MORAES 2003; GIATTI 2004; COTTA, REZENDE & PIOVANI 2006).

### 4.3 Objetivos

Os objetivos deste trabalho foram:

- 1) Buscar evidências morfológicas da existência de isolamento reprodutivo em populações de mesma espécie entre diferentes cavernas.
- 2) Verificar se há indícios de adaptações morfológicas à vida em cavernas nas espécies troglófilas *Aegla schmitti* e *A. marginata*.
- 3) Obter dados para esclarecimento da ecologia e distribuição das espécies estudadas.
- 4) Fornecer subsídios para futuros estudos moleculares.

*Materials &  
Métodos*

## 5 MATERIAIS & MÉTODOS

### 5.1 Área de estudo

A região do Vale do Alto Ribeira, sudoeste do estado de São Paulo, abrange a área dos municípios de Iporanga, Apiaí e Ribeira, cortados pela Serra do Paranapiacaba. No local estão preservados trechos da Mata Atlântica, sob a proteção legal de um conjunto de Unidades de Conservação, sendo que as bacias hidrográficas, os remanescentes de Mata Atlântica e o patrimônio espeleológico representam redutos importantes de biodiversidade no país (SMA 1997; GIATTI 2004).

Geologicamente inserida no supergrupo Açungui, a região caracteriza-se pela presença de rochas metassedimentares e depósitos de sedimentos carbonatados de origem marinha (evidentes em função da presença de estruturas biogênicas características – os estromatólitos do gênero *Collenia*) depositados em ambiente tectonicamente ativo e datados do Pré-cambriano Superior (KARMANN & SÀNCHEZ 1979; BICHUETTE 1998).

Próximo ao município de Iporanga, as rochas são pertencentes aos subgrupos Lajeado e Ribeira e possuem litologia composta por filitos, quartzitos, calcários cristalinos, metaconglomerados e metabasitos (KARMANN & SÀNCHEZ 1979). As rochas calcárias (metacalcário proterozóico) que atravessam a região aparecem no solo de forma descontínua, sob a forma lentes rochosas orientadas no sentido Nordeste-Sudoeste, com larguras variando entre 1 e 8 km e extensão de até 20 km (KARMANN & SÀNCHEZ 1979; GENTHNER, FERRARI & KARMANN 2003). Intercaladas a essas lentes calcárias, encontram-se rochas insolúveis como granitos, filitos e quartzitos, originadas por dobramento tectônico (TRAJANO 1991; BICHUETTE 1998), formando diferentes sistemas de cavernas. O sistema de fraturas associado ao dique básico de direção NW-SE (Jurássico-Cretáceo) condiciona o entalhamento do Rio Betari e constitui nível de base local do sistema cárstico na área de estudo (MELFI, BITTENCOURT & CORDANI 1965; GENTHNER, FERRARI & KARMANN 2003).

O clima é subtropical úmido, sem estação seca definida (GUTJAHR 1993; GENTHNER, FERRARI & KARMANN 2003). Segundo a classificação climática de Köppen (1948), as áreas menos elevadas da região podem ser classificadas como o tipo climático “Cfa” (mesotérmico úmido sem estação seca, com a temperatura do mês mais quente (janeiro) superior a 22° C e o total de chuvas do mês mais seco (julho) superior a 30 mm). Já as áreas

em altitudes superiores a 700 m enquadram-se no tipo “Cfb” (mesotérmico úmido sem estiagem, em que a temperatura do mês mais quente (fevereiro) situa-se entre 10° e 22°C).

A influência do clima úmido sobre as rochas solúveis caracteriza condições favoráveis para a dissolução do calcário pela água percolada. Essa dissolução origina redes de condutos e cavernas, mundialmente conhecidas como carste, no qual a paisagem apresenta aspecto esburacado em função da dissolução das rochas. Nesses locais, a drenagem ocorre principalmente por vias subterrâneas (POULSON & WHITE 1969; LINO 2001).

Evidências biogeográficas, paleoclimáticas e paleontológicas sugerem que, durante o período Quaternário, do Plioceno Superior ao Pleistoceno (1,8 milhões de anos até 12.000 anos atrás aproximadamente), houve alternância de condições ambientais frias e secas com condições úmidas e quentes na América do Sul (AB’SABER 1977; LEDRU 1993; CRUZ et al. 2005), em períodos de tempo geológico relativamente curto (15.000-20.000 anos) (AB’SABER 1977; TRAJANO 1995). Tais modificações estariam associadas a movimentos glácio-eustáticos, ao direcionamento de correntes frias para o continente (AB’SABER 1977) e a alterações no regime hidrológico promovidas por modificações na direção de radiação solar (CRUZ et al. 2005), e teriam promovido expansões e retrações sucessivas de formações abertas de climas secos (AB’SABER 1977).

Durante os períodos de clima seco, alguns rios podem ter se tornado intermitentes devido ao rebaixamento dos lençóis freáticos, com corpos d’água isolados correspondentes ao afloramento desse lençol freático (AB’SABER 1977; TRAJANO & BRITSKI 1992). Estimativas do tempo de isolamento do bagre cavernícola *Pimelodella kronei* (Ribeiro, 1907) remetem ao Pleistoceno, época em que tais alterações de drenagem teriam ocorrido (TRAJANO & BRITSKI 1992). Ainda, o traçado aproximado da antiga rede de drenagem superficial sobre as rochas mostra que algumas drenagens da região sofreram desvios em função do aumento gradativo da capacidade de drenagem subterrânea nas rochas calcárias (KARMANN 1994). Essas características, aliadas ao soerguimento de rochas insolúveis entre cavernas anteriormente conectadas, podem ser fatores de isolamento alopátrico, o que faz dessa região uma área interessante para investigações evolutivas (TRAJANO 1991; 1995).

Este trabalho foi realizado em parte de dois parques estaduais, o Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) e o Parque Estadual Intervales (PEI) (Fig. 1).

### Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR):

Criado em 1958 (Decreto 32.283 de 19/05/1958), esse Parque Estadual abrange terras dos municípios de Apiaí e Iporanga, com um total de 35.712 hectares (SMA 2006). Toda a área do parque é drenada pelas bacias dos rios Betari, Iporanga e Pilões. O relevo é montanhoso, com altitudes topográficas de cerca de 700 m, e o clima é considerado como transição entre o clima quente de latitudes baixas e o temperado mesotérmico de latitudes médias, típico da região Sul, com médias térmicas anuais em torno de 20 a 22°C (KARMANN & FERRARI 2002).

Na área do parque e arredores, ocorrem cerca de 500 cavernas, cuja formação é facilitada pela presença de rochas calcárias pertencentes às quatro lentes citadas anteriormente, que atravessam a região do PETAR e duas que atravessam o PEI (Fig. 2). Essas rochas carbonáticas, uma vez dissolvidas, originam as cavidades subterrâneas e grande diversidade de espeleotemas (TRAJANO 1991; BICHUETTE 1998; KARMANN & FERRARI 2002).

Por esse motivo, o parque é bastante visitado por turistas e isso, aliado à prática de despejo de esgotos sem tratamento, exploração de minérios e agricultura, tem contribuído para sua degradação (MORAES 2003; GIATTI 2004; COTTA, REZENDE & PIOVANI 2006). Segundo dados da CETESB (1991), a concentração de mercúrio no sedimento do Rio Betari alcançava o dobro do valor recomendado no período avaliado. No trabalho de Moraes (2003), constatou-se a presença de resíduos de agroquímicos em tecidos de peixes Siluriformes, sedimentos e água. Resíduos de metais pesados em teores potencialmente perigosos de chumbo (Pb), cádmio (Cd), zinco (Zn) e prata (Ag) foram encontrados nos tecidos dos peixes e sedimento, além de cobre (Cu) no sedimento, em estudo mais recente (COTTA, REZENDE & PIOVANI 2006).

### Parque Estadual Intervales (PEI):

O Parque Estadual Intervales é uma Unidade de Conservação Estadual (Decreto 40.135 de 08/06/1995), localizada a 270 km da cidade de São Paulo, abrangendo uma área aproximada de 46.000 hectares, nos municípios de Iporanga, Eldorado Paulista, Sete Barras e Ribeirão Grande, região do Vale do Ribeira, estado de São Paulo. Faz divisa com outras Unidades de Conservação, incluindo o PETAR, formando o contínuo ecológico de Paranapiacaba, um corredor de Mata Atlântica com mais de 120.000 hectares de área (SMA

2006; SALLUN & SALLUN FILHO 2009). Intervalos é considerada a região mais alta do Vale do Alto Ribeira, chegando a 1150 m nas porções mais elevadas (SMA 1996). Nesses locais, o clima é temperado úmido, com temperatura média anual de aproximadamente 17°C (GNASPINI-NETTO & TRAJANO 1992; BICHUETTE 1998).

Na área, predominam filitos, corpos granitoides e metacalcários (mármore), estes dando origem às duas lentes calcárias que atravessam a região (CAMPANHA 2003), correspondentes a uma bifurcação da lente que se estende para Sudeste no Vale do Betari e em Espírito Santo-Caboclos (PETAR), formando um sistema cárstico com várias cavidades subterrâneas.

Embora no interior de ambos os parques seja expressamente proibida a atividade minerária, esta ocorre nos arredores, principalmente em função da presença de bens minerais como areia, argila, calcário, chumbo, filito, turfa, cianita, feldspato, fluorita, ouro, pirita e prata (CPRM 2006; SALLUN & SALLUN FILHO 2009)

## 5.2 Obtenção de material biológico

Os exemplares estudados foram obtidos por empréstimos de coleções científicas do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e Laboratório de Estudos de Eglídeos do Departamento de Zoologia da Universidade de São Paulo (LEEUSP), além de amostragens realizadas nos meses de março, abril, outubro e novembro de 2009 e agosto de 2010 (Fig. 3 e 4). Nesse último caso, as capturas foram feitas com auxílio de redes de mão e armadilhas do tipo covó (Fig. 5), utilizando sardinhas em lata como iscas atrativas. As armadilhas foram colocadas arbitrariamente ao longo do curso dos rios, rente ao fundo entre as rochas, sempre com a boca à jusante e permanecendo assim até o dia posterior. Locais sem registro de ocorrência de espécies de *Aegla* também foram amostrados.

A seguir estão listados os exemplares examinados em coleções científicas (os números referem-se ao registro dos exemplares nas respectivas coleções).

- Rio Betari (PETAR).

*A. schmitti*: MZUSP 8.273; MZUSP 13.625; LEEUSP 010; LEEUSP 026; LEEUSP 259; LEEUSP 260, LEEUSP 261; LEEUSP 262; LEEUSP 263; LEEUSP 266; LEEUSP 267.

- Caverna de Santana (PETAR) (Fig. 6).

*A. schmitti*: MZUSP 7.407; MZUSP 8.990\*; MZUSP 13.570\*; MZUSP 13.572\*; MZUSP 13.577\*; MZUSP 13.623; MZUSP 13.927.

*A. microphthalma*: MZUSP 7.312; MZUSP 7.408; LEEUSP 032; LEEUSP 117; LEEUSP 118.

- Gruta Temimina II (PETAR).

*A. schmitti*: MZUSP 7.321; MZUSP 9.771.

- Gruta Água Suja (PETAR) (Fig. 7).

*A. schmitti*: MZUSP 7.411; MZUSP 7.323.

- Sistema Areias (PETAR).

*A. cavernicola*: MZUSP 7.318; MZUSP 7.412; MZUSP 7.413; MZUSP 8.271; MZUSP 13.547; MZUSP 13.548; MZUSP 15.164; LEEUSP (não tombado, 3 machos).

- Gruta dos Paiva (PEI).

*A. marginata*: MZUSP 9.779; MZUSP 13.537; LEEUSP 007; LEEUSP (não tombado, 1 macho).

*A. leptochela*: MZUSP 7.406; MZUSP 13.530; MZUSP 15.093; LEEUSP 001; LEEUSP 005; LEEUSP 008; LEEUSP 018; LEEUSP 019; LEEUSP 034; LEEUSP 046; LEEUSP 049; LEEUSP 062.

- Gruta Colorida (PEI).

*A. marginata*: MZUSP 9.780; MZUSP 9.781; MZUSP 13.539; MZUSP 15.101; LEEUSP 011 LEEUSP 045.

- Gruta Barra Bonita (PEI).

*A. marginata*: MZUSP 13.541; LEEUSP 025; LEEUSP 057; LEEUSP 064.

- Gruta Água Luminosa (PEI).

*A. marginata*: MZUSP 13.540.

---

\* Exemplos obtidos no rio fora da caverna.

- Fendão (PEI).

*A. marginata*: LEEUSP 050.

- Jane Mansfield (PEI).

*A. marginata*: LEEUSP 065; LEEUSP 066.

Segue uma relação dos rios epígeos e cavernas amostradas no presente estudo. Os números entre parênteses se referem ao número do cadastro da caverna no Cadastro de Cavidades Naturais da Sociedade Brasileira de Espeleologia (SBE 1991) e às coordenadas geográficas, quando disponíveis.

PETAR: Rio Betari <sup>1</sup> (24°31'14"S 48°41'43"O), Temimina I<sup>1</sup> (SP-060 24°23'16,5"S 48°34'16,5"O), Temimina II <sup>1</sup> (SP-061 24°23'S 48°34'O), Caverna de Santana <sup>1 2</sup> (SP-041 24°31'51"S 48°42'06"O), Gruta Água Suja <sup>1</sup> (SP-025 24°31'25"S 48°42'27"O), Ressurgência do Córrego Seco (SP-049 24°57'85,3"S 48°62'86,5"O), Ressurgência das Areias de Água Quente<sup>3</sup> (SP-016 24°33'51"S 48°40'14"O), Gruta do Betari de Baixo (SP-47 24°34'S 48°37'O), Gruta do Alambari de Baixo (SP-12 24°33'24"S 48°39'55"O), Caverna do Morro do Couto (SP-20 24°31'58"S 48°41'55"O), Gruta das Aranhas (SP-113 24°26'S 48°35'O), Caverna Água Sumida (SP-193 24°27'42"S 48°36'44"O), Gruta Desmoronada (SP-074 24°24'16"S 48°32'44"O) e Gruta Ouro Grosso (SP-054 24°33'S 48°41'O).

PEI: Rio Pilões (24°48'78"S 48°48'30"O), Rio da Bocaina<sup>4</sup> (24°16'20"S 48°27'15"O), Gruta Colorida<sup>4</sup> (SP-129; 24°16'13"S; 48°25'09"O), Gruta do Fendão<sup>4</sup> (SP-239; 24°16'11"S; 48°26'55"O), Gruta da Pescaria (SP-10 24°27'7.5"S 48°33'3.5"O), Gruta Jane Mansfield <sup>4</sup> (SP-237 24°16'S 48°27'O), Gruta do Fogo (SP-236 24°16'S 48°26' O), Gruta do Minotauro (SP-247 24°15'S 48°27'O), Gruta do Tatu <sup>4</sup> (SP-233 24°16'S 48°25' O).

Em sequência, os indivíduos obtidos foram sacrificados sob refrigeração e conservados em álcool 70%, etiquetados individualmente e mensurados quanto ao comprimento da carapaça (incluindo o rosto), maior largura da carapaça, comprimento pré-cervical (incluindo o rosto), largura pré-cervical e comprimento e altura de ambos os quelípodos (nos exemplares coletados) (Fig. 8). As medidas foram tomadas com paquímetro

<sup>1</sup> Registro de ocorrência de *Aegla schmitti* segundo Bond-Buckup & Buckup 1994; Morachiolli 1994 e Rocha & Bueno 2004.

<sup>2</sup> Registro de ocorrência de *A. microphthalmalma* (Op. cit.).

<sup>3</sup> Ocorrência de *A. cavernicola* (Op. cit.).

<sup>4</sup> Ocorrência de *A. marginata* (Op. cit.).

digital de precisão 0,01 mm. Já os exemplares provenientes de coleções foram identificados com o número de tombo e sexo na própria fotografia (uma vez que não poderiam ser individualizados em outros frascos).

A identificação dos espécimes coletados foi realizada com base em Bond-Buckup & Buckup (1994) e posteriormente confirmada pelo professor Dr. Sérgio L. S. Bueno, do Laboratório de Estudos de Eglídeos da Universidade de São Paulo (LEEUSP). Os únicos indivíduos de espécies troglóbias obtidos eram provenientes das coleções e, mesmo assim, em número insuficiente para análises morfométricas. Por esse motivo, esta dissertação contemplou somente a espécie *Aegla schmitti* nas análises de morfometria geométrica.

De acordo com Teodósio (2007), determinou-se para *A. schmitti* que indivíduos adultos machos possuíam comprimento de carapaça a partir de 17,5 mm e as fêmeas adultas a partir de 18,1 mm. No caso de *A. marginata*, consideramos como juvenis as fêmeas sem pleópodos desenvolvidos; os machos foram classificados como juvenis ou adultos de acordo com o tamanho aproximado e aparência geral. Essa distinção é complicada nesse caso, já que não há estudos determinando tamanho de maturidade sexual da espécie e não capturamos nenhuma fêmea ovígera.

Os espécimes obtidos foram fotografados com câmera marca SONY modelo DSC-H7 com 8.0 *megapixels* de resolução, alinhados ao plano da câmera pela região dorsal por meio de pedaços de E. V. A. (etileno-acetato de vinila) inseridos sob o pléon. Somente indivíduos adultos foram analisados.

### 5.3 Análise dos dados:

As variações na forma do cefalotórax de *A. schmitti* foram estudadas por meio de morfometria geométrica (BOOKSTEIN 1991; ROHLF & MARCUS 1993; MONTEIRO & REIS 1999; ADAMS, ROHLF & SLICE 2004; ZELDITCH et al. 2004), um conjunto de técnicas baseadas na análise do contorno de estruturas ou do estabelecimento de pontos anatômicos de referência que possam ser reconhecidos como os mesmos (homólogos) em todos os espécimes estudados (MONTEIRO & REIS 1999; ZELDITCH et al. 2004).

Forma é definida como toda informação geométrica que permanece quando localização escala e efeitos rotacionais são removidos de um objeto (KENDALL 1977; ZELDITCH et al. 2004). As técnicas de morfometria geométrica permitem a remoção desses descritores indesejáveis das variáveis de forma e, assim, a obtenção de informações sobre a

localização espacial da variação morfológica (ADAMS, ROHLF & SLICE 2004; ZELDITCH et al. 2004).

Métodos comumente utilizados em morfometria baseiam-se na covariação entre pares de medidas lineares (ASTÚA DE MORAES 2004), com a desvantagem de conter informações sobre tamanho e perder informações sobre as relações espaciais entre medidas (ZELDITCH et al. 2004). Os métodos de morfometria geométrica capturam maiores informações sobre a forma dos organismos do que poderia ser obtido por meio de morfometria tradicional (sensu MARCUS 1990) (ROHLF 2003; ASTÚA DE MORAES 2004).

A técnica escolhida para o presente estudo se baseia em pontos de referência ou marcos anatômicos homólogos, selecionados pela sua capacidade de cobrir a forma do cefalotórax dos organismos fotografados (HINGST-ZAHER & ASTÚA DE MORAES, 2003). Nas análises baseadas em pontos de referência, os marcos anatômicos escolhidos, em duas ou três dimensões, geram coordenadas cartesianas. Estas ainda contêm informações não relacionadas à forma, que devem ser removidas matematicamente (ADAMS, ROHLF & SLICE 2004) antes que as análises de forma sejam realizadas nessas coordenadas.

Os marcos selecionados são do tipo I (justaposição de tecidos), II (pontos de máxima curvatura) e III (pontos extremos) segundo a classificação de Bookstein (1991) e são coplanares. A escolha dos pontos ocorreu de acordo com sua capacidade de determinar o contorno da forma geral do cefalotórax e por sua utilização em outros trabalhos com Aeglidæ (GIRI & COLLINS 2004; GIRI & LOY 2008).

O programa TPSUtil versão 1.44 (ROHLF 2009) foi utilizado para conversão dos arquivos de imagens para o formato “.tps”. Para a obtenção das coordenadas homólogas, foi utilizado o programa TPSDig 2 versão 2.12 (ROHLF 2008 a). Durante a marcação dos pontos, também foi realizada a transformação dos píxeis da fotografia em milímetros por meio da geração de um fator de escala para cada imagem usando, para isso, uma escala inserida na fotografia. Todas as análises posteriores foram feitas utilizando o fator de escala.

Devido à utilização de marcos anatômicos do tipo III, que podem ser deficientes quanto à homologia (MONTEIRO & REIS 1999), verificamos a repetibilidade dos marcos anatômicos escolhidos, ou seja, se estes podem ser marcados e remarcados sem erros (ZELDITCH et al. 2004). A repetibilidade foi testada por meio da repetição por três vezes da marcação de pontos em 30 fotografias e Análise de Variância (ANOVA) nas coordenadas dos espécimes alinhados por Superposição Ortogonal pelos Quadrados Mínimos (GPA) (BOOKSTEIN 1986).

Para reduzir a influência de variações devido à assimetria dos espécimes e evitar a inflação dos graus de liberdade, já que as coordenadas de ambos os lados não são independentes (ASTÚA DE MORAES 2004; ZELDITCH et al. 2004), foi realizada a simetrização de cada configuração de pontos segundo descrito em Mardia, Bookstein & Moreton (2000), por meio da multiplicação de cada coordenada dos pontos  $x$  por  $-1$ . A seguir, calcula-se uma configuração de consenso entre os marcos anatômicos originais e os refletidos sobrepostos por Superposição Ortogonal pelos Quadrados Mínimos (BOOKSTEIN 1986), para cada espécime. Esses procedimentos foram realizados no programa R versão 2.11 (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009), e as análises subseqüentes foram feitas utilizando as coordenadas transformadas.

Os métodos de morfometria geométrica se baseiam no espaço da forma de Kendall, um espaço bidimensional curvo onde cada forma (o conjunto de marcos anatômicos em cada espécime estudado, chamada de configuração de pontos) é representada por um ponto após a remoção dos parâmetros indesejáveis feita por um método de superposição. No espaço da forma de Kendall, as distâncias são geodésicas, geralmente medidas em radianos, chamadas Distância de Procrustes (MONTEIRO & REIS 1999; ASTÚA DE MORAES 2004).

Para serem analisadas por métodos estatísticos lineares, as configurações são aproximadas para distâncias euclidianas (MONTEIRO & REIS 1999) por meio da projeção das distâncias de procrustes em um espaço linear tangente, de modo que as distâncias lineares entre pares de pontos correspondam a projeções das distâncias de procrustes originais. Na prática, se a variação de forma for pequena, as projeções no espaço linear podem ser boas estimativas das distâncias de Procrustes (ASTÚA DE MORAES 2004). As análises estatísticas aplicadas são necessariamente multivariadas em função de a forma do organismo ser representada por toda a configuração de pontos (ZELDITCH et al. 2004).

A remoção dos parâmetros indesejáveis e a representação dos espécimes no espaço da forma de Kendall são feitos por meio de diferentes métodos de superposição de marcos anatômicos. Neste trabalho, utilizamos o programa TPSRelw versão 1.46 (ROHLF 2008 b) para esse fim, e o método escolhido foi Superposição Ortogonal pelos Quadrados Mínimos (BOOKSTEIN 1986).

De acordo com esse método, o centro da configuração de pontos de cada espécime é calculado (= centroide, vetor correspondente às médias das coordenadas  $X$  e  $Y$  de todos os pontos marcados em cada fotografia, ZELDITCH et al. 2004). O tamanho de centroide (definidos pela raiz quadrada da soma ao quadrado das distâncias entre os marcos anatômicos

e o centroide) (MONTEIRO & REIS 1999) também é calculado, originando uma medida de tamanho que é matematicamente independente da forma (ZELDITCH et al. 2004).

A sobreposição de marcos anatômicos ocorre por meio de iterações repetidas. Uma das formas é escolhida aleatoriamente, e todas as demais são sobrepostas a ela pelo centroide (translação), colocadas em escala igualando-se os tamanhos de centroide (escalamento) e rotacionadas até que sejam minimizados os quadrados das distâncias entre os pontos correspondentes entre cada forma e a referência (rotação) (GOWER 1975; ROHLF & SLICE 1990; ADAMS, ROHLF & SLICE 2004; ASTÚA DE MORAES, 2004).

A média de todas essas configurações é calculada, e o processo de superposição é repetido, utilizando essa nova média calculada até que não ocorra mais nenhuma diminuição significativa nas distâncias de procrustes entre as configurações. A configuração média obtida por esse processo é chamada de Referência, Configuração Tangente ou Configuração de Consenso, e os espécimes são comparados entre si em relação a ela. Essa configuração determina o ponto de tangência entre o espaço da forma de Kendall e o subespaço linear. (MONTEIRO & REIS 1999; ASTÚA DE MORAES 2004).

No mesmo programa (TPSRelw versão 1.46, ROHLF 2008 b), é construída uma matriz com as distâncias entre os pontos de referência correspondentes utilizados, denominada matriz da energia de deformação, que delimita as deformações possíveis para a forma de referência ao descrever um subespaço tangente linear onde serão estudadas as variações de forma. Os autovetores dessa matriz são chamados deformações principais. Cada autovetor descreve uma possível mudança de forma aplicável à referência (MONTEIRO & REIS 1999).

Em sequência, as coordenadas dos marcos anatômicos de cada indivíduo são projetadas nas deformações principais, a fim de serem comparadas com a forma de referência. Essa projeção origina escores ou pesos que ponderam quanto de cada deformação principal é necessário para realizar a deformação da referência no alvo. Aos vetores de pesos denominamos deformações parciais, que são características de cada indivíduo, e o conjunto dessas deformações parciais resulta na matriz W (matriz de pesos), que é a matriz dos escores de deformações parciais, onde é possível a aplicação de estatística multivariada (MONTEIRO & REIS 1999; ASTÚA DE MORAES 2004).

Uma Análise de Deformações Relativas é realizada, utilizando o mesmo programa. Essa análise é semelhante a uma Análise de Componentes Principais nos escores de deformações parciais (matriz W), mas possibilita a representação gráfica das deformações possíveis para a forma de referência e, ainda, permite alterar o peso exponencial usado no

cálculo da matriz  $W$  e das deformações parciais, denominado parâmetro  $\alpha$ . Valores de  $\alpha = 1$  dão mais ênfase a transformações que ocorrem em larga escala espacial e valores de  $\alpha = -1$  a transformações localizadas. Para este estudo, optamos por manter o valor de  $\alpha = 0$ , em que todos os marcos anatômicos possuem o mesmo peso, ideal para investigações exploratórias (ROHLF 1993; MONTEIRO & REIS 1999; ASTÚA DE MORAES 2004).

Posteriormente, os dados das deformações relativas (matriz  $S'$ ) foram submetidos à NPMANOVA (ANDERSON 2001). Tanto a matriz  $W$  quanto a matriz  $S'$  podem analisadas como variáveis comuns (MONTEIRO & REIS 1999), mas utilizamos a matriz  $S'$  em consequência do procedimento de simetrização, em que informações redundantes geram autovalores iguais a zero. Por esse motivo, selecionamos apenas os autovalores diferentes de zero nas análises. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Past versão 2.01 (HAMMER et al. 2001).

Com objetivo de facilitar a visualização das diferenças relativas entre as populações avaliadas, utilizamos o método de flexão de placas finas, baseado na metáfora física da flexão de uma placa de metal de espessura desprezível e infinitamente grande (BOOKSTEIN 1989; ZELDITCH et al. 2004). Sobre a placa são marcados os pontos da configuração de referência e abaixo dela está a configuração alvo, na qual pretendemos transformar a referência (MONTEIRO & REIS, 1999). A função de deformações mapeia os pontos correspondentes e deforma a placa com a referência em relação à configuração alvo, permitindo a visualização de transformações entre marcos anatômicos por meio de grades de deformações inspiradas em Thompson (1917) (ZELDITCH et al. 2004; ASTÚA DE MORAES 2004). As análises de deformações foram feitas no programa Morpheus versão beta (SLICE 2002), utilizando as configurações de consenso das populações a serem comparadas.

Todos os programas de computador utilizados para as análises estão disponíveis gratuitamente na rede mundial de computadores e encontram-se citados na seção de referências.

## 6 REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. **Paleoclimas**, São Paulo, v. 3, p. 1-9.
- ADAMS, D. C.; ROHLF F. J.; SLICE D. E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. **Italian Journal of Zoology**, Trieste, v. 71, p. 5-16.
- ANDERSON, M. J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, Sydney, v. 26, p. 32-46.
- ASTÚA DE MORAES, D. 2004. **Evolução morfológica do crânio e elementos pós-cranianos dos marsupiais americanos (Didelphimorphia, Paucituberculata, Microbioteria)**. 274 p. Tese (Doutorado em Zoologia), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BAHAMONDE, N.; LÓPEZ, M. T. 1961. Estudios biológicos en la población de *Aegla laevis laevis* (Latreille) de El Monte. **Investigaciones Zoológicas Chilenas**, Santiago, v. 7, p. 19-58.
- BARR Jr, T. C. 1967. Observations on the ecology of caves. **The American Naturalist**, Chicago, v. 101, n. 922, p. 475-491.
- BARR Jr, T. C. 1968. Cave ecology and the evolution of troglobites. **Evolutionary Biology**, New York, v. 2, p. 35-102.
- BARR Jr., T. C.; HOLSINGER, J. R. 1985. Speciation in cave faunas. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 16, p. 313-337.
- BICHUETTE, M. E. 1998. **Distribuição e biologia de gastrópodes de água doce, gênero *Potamolithus*, no Vale do Alto Ribeira, São Paulo (Mollusca: Gastropoda: Hydrobiidae)**. 127 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BICHUETTE, M. E.; TRAJANO, E. 2003. Epigeal and subterranean ichthyofauna from the São Domingos Karst area, Upper Tocantins River Basin, central Brazil. **Journal of Fish Biology**, British Isles, v. 63, p. 1100-1121.
- BICHUETTE, M. E.; TRAJANO, E. 2005. A new cave species of *Rhamdia* (Siluriformes: Heptapteridae) from Serra do Ramalho, Northeastern Brazil, with notes on ecology and behavior. **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 3, n.4, p. 587-595.
- BOOKSTEIN, F. L. 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. **Statistical Science**, Beachwood, v. 1, p. 181-222.

- BOOKSTEIN, F. L. 1989. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, Los Alamitos, v. 11, p. 567–585.
- BOOKSTEIN, F. L. 1991. **Morphometric tools for landmark data**. New York: Cambridge University Press. 435 p.
- BOND-BUCKUP, G.; BUCKUP, L. 1994. A Família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). **Arquivos de Zoologia do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1-346.
- BOND-BUCKUP, G.; JARA, C. G.; PÉREZ-LOSADA, M.; BUCKUP, L.; CRANDALL, K. A. 2008. Global diversity of crabs (Aeglidae: Anomura: Decapoda) in freshwater. **Hydrobiologia**, Salt Lake, v. 595, p. 267-273.
- BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM). 2006. **Geologia e Recursos Minerais do Estado de São Paulo: Sistemas de Informações Geográficas (SIG). Programa Geologia do Brasil: Integração, Atualização e Difusão de Dados da Geologia do Brasil, Mapas Geológicos Estaduais escala 1:750000**. Brasília, CD-ROM.
- BUENO, A. A. P.; BOND-BUCKUP, G. 1996. Os estágios juvenis iniciais de *Aegla violacea* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). **Nauplius**, Rio Grande, v. 4, p. 39-47.
- BUENO, A. A. P.; BOND-BUCKUP, G. 2004. Natural diet of *Aegla platensis* Schmitt and *Aegla ligulata*, Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Decapoda, Aeglidae) from Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, Rio Claro, 16(2): 115-127.
- BUENO, S. L. S.; SHIMIZU, R. M. 2008. Reproductive biology and functional maturity in females of *Aegla franca* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 24, n. 4, p. 652-662.
- CAMARGO, A. L. 2010. Duas novas espécies de eglídeos descobertas em Bulhas d'Água, São Paulo. **O Carste**, Belo Horizonte, v. 22, p. 12-14.
- CAMPANHA, G. A. C. 2003. **O papel do sistema de zonas de cisalhamento transcorrentes na configuração da porção meridional da Faixa Ribeira**. 138 p. Tese de livre docência, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CASTRO-SOUZA, T.; BOND-BUCKUP, G. 2004. O nicho trófico de duas espécies simpátricas de *Aegla* Leach (Crustacea, Aeglidae) no tributário da Bacia Hidrográfica do Rio Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 805-813.

- COOPER M. R. 1969. Sensory specialization and allometric growth in cavernicolous crayfishes. In: Congr s International de Sp l ologie, 4, Ljubljana, **Actes Tiskarna Tone Tomsic**, Ljubljana (Slovenia) v. 4/5, p. 203-208.
- COTTA, J. A.; REZENDE, M. O. O.; PIOVANI, M. R. 2006. Avalia o do teor de metais em sedimento do Rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 40-45.
- CRUZ Jr., F. W.; BURNS, S. J.; KARMANN, I.; SHARP, W. D.; VUILLE, M.; CARDOSO, A. O.; FERRARI, J. A.; DIAS, P. L. S.; VIANA Jr. O. 2005. Insolation-driven changes in atmospheric circulation over the past 116,000 years in subtropical Brazil. **Nature**, Hampshire, v. 434, p. 63-66. doi:10.1038/nature03365.
- CULLINGFORD, C. H. D. 1962. Cave fauna and flora. In: \_\_\_\_\_. **British Caving, an introduction to speleology**. 2. ed. London: Routledge and Kegan Paul, p. 347-389.
- CULVER, D. C. 1982. **Cave life. Evolution and ecology**. Cambridge: Harvard Press, 189 p.
- CULVER, D. C.; PIPAN, T. 2009. **The Biology of caves and other subterranean habitats**. Oxford (UK): Oxford University Press, 256 p.
- FELDMANN, R. M. 1984. *Haumuriaegla glaessneri* n. gen. and sp. (Decapoda: Anomura: Aeglidae) from Haumurian (Late Cretaceous) rocks near Cheviot, New Zealand. **New Zealand Journal of Geology and Geophysics**, New Zealand, v. 27, p. 379-385.
- FELDMANN, R. M.; VEGA, F. J.; APPLGATE, S.P.; BISHOP, G. A. 1998. Early cretaceous arthropods from the Tlay a formation at Tepexi de Rodríguez, Puebla, México. **Journal of Paleontology**, Boulder, v. 72, p. 79-90.
- GALAN, C. 2000. **Biodiversidad, cambio y evolución de la fauna cavernícola del País Vasco**. San Sebastián: Sociedad de Ciencias Arazandi, 48 p.
- GENTHNER, C.; FERRARI, J. C.; KARMANN, I. 2003. Identifica o das áreas de Recarga de fontes cársticas com o uso do traçador Rodamina Fwt ( rea carbonática Lajeado – Bombas, Iporanga-SP). **Revista do Instituto Geológico**, São Paulo, v. 24, n.1-2, p. 11-23.
- GIATTI, L. L. 2004. **Ecoturismo e impactos ambientais na região de Iporanga - Vale do Ribeira - São Paulo**. 225p. Tese (Doutorado em Saúde Ambiental). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GIRI, F.; COLLINS, P. A. 2004. A geometric morphometric analysis of two sympatric species of the family Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura) from the La Plata basin. **Italian Journal of Zoology**, Trieste, v. 71, p. 85-88. doi:10.1080/11250000409356555.

- GIRI, F.; LOY, A. 2008. Size and shape variation of two freshwater crabs in Argentinean Patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 28, n. 1, p. 37–45.
- GNASPINI-NETTO, P.; TRAJANO, E. 1992. Província Espeleológica do Vale do Ribeira, região da Fazenda Intervales, SP: exploração, topografia e biologia. **Espeleo-Tema**, Campinas, v. 16, p. 41-74.
- GOWER, J. C. 1975. Generalized Procrustes Analysis. **Psychometrika**, Greensboro, v. 40, p. 33-51.
- GUTJAHR, M. R. 1993. **Critérios relacionados à compartimentação climática de bacias hidrográficas: a bacia do rio Ribeira de Iguape**. 90 p. Dissertação (Mestrado em Geografia), Departamento de Geografia, Faculdade de Filosofia Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. 2001. PAST - Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, Columbia, v. 4, n.1, p.1-9.
- HINGST-ZAHER, E.; ASTÚA DE MORAES, D. A. 2003. Consequences of the choice of landmarks for visualization and biological interpretation of shape changes in 2-D geometric morphometrics: a study case. In: XVI Brazilian Symposium on Computer Graphics and Image Processing – SIBGRAPI, São Carlos, 2003. **Proceedings of the XVI Brazilian Symposium on Computer Graphics and Image Processing (Cd-Rom)**. Los Alamitos, IEEE Computer Society Press, 8p.
- HOWARTH, F. G. 1979. The zoogeography of specialized cave animals: a bioclimatic model. **Evolution**, Oklahoma, v. 34, n. 2, p. 394-406.
- INTERNATIONAL UNION FOR THE CONSERVATION OF NATURE (IUCN), 2001. **IUCN Red List Categories: Version 3.1**. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland, 32 p.
- JEFFERY, W. R.; STRICKLER, A. G.; YAMAMOTO, Y. 2003. To see or not to see: evolution of eye degeneration in Mexican blind cavefish. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford v. 43, p. 531–541. doi: 10.1093/icb/43.4.531.
- JUBERTHIE, C. 2000. The diversity of the karstic and pseudokarstic hypogean habitats in the world. In: Wilkens, H.; Culver, D.C.; Humphreys, W. F. **Ecosystems of the World 30. Subterranean Ecosystems**. Amsterdam, Elsevier, 2000. p. 17-39.
- JUBERTHIE, C.; DECU, V. 1994. Structure et diversité du domaine souterrain: particularités des habitats et adaptations des espèces. In: \_\_\_\_\_. **Encyclopaedia Biospeologica I**, Moulis-Bucarest: Société de Biospéléologie, p. 5-22.

- KAESTNER, A. 1980. **Invertebrate zoology**. Huntington: Robert E. Krieger, 1980. v. 3, 523p.
- KARMANN, I. 1994. **Evolução e dinâmica atual do sistema cárstico do Alto Vale do Rio Ribeira de Iguape, sudeste do Estado de São Paulo**. 241 p. Tese (Doutorado em Geologia), Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- KARMANN, I.; FERRARI, J. A. 2002. Carste e cavernas do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), SP. Sistemas de cavernas com paisagens subterrâneas únicas. In: SCHOBENHAUS, C.; CAMPOS, D. A.; QUEIROZ, E. T.; WINGE, M.; BERBERT-BORN, M. L. C. **Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil**. Brasília: DNPM/CPRM – Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleontológicos (SIGEP), p. 401-413.
- KARMANN, I.; SÁNCHEZ, L. E. 1979. Distribuição das rochas carbonáticas e províncias espeleológicas do Brasil. **Espeleo-Tema**, Campinas, v. 13, p. 105-167.
- KENDALL, D. 1977. The diffusion of shape. **Advances in Applied Probability**, New York, v. 9, p. 428-430.
- KÖPPEN, W. 1948. **Climatología**. Mexico, Fondo de cultura economica, 478 p.
- LEDRU, M. P. 1993. Late Quaternary environmental and climatic changes in Central Brazil. **Quaternary Research**, Washington, v. 39, p. 90-98.
- LINO, C. F. 2001. **Cavernas: o fascinante Brasil subterrâneo**. 2. ed. São Paulo: Gaia, 288 p.
- LÓPEZ-GRECO, L. S.; VIAU, V.; LAVOLPE, M.; BOND-BUCKUP, G.; RODRIGUEZ, E. M. 2004. Juvenile hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (Anomura: Aeglidae). **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 24, n. 2, p. 309-313.
- LOWE, D. J.; GUNN, J. 1997. Carbonate speleogenesis: an inception horizon hypothesis. **Acta Carsologica**, Ljubljana, v. 26, p. 457-488.
- LUNDBERG, J. G.; MARSHALL, L. G.; GUERRERO, J.; HORTON, B.; MALABARBA, M. C. S. L.; WESSELING, F. 1998. The stage for neotropical fish diversification: A history of tropical South American rivers. In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS.
- MAGALHÃES, C.; WALKER, I. 1988. Larval development and ecological distribution of central Amazonian Palaemonid shrimps (Decapoda: Caridea). **Crustaceana**, Leiden, v. 55, n. 3, p. 279-292.
- MAIA, K. P.; TAKANO, B. F.; GUIL, A. L. F.; BUENO, S. L. S.; TRAJANO, E. 2009. Ecologia populacional e conservação de crustáceos eglídeos (Decapoda: Aeglidae) na

área cárstica do Alto Ribeira, São Paulo. In: **Encontro Brasileiro de Estudos do Carste – Carste**, 3, São Carlos, Programação e livro de resumos, Redespeleo Brasil e Universidade Federal de São Carlos, p. 45-46.

MAGUIRE Jr, B. 1961. Regressive evolution in cave animals and its mechanism. **Texas Journal of Science**, Texas, v. 13, p. 363-370.

MARCUS, L. F. 1990. Traditional morphometrics. In: ROHLF, F.J.; BOOKSTEIN, F. L. **Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop**. Michigan: University of Michigan Museum of Zoology, p. 77-122.

MARDIA, K. V.; BOOKSTEIN, F. L.; MORETON, I. J. 2000. Statistical assesment of bilateral symmetry of shape. **Biometrika**, Oxford, v. 87, p. 285-300.

MARTIN, J. W.; ABELE, L. G. 1988. External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea: Anomura: Aeglidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, Washington, v. 453, p. 1-46.

MEJÍA-ORTIZ, L. M.; HARTNOLL, R. G.; LÓPEZ-MEJÍA, M. 2006. Progressive troglomorphism of ambulatory and sensory appendages in three Mexican cave decapods. **Journal of Natural History**, London, v. 40, n. 5-6, p. 255-264.

MEJÍA-ORTIZ, L. M.; LÓPEZ-MEJÍA, M. 2005. Are there adaptation levels to cave life in crayfish? **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 25, n. 4, p. 593-597.

MELFI, A. J.; BITTENCOURT, I.; CORDANI, U. G. 1965. Reconhecimento fotogeológico de parte do Grupo Açungui. **Bragantia – Boletim Científico do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 24, n. 34, p. 447-474.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. 1999. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirão Preto: Holos, 198 p.

MORAES, R. 2003. **Avaliação de Risco Ecológico no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) Brasil**. Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden, 34 p., Relatório Técnico.

MORACHIOLLI, N. 1994. **Estudo da biologia de *Aegla* spp. cavernícolas do Vale do Alto Ribeira, São Paulo (Crustacea: Anomura: Aeglidae)**. 148 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

MORRONE, J. J.; LOPRETTO, E. C. 1994. Distributional patterns of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) in South America: A panbiogeographic approach. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 21, p. 97-109.

PALMER, A. N. 2007. **Cave geology**. Dayton: Cave Books, 454 p.

- PELLEGATTI-FRANCO, F. 1997. **Estudo da história natural do grilo cavernícola *Strinatia brevipennis* (Ensifera: phalangopsidae) em laboratório.** 66 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PÉREZ-LOSADA, M.; BOND-BUCKUP, G.; JARA, C.; CRANDALL, K. 2004. Molecular systematics and biogeography of the southern South American freshwater “Crabs” *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. **Systematic Biology**, Oxford, v. 53, n. 5, p. 767-780.
- POULSON, T. L. 1963. Cave adaptation in Amblyopsidae fishes. **American Midland Naturalist**, Notre Dame, v. 70, n. 2, p. 257-290.
- POULSON, T. L. 1986. Evolutionary reduction by neutral mutations: Plausibility arguments and data from Amblyopsid fishes and Linyphid spiders. **Bulletin of the National Speleological Society**, Huntsville, v. 47, n. 2, p. 109-117.
- POULSON, T. L.; WHITE, W. B. 1969. The cave environment. **Science**, Washington/Cambridge, v. 3897, n. 165, p. 971-980.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from: <http://www.R-project.org>. Acesso: Abril/2010.
- RACOVITZA, E. G. 1907. Essai sur les problèmes biospéologiques. **Archives de Zoologie Experimentale et Générale**, Paris, v. 36, p. 371-488.
- ROCHA, S. S.; BUENO, S. L. S. 2004. Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale do Ribeira de Iguape e Rios Costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 1001-1010.
- ROCHA, S. S.; SHIMIZU, R. M.; BUENO, S. L. S. 2010. Reproductive biology in females of *Aegla strinatii* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 30, n. 4, p. 589-596.
- RODRIGUES, W.; HEBLING, N. J. 1978. Estudos biológicos em *Aegla perobae* Hebling & Rodrigues, 1977 (Decapoda, Anomura). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 38, n. 2, p. 383-390.
- ROMERO, A.; GREEN, S. M. 2005. The end of regressive evolution: examining and interpreting the evidence from cave fishes. **Journal of Fish Biology**, British Isles, v. 67, p. 3-32. doi:10.1111/j.1095-8649.2005.00776.x
- ROHLF, F. J. 1993. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. In: MARCUS, L. F.; BELLO, E.; GARCIA-VALDECASAS, A. **Contributions to Morphometrics**. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), p. 131-159, v. 8.

- ROHLF, F. J. 2003. Bias and error in estimates of mean shape in geometric morphometrics. **Journal of Human Evolution**, London, v. 44, p. 665–683. doi:10.1016/S0047-2484(03)00047-2.
- ROHLF, F. J. 2008a. **TPSDig 2 versão 2.12**. Programa disponível em: <http://www.life.bio.sunysb.edu.morph/software.html>. Acesso: Junho/2010.
- ROHLF, F. J. 2008b. **TPS Relw versão 1.46**. Programa disponível em: <http://www.life.bio.sunysb.edu.morph/software.html>. Acesso: Junho/2010.
- ROHLF, F. J. 2009. **TPSUtil versão 1.44**. Programa disponível em: <http://www.life.bio.sunysb.edu.morph/software.html>. Acesso: Junho/2010.
- ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 8, p.129-132.
- ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. **Systematic Zoology**, Lawrence, v. 39, p. 40 -59.
- SALLUN, A. E. M.; SALLUN FILHO, W. 2009. Geologia em Planos de Manejo – Subsídios para Zoneamento Ambiental do PEI – SP. **Geociências**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 91-107.
- SÃO PAULO (Estado). Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). 1991. **Avaliação da Qualidade Ambiental do Rio Ribeira de Iguape - Considerações preliminares**. São Paulo, 54p.
- SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (SMA). 1996. **Atlas das unidades de conservação ambiental do Estado de São Paulo, parte 1, Litoral**. São Paulo, Metalivros, 30 p.
- SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (SMA). 1997. **Macrozoneamento do Vale do Ribeira. Proposta Preliminar para Discussão Pública**. São Paulo, 55 p.
- SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (SMA). 2006. **Áreas especialmente protegidas**. São Paulo, 495 p.
- SCHINER, J. R. 1854. Fauna der Adelsberger-, Lueger- und Magdalen-Grotte. **Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien**, Áustria, v. 3, p.1-40.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE ESPELEOLOGIA (SBE). 1991. **Cadastro nacional de cavidades naturais**. Campinas: SBE, 221p.

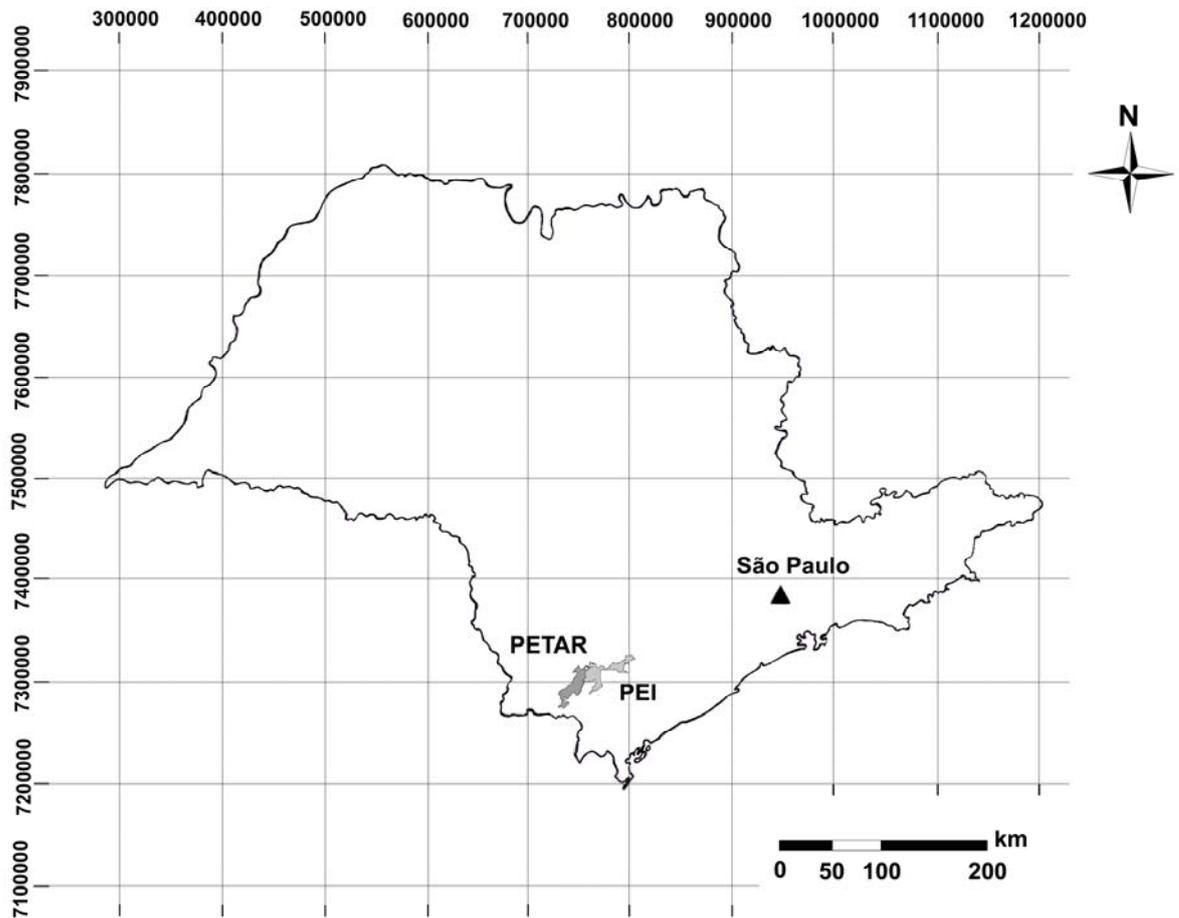
- SLICE, D. E. 2002. **Morpheus versão beta**. Programa disponível em: <http://www.life.bio.sunysb.edu.morph/software.html>. Acesso: Setembro/2010.
- TEODÓSIO, E. A. O. 2007. **Biologia de *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Crustacea, Anomura, Aeglidae) em reservatórios dos Mananciais da Serra, Piraquara, Estado do Paraná**. 62 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- TEODÓSIO, E. A. O.; MASUNARI, S. 2009. Estrutura populacional de *Aegla schmitti* (Crustacea: Anomura: Aeglidae) nos reservatórios dos Mananciais da Serra, Piraquara, Paraná, Brasil. **Zoologia**, Curitiba, v. 26, n. 1, p. 19-24. doi: 10.1590/S1984-46702009000100004.
- THOMPSON, D. W. 1917. **On growth and form**. Cambridge University Press: Cambridge, 756 p.
- TRAJANO, E. 1987. **Biologia do bagre cavernícola, *Pimelodella kronei* e de seu provável ancestral, *Pimelodella transitoria* (Siluriformes, Pimelodidae)**. São Paulo, 136 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- TRAJANO, E. 1991. Population ecology of *Pimelodella kronei*, troglobitic catfish from southeastern Brazil (Siluriformes: Pimelodidae). **Environmental Biology of Fishes**, Netherlands, v. 30, p. 407-421.
- TRAJANO, E. 1995. Evolution of tropical troglobites: applicability of the model of Quaternary climatic fluctuations. **Mémoires de Biospéologie**, Moulis, v. 23, p. 203-209.
- TRAJANO, E.; BRITSKI, H. A. 1992. *Pimelodella kronei* (Ribeiro, 1907) e seu sinônimo *Caecorhamdella brasiliensis* Borodin, 1927: morfologia externa, taxonomia e evolução (Teleostomi, Siluriformes). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 12, p. 53-89.
- TREVISAN, A.; MASUNARI, S. 2010. Geographical distribution of *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Decapoda Anomura Aeglidae) and morphometric variations in male populations from Paraná State, Brazil. **Nauplius**, Porto Alegre, v. 18, n. 1, p. 45-55.
- WEBER, A.; ALLEGRUCCI, G.; SBORDONI, V. 2003. *Rhamdia laluchensis*, a new species of troglobitic catfish (Siluriformes: Pimelodidae) from Chiapas, Mexico. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, München, v. 14, n. 3, p. 273-280.
- WILKENS, H. 1986. The tempo of regressive evolution: studies of the eye reduction in stygobiont fishes and decapod crustaceans of the Gulf Coast and West Atlantic region. **Stygologia**, Leiden, v. 2, n. 1-2, p. 131-143.
- WILKENS, H. 1988. Evolution and genetics of epigeal and cave *Astianax fasciatus* (Characidae: Pisces). **Evolutionary Biology**, New York, v. 23, p. 271-267.

WILKENS, H. 2010. Genes, modules, and the evolution of cave fish. **Heredity**, Edinburgh, v. 105, p. 413-422. doi:10.1038/hdy.2009.184

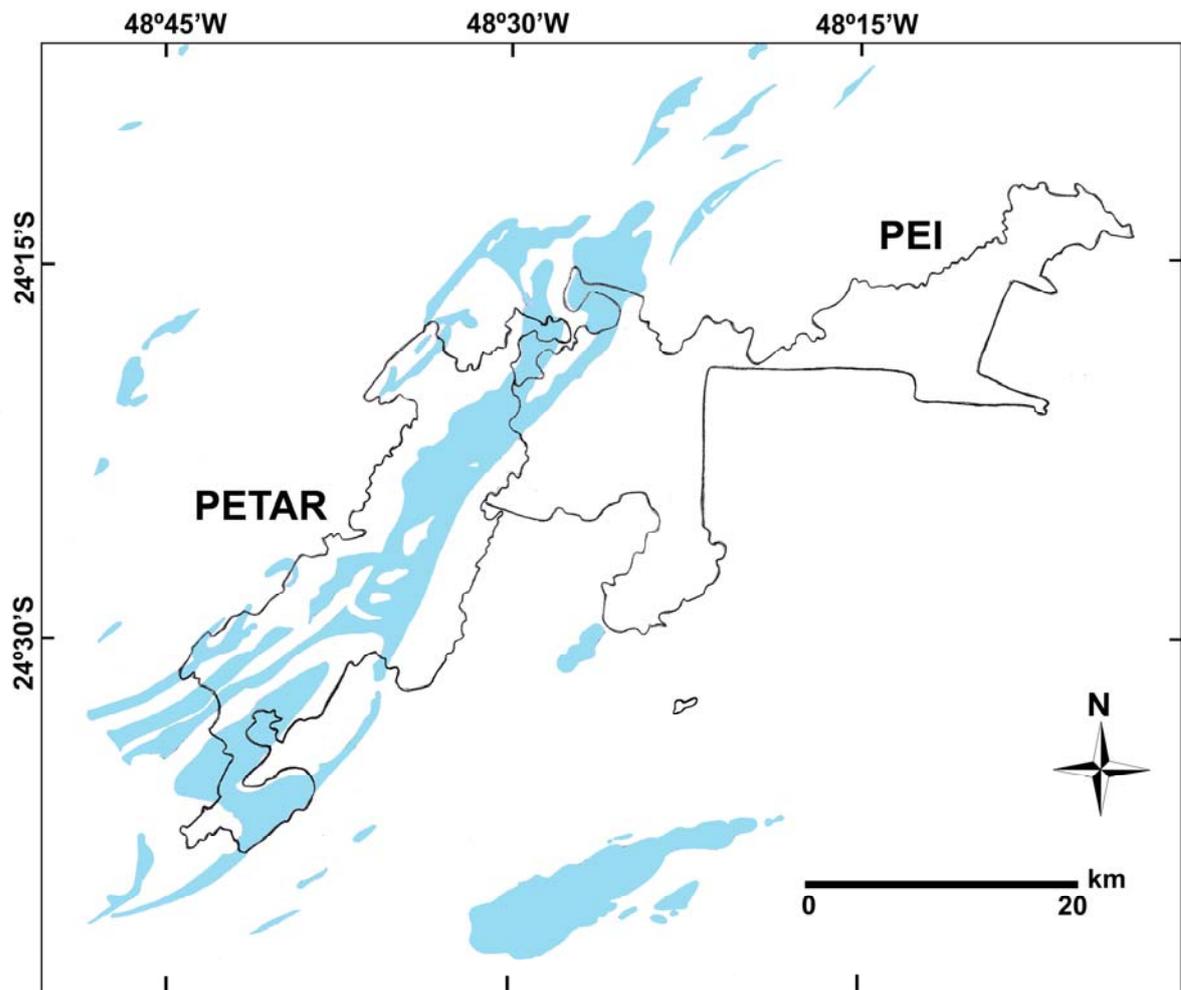
WOLFE, D. A.; CORNWELL, D. G. 1964. Carotenoids of cavernicolous crayfish. **Science**, Washington, v. 144, p. 1467-1469.

ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, H. D.; FINK, W. L. 2004. **Geometric morphometrics for biologists - a primer**. Boston: Elsevier Academic Press, 443 p.

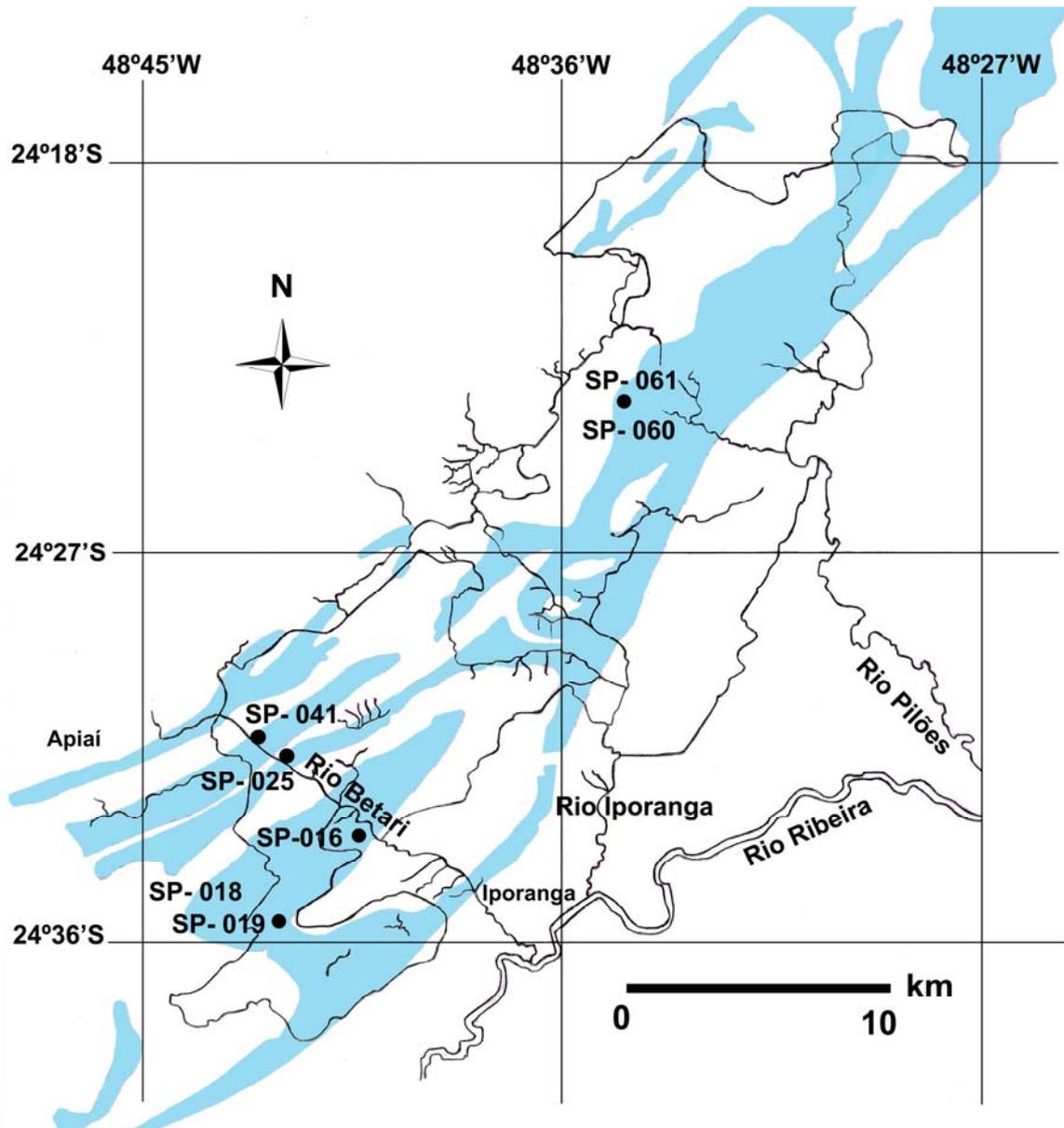
## 7 FIGURAS



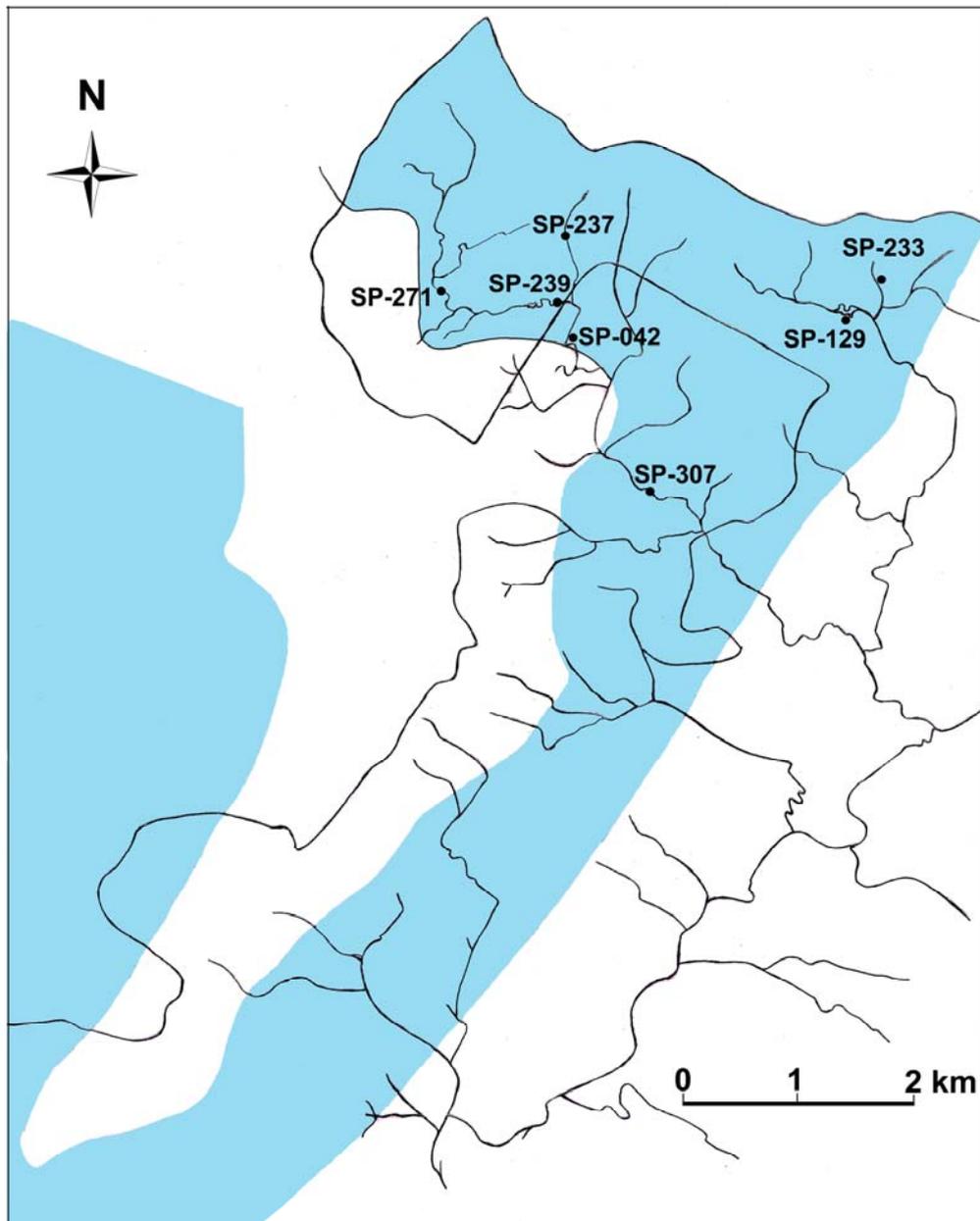
**Figura 1** Localização dos Parques Estaduais Turístico do Alto Ribeira (PETAR) e Intervales (PEI) no estado de São Paulo. Modificado de Sallun & Sallun Filho (2009).



**Figura 2** Localização das lentes calcárias (em azul) nos limites dos Parques Estaduais Turístico do Alto Ribeira (PETAR) e Intervales (PEI). Modificado de Sallun & Sallun Filho (2009).



**Figura 3** Cavernas e rios do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) em que foram obtidos exemplares do gênero *Aegla*. As lentes calcárias estão marcadas em azul e os números se referem ao cadastro da caverna no Cadastro de Cavidades Naturais da Sociedade Brasileira de Espeleologia (SBE 1991): **SP-016** = Gruta Ressurgência das Areias de Água Quente; **SP-018** = Gruta das Areias de Cima; **SP-019** = Gruta das Areias de Baixo; **SP-025** = Gruta da Água Suja; **SP-041** = Caverna de Santana; **SP-060** = Gruta do Temimina I; **SP-061** = Gruta do Temimina II. Modificado de Bichuette (1998) e Campanha (2003).



**Figura 4** Cavernas do Parque Estadual Intervales em que foram obtidos exemplares do gênero *Aegla*. As lentes calcárias estão marcadas em azul e os números se referem ao cadastro da caverna no Cadastro de Cavidades Naturais da Sociedade Brasileira de Espeleologia (SBE 1991). **SP-271** = Gruta Barra Bonita; **SP-239** = Gruta do Fendão; **SP-237** = Gruta Jane Mansfield; **SP-042** = Gruta dos Paiva; **SP-129** = Gruta Colorida; **SP-233** = Gruta do Tatu; **SP-307** = Gruta Água Luminosa. Modificado de Pellegatti-Franco (1997).



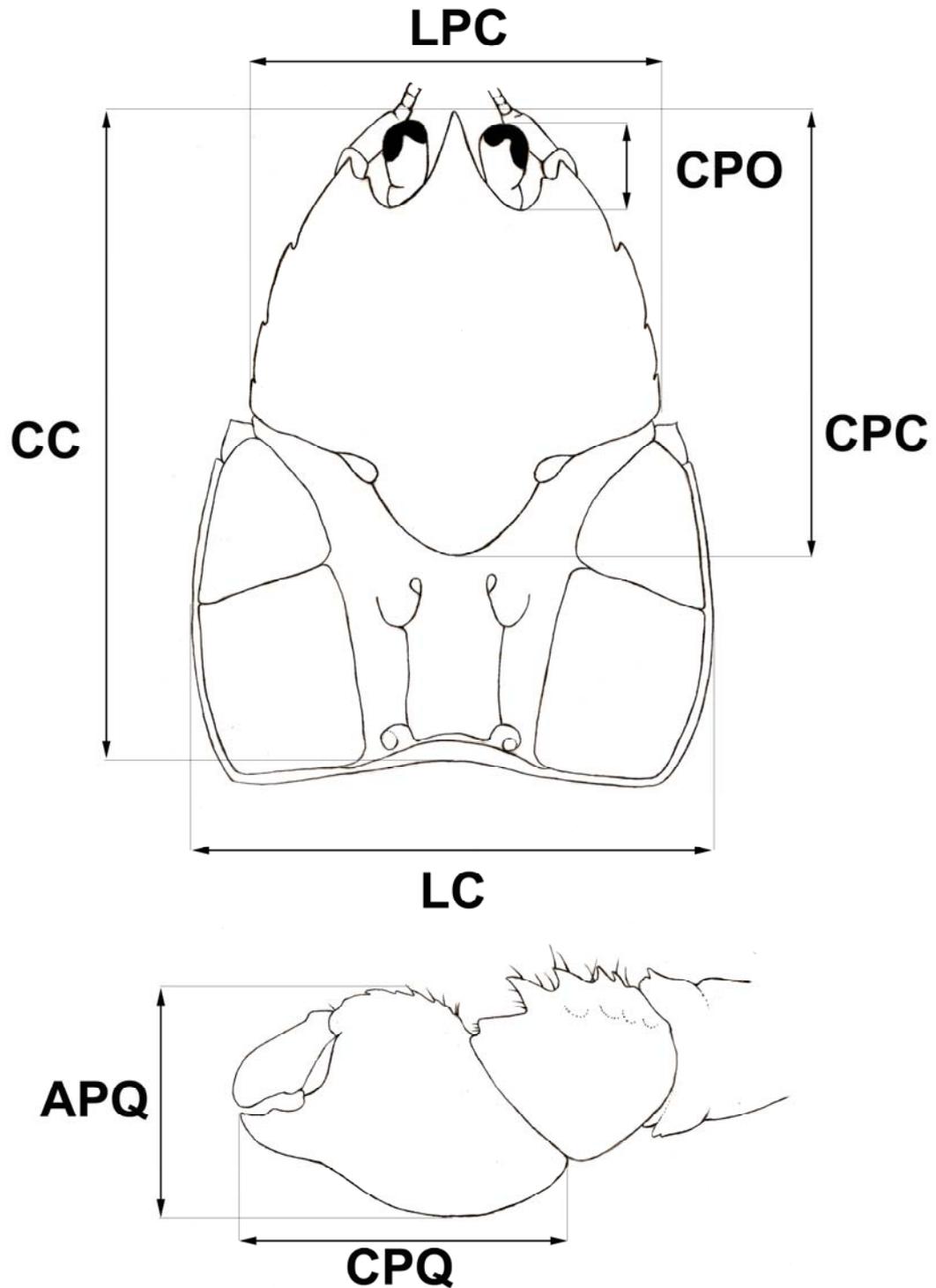
**Figura 5** Colocação dos covos em trecho do Rio Betari. Imagem cedida por Adriano Gambarini.



**Figura 6** Trecho do Rio Roncador no interior da Caverna de Santana. Fotografia de Adriano Gambarini.



**Figura 7** Trecho do Rio da Gruta Água Suja. Fotografia de Adriano Gambarini.



**Figura 8** Esquema das medidas tomadas no exemplares do gênero *Aegla* coletados. **LPC** = largura pré-cervical; **CPC** = comprimento pré-cervical; **CPO** = comprimento dos pedúnculos oculares; **CC** = comprimento do cefalotórax; **LC** = maior largura do cefalotórax; **APQ** = maior altura do própodo quelar; **CPQ** = comprimento do própodo quelar.

Is *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Crustacea: Decapoda:  
Aeglidae) troglophile?

*Capítulo*

*um*

## 1 **8 CAPÍTULO UM**

2 Is *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Crustacea: Decapoda: Aeglidae) troglophile?

3

4 Camile Sorbo Fernandes <sup>(1\*)</sup> & Maria Elina Bichuette <sup>(2)</sup>

5 <sup>(1\*, 2)</sup> Laboratório de Estudos Subterrâneos, Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva

6 (DEBE), Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. Via Washington Luís, km 235, São

7 Carlos, SP, Brazil, 13565-905; <sup>(1\*)</sup> e-mail: camilesorf@bol.com.br;

8 <sup>(2)</sup> e-mail: bichuette@uol.com.br

9 \* Corresponding author

10

## 11 **RESUMO**

12 A espécie *Aegla schmitti*, abundante em riachos epígeos na Bacia do Alto Ribeira, SP,  
13 Brasil, possui raros registros de capturas em cavernas. Com objetivo de avaliar se esses  
14 indivíduos são acidentais ou se já estão estabelecendo populações no ambiente hipógeo e,  
15 ainda, buscar relações entre as variações de forma desses organismos e indícios de adaptações  
16 ao meio subterrâneo, analisamos a variação da forma do cefalotórax por meio de morfometria  
17 geométrica baseada em marcos anatômicos. Os indivíduos provenientes da Caverna Santana  
18 são morfologicamente distintos, a despeito da proximidade com o rio Betari. Os resultados  
19 obtidos são evidências de que a espécie é capaz de explorar e, possivelmente, completar seu  
20 ciclo de vida em cavernas, constituindo espécie troglófila. Ainda, podem sugerir seleção de  
21 ecótipos ou fenótipos ambientalmente induzidos relacionados à vida em meio subterrâneo.

22 **Palavras-chave:** cavernas; ecótipos; epígeo; morfotipos, variação da forma.

23

24

25

## 26 ABSTRACT

27           The species *Aegla schmitti*, abundant in epigeal streams in the Upper Ribeira Basin,  
28 southeastern Brazil, has few records in caves. In order to evaluate whether these individuals  
29 are accidental or if populations are already established in cave streams and, also, looking for  
30 shape-related evidences of adaptations to the subterranean domain, we assessed shape  
31 variations of the carapace by means of landmark-based geometric morphometrics. Santana  
32 Cave individuals were morphologically distinct from epigeal ones, despite the proximity to  
33 the Betari River. The results are evidences that the species is able to explore and, possibly,  
34 complete its life cycle in the subterranean environment, being a troglophile. Also, it may  
35 suggest ecotypes selection or environmentally induced phenotypes related to hypogean  
36 environment.

37 **Keywords:** caves; ecotypes; epigeal; morphotypes; shape variation.

38

## 39 INTRODUCTION

40           The family Aeglidae Dana, 1852 is presently considered comprising to two extinct and  
41 a single extant genus, *Aegla* Leach, 1820, endemic to continental waters of southern South  
42 America (Martin & Abele, 1988). The larval stages suppression as well as appendages and  
43 segments formation still inside the eggs (epimorphic development) (Martin & Abele, 1988),  
44 the generalist omnivorous habit (Bond-Buckup & Buckup, 1994), and the existence of  
45 maternal care (Martin & Abele, 1988; López-Greco, *et al.* 2004) possibly allowed success in  
46 colonizing the subterranean environment. These character states probably acted minimizing  
47 the risks related to predation and drift in the early stages of development and enabling  
48 survival in food scarce environments (Kaestner, 1980; Magalhães & Walker, 1988; Bueno &  
49 Bond-Buckup, 1996).

50           The degree in which *Aegla* is capable of exploring and colonizing hypogean (=  
51 subterranean) streams is variable among species. Five species were described in Parque  
52 Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) and Parque Estadual Intervalos (PEI) areas, São  
53 Paulo State, southeastern Brazil (Rocha & Bueno, 2004). Two of them, *Aegla marginata*  
54 Bond-Buckup & Buckup, 1994 and *Aegla schmitti* occur in epigeal as well as in subterranean  
55 environment and, possibly, are capable of establishing viable populations in both, thus being  
56 troglaphiles (Morachiolli & Trajano, 2002), though long term studies are lacking. Three other  
57 species, *Aegla cavernicola* Türkay, 1972, *Aegla leptochela* Bond-Buckup & Buckup, 1994,  
58 and *Aegla microphthalma* Bond-Buckup & Buckup, 1994 are troglobites, thus bearing  
59 character states related to life restricted to subterranean environment (Morachiolli & Trajano,  
60 2002; Rocha & Bueno, 2004). Their distribution is restricted to type-localities Areias I and II,  
61 Paiva and Santana Caves, respectively (Rocha & Bueno, 2004). Two new species, still under  
62 description, were recently discovered in Bulhas d' Água, PEI. These ones possibly are  
63 troglobites, one of them with reduced eyes (Camargo, 2010). The biology of the troglobites  
64 and facultative cavernicoles in the area was studied by Morachiolli (1994), in an unpublished  
65 MSc dissertation including populational sizes, occurrence and behaviour.

66           Little is known about the biology of *A. marginata* since its description. Besides  
67 Morachiolli (1994), other studies usually are limited to its morphological description (Bond-  
68 Buckup & Buckup, 1994) or occurrence (Rocha & Bueno, 2004). *A. schmitti* is the most  
69 abundant and widely distributed in the study area (Rocha & Bueno, 2004). Recently, the  
70 biology, populational structure, and geographical distribution of *A. schmitti* were studied by  
71 Teodósio (2007), Teodósio & Masunari (2009) and Trevisan & Masunari (2010),  
72 respectively. Depigmented specimens of both species were mentioned by Morachiolli (1994)  
73 in subterranean environment.

74           The development of troglomorphisms probably results from initial colonization of  
75 caves by epigean, with establishment of troglophile (facultative cavernicoles) populations  
76 (Barr, 1967), followed by vicariant events interrupting gene flow with epigean individuals  
77 (Culver, 1982; Wilkens, 1986; Trajano, 1995). Under selective regime associated to genetic  
78 drift and founder effect (founder principle, Mayr, 1942), character states associated to life  
79 exclusively in subterranean environments could rapidly evolve (Barr, 1967; Barr & Holsinger,  
80 1985). If the divergence time was sufficient to result in reproductive isolation, epigean and  
81 subterranean species may coexist without introgressing (Trajano 1995). Authors as Galan &  
82 Herrera (1998) and Romero & Green (2005) also discussed the possibility of speciation as a  
83 result of selective pressures in hypogean conditions, not necessarily involving allopatric  
84 isolation mechanisms.

85           Landmarks-based geometric morphometrics consists of shape analysis by means of  
86 anatomical reference points, after eliminating effects of non-shape variation (position,  
87 orientation and scale of specimens) (Adams, 1999; Giri & Loy, 2008). These techniques have  
88 been successfully applied in papers with subterranean organisms as Reis *et al.* (2006) in  
89 epigean and subterranean populations of armoured catfishes *Ancistrus cryptophthalmus* Reis,  
90 1987 and subterranean *Rhamdiopsis krugi*, Bockmann & Castro, 2010 (B. Rantin, pers.  
91 comm.). Both studies associated population divergences to isolation patterns between fish  
92 populations occurring in different cave systems (*A. cryptophthalmus*) or different limestone  
93 lenses (*R. krugi*).

94           Although geometric morphometrics studies with *Aegla* species have already been  
95 published focusing interspecific differences (Giri & Collins, 2004) and quantifying sexual  
96 dimorphism, habitat type and species interaction influences in the shape of these organisms  
97 (Giri & Loy, 2008), papers related to subterranean populations have not been published yet.

98           There is a need for investigating the colonization of subterranean domain in as much  
99 its populations may be isolated from epigean ones. With the purpose of elucidating if *A.*  
100 *schmitti* is capable of establishing subterranean populations and if there is morphological  
101 differences associated to colonization of this environment, individuals of this species were  
102 assessed for shape variations using landmark-based geometric morphometrics.

103

#### 104 **MATERIALS AND METHODS**

105           The loans of individuals under study were obtained from Museu de Zoologia from  
106 Universidade de São Paulo (MZUSP) and Laboratório de Estudos de Eglídeos from  
107 Universidade de São Paulo (LEEUSP) scientific collections. Additionally, collections were  
108 made in March, April and October 2009 and August 2010, in subterranean and epigean stream  
109 reaches located at Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) karstic area, São Paulo  
110 State, southeastern Brazil (Fig. 1). In the last case, captures were made by means of hand nets  
111 and covo traps, using sardines or liver as baits.

112           The sampled localities were: Betari River (24°31'14"S and 48°41'43"W, in a stream  
113 reach immediately downstream the outflow of the resurgence of Santana Cave river) and  
114 Santana Cave (SP-041 24°31'51"S and 48°42'06"W), Temimina II Cave (SP-061 24°23'S and  
115 48°34'W) and Água Suja Cave (SP-025 24°31'25"S and 48°42'27"W). The numbers in  
116 parenthesis refers to the cave number in the Cadastro de Cavidades Naturais da Sociedade  
117 Brasileira de Espeleologia (SBE, 1991) and geographical coordinates, respectively.

118           Individuals of *A. schmitti* were captured only in Betari River and Santana Cave and  
119 deposited in the scientific collection of Laboratório de Estudos Subterrâneos, Universidade  
120 Federal de São Carlos – UFSCar (Loans 1038 and 1039).

121           Examined material: Betari River (MZUSP 13.625; MZUSP 8.273; LEEUSP 10;  
122 LEEUSP 26; LEEUSP 259; LEEUSP 260, LEEUSP 261; LEEUSP 262; LEEUSP 263;

123 LEEUSP 266; LEEUSP 267); Santana Cave (MZUSP 7.407; MZUSP 13.623; MZUSP  
124 13.927); Temimina II Cave (MZUSP 7.321; MZUSP 9.771); Água Suja Cave (MZUSP 7.323;  
125 MZUSP 7.411).

126 In total, the analyzed individuals of *A. schmitti* were: 24 males and two females from  
127 Santana Cave; 84 males and 50 females from Betari River; two males and two females from  
128 Temimina II Cave and three females from Água Suja Cave. The last two localities were not  
129 analyzed because of the small sample size.

130 The species identification was done by C. S. Fernandes, based on Bond-Buckup &  
131 Buckup (1994), and later confirmed by Dr. Sérgio L. S. Bueno, from Laboratório de Estudos  
132 de Eglídeos from Universidade de São Paulo (LEEUSP). Following Teodósio (2007), we  
133 considered that the adult males had carapace length up to 17.53 mm and adult females up to  
134 18.10 mm.

135 The obtained specimens were oriented by dorsal region and, then, photographed using  
136 a digital camera (SONY-H7). The images were converted to TPS format with TPSUtil version  
137 1.44 (Rohlf, 2009) and the homologous coordinates were obtained using TPSDig 2 version  
138 2.12 (Rohlf, 2008 a). A total of 11 landmarks were digitized on each specimen (Fig. 2) and  
139 pixels were transformed in millimetres by means of a scale inserted in the picture. Also, the  
140 repeatability of the landmarks was checked by means of Analysis of Variance (ANOVA) in  
141 Generalized Procrustes Analysis (GPA, Bookstein, 1986) aligned coordinates of 30 images,  
142 marked three times.

143 Subsequently, each configuration was submitted to a symmetrization procedure, as  
144 described in Mardia et al. (2000), to reduce the influence of variations related to asymmetry.  
145 It was done creating a reflected configuration, by multiplying the x coordinate of the  
146 landmarks by  $-1$  and then calculating a consensus configuration between original and

147 reflected landmarks. This procedure was done in R version 2.11 (R DEVELOPMENT CORE  
148 TEAM 2009). All posterior analyses were undertaken with transformed coordinates.

149 The method of superimposition utilized to remove non-shape variations was GPA  
150 (Bookstein, 1986; Adams *et al.*, 2004), computed using TPSRelw version 1.46 (Rohlf, 2008  
151 b).

152 The same software performed a Relative Warps Analysis, equivalent to a Principal  
153 Component Analysis of the weight matrix, with the advantage of allowing graphic  
154 representations of possible deformations for the reference. To have all landmarks in the same  
155 scale, the alpha selected was equal to zero, most suitable for exploratory investigations  
156 (Rohlf, 1993).

157 For testing whether the chosen landmarks would be influenced by sexual dimorphism, a  
158 Non-parametric Multivariate Analysis of Variance (NPMANOVA), using Euclidean distance  
159 (Anderson, 2001) was applied in the relative warps scores matrix (S' matrix) between males  
160 and females, only in the first nine principal components different to zero, to remove redundant  
161 information.

162 Since there was influence of sexual dimorphism, only males were tested for shape  
163 differences between Santana Cave and Betari River. Thus, a Non-parametric Multivariate  
164 Analysis of Variance (NPMANOVA), using Euclidean distance (Anderson, 2001) was  
165 applied in the relative warps scores matrix (S' matrix) between Santana Cave and Betari  
166 River, in the first nine principal components different to zero in order to verify if the pattern  
167 observed in the Relative Warps Analysis were significant.

168 This test replaced its parametric equivalents, Multivariate Analysis of Variance  
169 (MANOVA) or Canonical Variates Analysis (CVA), since both are suitable for three or more  
170 groups. Moreover, parametric tests including Hotelling's  $T^2$  are not robust to departures from  
171 multivariate normality (Anderson, 2001; Hammer *et al.*, 2001).

172 All statistical analyses were computed using Past version 2.01 (Hammer *et al.*, 2001).  
173 Also, thin-plate splines analysis was done using Morpheus beta version (Slice, 2002), using  
174 consensus configurations of males from Betari River and Santana Cave.

175

## 176 **RESULTS**

177 The selected landmarks were considered repeatable and suitable for later analyses  
178 ( $F=2.738E-10$ ;  $p=1$ ). Also, as they were influenced by sexual dimorphism, males and females  
179 were not grouped in later statistical analyses ( $F= 66.67$  e  $p<0.0001$ ).

180 There was continuous morphological divergence between individuals from Santana  
181 Cave and Betari river, that showed to be statistically significant ( $F=4.847$ ;  $p=0.003$ ).  
182 Moreover, though individuals from Betari river have been obtained next to the Santana Cave  
183 resurgence, they showed to be more similar to river specimens deposited in scientific  
184 collections (MZUSP and LEEUSP) (Fig. 3). The first two relative warps calculated between  
185 males from cave and river, with  $\alpha=0$  and uniform component included added up a total of  
186 67.49% of the variance (first relative warp: 48.50%; second relative warp: 18.98%).

187 The landmarks responsible for the greatest variation on first principal component  
188 were those related to eyestalk position and anterolateral spines (corresponding to numbers 2,  
189 3, 8 and 9). Cave individuals had, as a rule, narrower cephalothorax and rostrum and pre-  
190 cervical area more elongated than epigean individuals, as illustrated by thin-plate splines  
191 diagrams (Fig. 4).

192

## 193 **DISCUSSION**

194 The individuals of *A. schmitti* showing various degrees of depigmentation found by  
195 Morachiolli (1994) would be living for relative time in subterranean environment, since  
196 pigmentation in decapods is associated with carotenoid availability on feeding (Maguire Jr.,

197 1961; Wolfe & Cornwell, 1964), often scarce in caves. Moreover, there are previous records  
198 of this species occurring in caves in studied area (Bond-Buckup & Buckup 1994; Morachiolli  
199 1994; Rocha & Bueno 2004). Such facts, besides the obtained results, showed that *A. schmitti*  
200 is able to establish and complete its life cycle in subterranean environment.

201         The continuous pattern of morphological divergence observed in the Relative Warps  
202 Analysis indicated that, probably, the gene flow is limited to occasional exchanges. So, Betari  
203 River population would be a source of new genes by means of migrations to Santana Cave,  
204 possibly following a colonization-extinction dynamics in which the peripheral population  
205 would be subject to frequent local extinctions. This model of continent-island (or source-sink)  
206 metapopulations (Harrisson, 1991; Rocha *et al.*, 2006) could explain the absence of  
207 specimens in places recorded previously, Temimina II and Água Suja Caves (Bond-Buckup &  
208 Buckup, 1994). Our results corroborated Barr & Holsinger (1985) as they suggest a pattern of  
209 discontinuous environments for the evolution of *A. schmitti* populations from Santana Cave  
210 and Betari River.

211         The epigeal individuals sampled for this study, even being from a local next to the  
212 cave, showed greater similarities with the river ones, obtained from scientific collections.  
213 Hence, although the distance between sampling points may result in reduced gene flow  
214 between extremes of distribution, proposed by Vanzolini (1992) like an Area Effect  
215 phenomenon, probably this is not the unique factor influencing the shape variation.

216         Quaternary climatic fluctuations in South America (Ab'Saber, 1977; Ledru, 1993;  
217 Cruz *et al.*, 2005) also may have influenced the observed morphological pattern. For aquatic  
218 fauna, in some cases the superposition of episodic isolation events makes the influence of  
219 Pleistocene climatic cycles less clear (Trajano, 1995). However, drier periods may have  
220 reduced streams levels, promoting successive scenarios of coalescence and isolation of  
221 Ribeira Valley waters (evidences from the troglobite fish *Pimelodella kronei* (Ribeiro, 1907),

222 sensu Trajano & Britski, 1992), although lacking specific studies about paleodrainages in this  
223 region.

224 In this way, aquatic environment fragmentation associated to the isolation of  
225 troglomorphic populations in subterranean environment would enable evolutive processes to act  
226 (Trajano, 1995), accumulating genetic differences during drier periods.

227 As *A. schmitti* is capable of establishing in subterranean environment, it must be  
228 investigated if and how climatic fluctuations (causing drainage alterations) would influence  
229 on genetic frequencies in these populations. Xu *et al.* (2009), in a molecular study with *Aegla*  
230 *alacalufi* Jara & Lopez, 1981 from Chile, reported divergences between populations  
231 supposedly under Pleistocene climatic fluctuations and those in refuge areas. In *Sclerobunus*,  
232 Banks, 1893, a genus of Opiliones, it appears that the evolution of weakly troglomorphic  
233 forms (i. e., with slightly reduced pigmentation, slightly elongated appendages and no  
234 reduction in eye mound) is consistent with Pleistocene effects model (Derkarabetian *et al.*  
235 2010). According to Barnosky (2005) and Xu *et al.* (2009), Quaternary climatic changes may  
236 have promoted genetic change at population level. It is expected that anagenetic evolution in  
237 caves is accelerated in relation to that observed in epigean refuges, since subterranean  
238 ecosystems, depending on allochthonous food intake, may lose a great deal of diversity due to  
239 drastic food shortage (Trajano, 1995).

240 Associated to partial reproductive isolation, a heritable higher capability to express  
241 specific responses to environmental conditions can be expected to be favoured by natural  
242 selection (Stearns, 1983; Romero & Green, 2005). Experimental studies with tetracharacin  
243 fishes *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) (Romero *et al.*, 2002) and epigean crayfishes  
244 *Cambarus tenebrosus* Hay, 1902 (Cooper *et al.*, 2001) demonstrated that some troglomorphic  
245 forms differ from epigean ancestors not only genetically but, at least partially, also in  
246 environmentally induced features (Romero & Green, 2005).

247           The Aeglidae exhibits high intraspecific variation, which suggests they are capable of  
248 answering to different environmental conditions (see Giri & Collins, 2004; Giri & Loy, 2008).  
249 It is expected that in many caves, subjected to pronounced seasonality related to rainy cycles  
250 (Bichuette & Trajano, 2003), plastic genotypes are selected, as environmentally induced  
251 phenotypes have higher probability to adapt to changes in environmental conditions than  
252 genetically fixed ones (Whiteman, 1994; Stearns, 1983; Romero & Green, 2005).

253           Further, genetic adaptation to specific habitats would favour those individuals with  
254 different morphological and physiological features between two environments, the ecotypes  
255 (Romero & Green, 2005; Brown & Lomolino, 2006). Giri & Loy (2008) compared *Aegla*  
256 *neuquensis* Schmitt, 1942 from lakes and rivers and reported the existence of ecotypes  
257 associated to both. Also, cephalothorax shape of river individuals were more variable than  
258 lake ones, features possibly associated to environmental conditions, predators and population  
259 connectivity.

260           Even though the obtained results suggesting high genetic diversity, small populations,  
261 mainly inside caves, can lose alleles by genetic drift, if gene flow with surrounding  
262 populations does not occur compensating this loss (Barr, 1967). There is an increased  
263 preoccupation about *Aegla* in the study area as their natural habitats are being impacted  
264 (CETESB, 1991; Moraes, 2003; Giatti, 2004; Cotta *et al.*, 2006). Besides that, a drastic  
265 populational reduction in troglobites *Aegla leptochela* and *A. cavernicola* (Maia *et al.*, 2009)  
266 was observed in relation to previous studies (Morachiolli, 1994). The critical situation of *A.*  
267 *microphthalma* was also confirmed in the same study (Maia *et al.*, 2009). Moreover, the  
268 recent colonization of Santana Cave by *Macrobrachium* Bate, 1868 shrimps apparently could  
269 difficult the recovering of *A. microphthalma*, endemic in this cave.

270           The results in present paper indicated that, even mainly associated to epigeal stream  
271 reaches, *A. schmitti* probably is capable of colonize and established in subterranean

272 environment, so the status of troglophile should be attributed. Effective populational size  
273 studies would be useful to evaluate the viability of Santana Cave population. Also, similar  
274 patterns of high diversity with restrict distribution could be occurring with other *taxa* in the  
275 studied area deserving better investigation.

276

## 277 **ACKNOWLEDGEMENTS**

278 The authors would like to thank their colleagues from Laboratório de Estudos  
279 Subterrâneos by field assistance (T. L. C. Scatolini, D. Monteiro-Neto, J. E. Gallao and F. F.  
280 Franco). We also thank Dr<sup>a</sup> Eleonora Trajano (IB/USP), Dr. Sergio L. S. Bueno (IB/USP) and  
281 Dr. Marcos Tavares (MZUSP), for the permission to access scientific collections. The  
282 statistical analyses were performed with the help of Dr. Marco Batalha (UFSCar) and the  
283 shape analysis was oriented by Dr<sup>a</sup> Érika Hingst Zaher and Fábio de Andrade Machado. To  
284 Dr. Ivo Karmann and Dr. Carlos Grohmann (IGC/USP), by loan of maps. This work was  
285 accomplished with financial support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico  
286 e Tecnológico (CNPq), by means of master's degree scholarship awarded to the first author  
287 (#13.6052/2009-6). The samplings were performed according to Brazilian State and Federal  
288 laws concerning wild animals (IBAMA # 19.051-1).

289

## 290 **REFERENCES**

- 291 Ab'Saber A. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por  
292 ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas* 3: 1-9.
- 293 Adams D. C. 1999. Methods for shapes analysis of landmark data from articular structures.  
294 *Evolutionary Ecology Research* 1: 959-970.
- 295 Adams D. C., Rohlf F. J., Slice D. E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress  
296 following the "revolution". *Italian Journal of Zoology* 71: 5-16.

- 297 Anderson M. J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance.  
298 Austral Ecology 26: 32-46.
- 299 Barnosky A. D. 2005. Effects of Quaternary climatic change on speciation in Mammals.  
300 Journal of Mammalian Evolution 12(1/2): 247-264. doi: 10.1007/s10914-005-4858-8.
- 301 Barr Jr. T. C. 1967. Observations on the ecology of caves. The American Naturalist 101(922):  
302 475-491.
- 303 Barr Jr. T. C., Holsinger J. R. 1985. Speciation in cave faunas. Annual Review of Ecology  
304 and Systematics 16: 313-337.
- 305 Bichuette M. E., Trajano E. 2003. Epigean and subterranean ichthyofauna from the São  
306 Domingos Karst area, upper Tocantins River Basin, central Brazil. Journal of Fish  
307 Biology 63: 1100-1121. doi: 10.1046/j.1095-8649.2003.00227.x.
- 308 Bond-Buckup G., Buckup L. 1994. A Família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura).  
309 Arquivos de Zoologia do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo 32(4): 1-  
310 346.
- 311 Bookstein F. L. 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. Statistical  
312 Science 1: 181-222.
- 313 Brown J., Lomolino M. V. 2006. Biogeografia. 2nd ed. Ribeirão Preto – SP: FUNPEC, 691p.
- 314 Bueno A. A. P., Bond-Buckup G. 1996. Os estágios juvenis iniciais de *Aegla violacea* Bond-  
315 Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). Nauplius 4: 39-47.
- 316 Camargo A. L. 2010. Duas novas espécies de eglídeos descobertas em Bulhas d'Água, São  
317 Paulo. O Carste 22: 12-14.
- 318 Campanha G. A. C. 2003. O papel do sistema de zonas de cisalhamento transcorrentes na  
319 configuração da porção meridional da Faixa Ribeira. Livre docência Thesis, São Paulo:  
320 Universidade de São Paulo, 138p.

- 321 CETESB 1991. Avaliação da Qualidade Ambiental do Rio Ribeira de Iguape - Considerações  
322 preliminares. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 54p.
- 323 Cooper R. L., Li H., Long Y., Cole J. L., Hopper H. L. 2001. Anatomical comparisons of  
324 neural systems in sighted epigeal and troglitic crayfish species. *Journal of Crustacean*  
325 *Biology* 21, 360-374.
- 326 Cotta J. A., Rezende M. O. O., Piovani M. R. 2006. Avaliação do teor de metais em  
327 sedimento do Rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR, São  
328 Paulo, Brasil. *Química Nova* 29(1): 40-45.
- 329 Cruz Jr. F.W., Burns S. J., Karmann I., Sharp W. D., Vuille M., Cardoso A. O., Ferrari J. A.,  
330 Dias P. L. S., Viana Jr. O. 2005. Insolation-driven changes in atmospheric circulation  
331 over the past 116,000 years in subtropical Brazil. *Nature* 434: 63-66.  
332 doi:10.1038/nature03365.
- 333 Culver, D. C. 1982. *Cave life. Evolution and ecology*. Cambridge: Harvard Press, 189 p.
- 334 Derkarabetian S., Steinmann D. B., Hedin M. 2010. Repeated and time-correlated  
335 morphological convergence in cave dwelling harvestmen (Opiliones, Laniatores) from  
336 Montane Western North America. *PLoS ONE* 5(5): e10388.  
337 doi:10.1371/journal.pone.0010388.
- 338 Galan C., Herrera F. F. 1998. Fauna cavernícola: ambiente, especiación y evolución. *Boletín*  
339 *de la Sociedad Venezolana Espeleología* 32: 13-43.
- 340 Giatti L. L. 2004. *Ecoturismo e impactos ambientais na região de Iporanga - Vale do Ribeira -*  
341 *São Paulo. PhD Thesis. São Paulo: Universidade de São Paulo, 225p.*
- 342 Giri F., Collins P. A. 2004. A geometric morphometric analysis of two sympatric species of  
343 the family Aeglididae (Crustacea, Decapoda, Anomura) from the La Plata basin. *Italian*  
344 *Journal of Zoology* 71: 85-88. doi:10.1080/11250000409356555.

- 345 Giri F., Loy A. 2008. Size and shape variation of two freshwater crabs in Argentinean  
346 Patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. *Journal*  
347 *of Crustacean Biology* 28(1): 37–45.
- 348 Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. 2001. PAST Palaeontological Statistics software  
349 package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica* 4(1): 9p.
- 350 Harrisson S. 1991. Local extinction in a metapopulational context: an empirical evaluation. In:  
351 Gilpin, M. E.; Hanski I., editors. *Metapopulation dynamics: empirical and theoretical*  
352 *investigations*. London: Academic Press, pp. 73-88.
- 353 Kaestner A. 1980. *Invertebrate zoology*, vol. 3. Huntington: Robert E. Krieger, 523p.
- 354 Karmann I., Ferrari J. A. 2002. Carste e cavernas do Parque Estadual Turístico do Alto  
355 Ribeira (PETAR), SP. Sistemas de cavernas com paisagens subterrâneas únicas. In:  
356 Schobbenhaus C., Campos D. A., Queiroz E. T., Winge M., Berbert-Born M. L. C.  
357 *Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil*. Brasília: DNPM - Departamento  
358 Nacional de Produção Mineral, p. 401-414.
- 359 Ledru M. P. 1993. Late Quaternary environmental and climatic changes in Central Brazil.  
360 *Quaternary Research* 39: 90-98.
- 361 López-Greco L. S., Viau V., Lavolpe M., Bond-Buckup G., Rodriguez E. M. 2004. Juvenile  
362 hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (Anomura: Aeglididae). *Journal of*  
363 *Crustacean Biology* 24(2): 309-313.
- 364 Magalhães C., Walker I. 1988. Larval development and ecological distribution of central  
365 Amazonian Palaemonid shrimps (Decapoda: Caridea). *Crustaceana* 55(3): 279-292.
- 366 Maguire Jr. B. 1961. Regressive evolution in cave animals and its mechanism. *Texas Journal*  
367 *of Science* 13: 363-370.
- 368 Maia K. P., Takano B. F., Guil A. L. F., Bueno S. L. S., Trajano E. 2009. Ecologia  
369 populacional e conservação de crustáceos eglídeos (Decapoda: Aeglididae) na área

- 370 cárstica do Alto Ribeira, São Paulo. Abstracts book of III Encontro Brasileiro de  
371 Estudos do Carste. São Carlos: Redespeleo Brasil e Universidade Federal de São Carlos,  
372 118p.
- 373 Mardia K. V., Bookstein F. L., Moreton I. J. 2000. Statistical assesment of bilateral symmetry  
374 of shape. *Biometrika* 87: 285-300.
- 375 Martin J. W., Abele L. G. 1988. External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea:  
376 Anomura: Aeglidae). *Smithsonian Contributions to Zoology* 453: 1-46.
- 377 Mayr E. 1942. *Systematics and the Origin of Species, from a viewpoint of a zoologist*. New  
378 York: Columbia University Press, 334 p.
- 379 Moraes R. 2003. Avaliação de Risco Ecológico no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira  
380 (PETAR), Brasil. PhD. thesis, Göteborg (Sweden): Chalmers University of Technology,  
381 34 p.
- 382 Morachiolli N. 1994. Estudo da biologia de *Aegla* spp. Cavernícolas do Vale do Alto Ribeira,  
383 São Paulo (Crustacea: Anomura: Aeglidae). M.Sc. Dissertation, São Paulo: Instituto de  
384 Biociências, Universidade de São Paulo, 148p.
- 385 Morachiolli N., Trajano E. 2002. Reproductive aspects and population densities of cave *Aegla*  
386 (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in the Ribeira Valley karst area, southeastern Brazil.  
387 Congresso Brasileiro Sobre Crustáceos Abstracts Book, São Pedro: Sociedade Brasileira  
388 de Carcinologia, 211p.
- 389 R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009. R: A language and environment for statistical  
390 computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from:  
391 <http://www.R-project.org>. Acesso: Abril/2010.
- 392 Reis R. E., Trajano E., Hingst-Zaher E. 2006. Shape variation in surface and cave populations  
393 of the Armoured catfishes *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the São

- 394 Domingos Karst Area, Upper Tocantins River, Brazil. *Journal of Fish Biology* 68: 414-  
395 429. doi:10.1111/j.1095-8649.2005.00891.x.
- 396 Rocha S. S., Bueno S. L. S. 2004. Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale  
397 do Ribeira de Iguape e Rios Costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira*  
398 *de Zoologia* 21(4): 1001-1010.
- 399 Rocha C. F. D., Bergallo H. G., Van Sluys M., Alves M. A. 2006. *Biologia da Conservação –*  
400 *Essências*. São Carlos: RiMa, 582p.
- 401 Rohlf F. J. 1993. Relative warps analysis and an example of its application to mosquito wings.  
402 In: Marcus L. F., Bello E., García-Valdecasas A., editors. *Contributions to*  
403 *morphometrics*. Madrid: Museu Nacional de Ciencias Naturales, pp. 131-159.
- 404 Rohlf F. J. 2008 a. TPSDig 2 version 2.12. Software available at:  
405 <http://www.life.bio.sunysb.edu/morph/software.html>. Access: June/2010.
- 406 Rohlf F. J. 2008 b. TPS Relw version 1.46. Software available at:  
407 <http://www.life.bio.sunysb.edu/morph/software.html>. Access: June/2010.
- 408 Rohlf F. J. 2009. TPSUtil version 1.44. Software available at:  
409 <http://www.life.bio.sunysb.edu/morph/software.html>. Access: June/2010.
- 410 Romero A., Jeffery W., Yamamoto Y. 2002. When cave fish see the light: reaction norm to  
411 light exposure during development in epigeal, troglomorphic and hybrids of *Astyanax*  
412 *fasciatus*. Program Book and Abstracts, Joint Meeting of Ichthyologists and  
413 herpetologists. Kansas City: University of Kansas, p.225.
- 414 Romero A., Green S. M. 2005. The end of regressive evolution: examining and interpreting  
415 the evidence from cave fishes. *Journal of Fish Biology* 67: 3-32. doi:10.1111/j.1095-  
416 8649.2005.00776.x
- 417 Sociedade Brasileira de Espeleologia (SBE) 1991. *Cadastro nacional de cavidades naturais*.  
418 SBE, Campinas, 221p.

- 419 Slice D. E. 2002. Morpheus beta version. Software available at:  
420 <http://www.life.bio.sunysb.edu.morph/software.html>. Access: September/2010.
- 421 Stearns, S. C. 1983. The evolution of life-history traits in mosquitofish since their introduction  
422 to Hawaii in 1905: rates of evolution, heritabilities, and developmental plasticity.  
423 *American Zoologist* 23, 65–75.
- 424 Teodósio, E. A. F. M. O. 2007. Biologia de *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Crustacea,  
425 Anomura, Aeglidae) em reservatórios dos Mananciais da Serra, Piraquara, Estado do  
426 Paraná. M.Sc. Dissertation, Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 62p.
- 427 Teodósio E. A. F. M. O., Masunari S. 2009. Estrutura populacional de *Aegla schmitti*  
428 (Crustacea: Anomura: Aeglidae) nos reservatórios dos Mananciais da Serra, Piraquara,  
429 Paraná, Brasil. *Zoologia* 26(1): 19-24. doi: 10.1590/S1984-46702009000100004.
- 430 Trajano E., Britski H. A. 1992. *Pimelodella kroni* (Ribeiro, 1907) e seu sinônimo  
431 *Caecorhamdella brasiliensis* Borodin, 1927: morfologia externa, taxonomia e evolução  
432 (Teleostomi, Siluriformes). *Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo* 12: 53-  
433 89.
- 434 Trajano E. 1995. Evolution of tropical troglobites: applicability of the model of Quaternary  
435 climatic fluctuations. *Mémoires de Biospéologie* 23: 203-209.
- 436 Trevisan A., Masunari S. 2010 Geographical distribution of *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979  
437 (Decapoda Anomura Aeglidae) and morphometric variations in male populations from  
438 Paraná State, Brazil. *Nauplius* 18(1): 45-55.
- 439 Vanzolini P. E. 1992. Paleoclimas e especiação em animais da América do Sul tropical.  
440 *Estudos Avançados* 6(15): 41-65.
- 441 Whiteman H. H. 1994. Evolution of facultative paedomorphosis in salamanders. *Quarterly*  
442 *Review of Biology* 69: 205–221.

- 443 Wilkens H. 1986. The tempo of regressive evolution: studies of the eye reduction in  
444 stygobiont fishes and decapod crustaceans of the Gulf Coast and West Atlantic region.  
445 *Stygologia* 2(1/2): 131-143.
- 446 Wolfe D. A., Cornwell D. G. 1964. Carotenoids of cavernicolous crayfish. *Science*  
447 (Washington D. C.) 144: 1467-1469.
- 448 Xu J., Pérez-Losada M., Jara C., Crandall K. 2009. Pleistocene glaciation leaves deep  
449 signature on the freshwater crab *Aegla alacalufi* in Chilean Patagonia. *Molecular*  
450 *Ecology* 18: 904-918. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.04070.x.

451

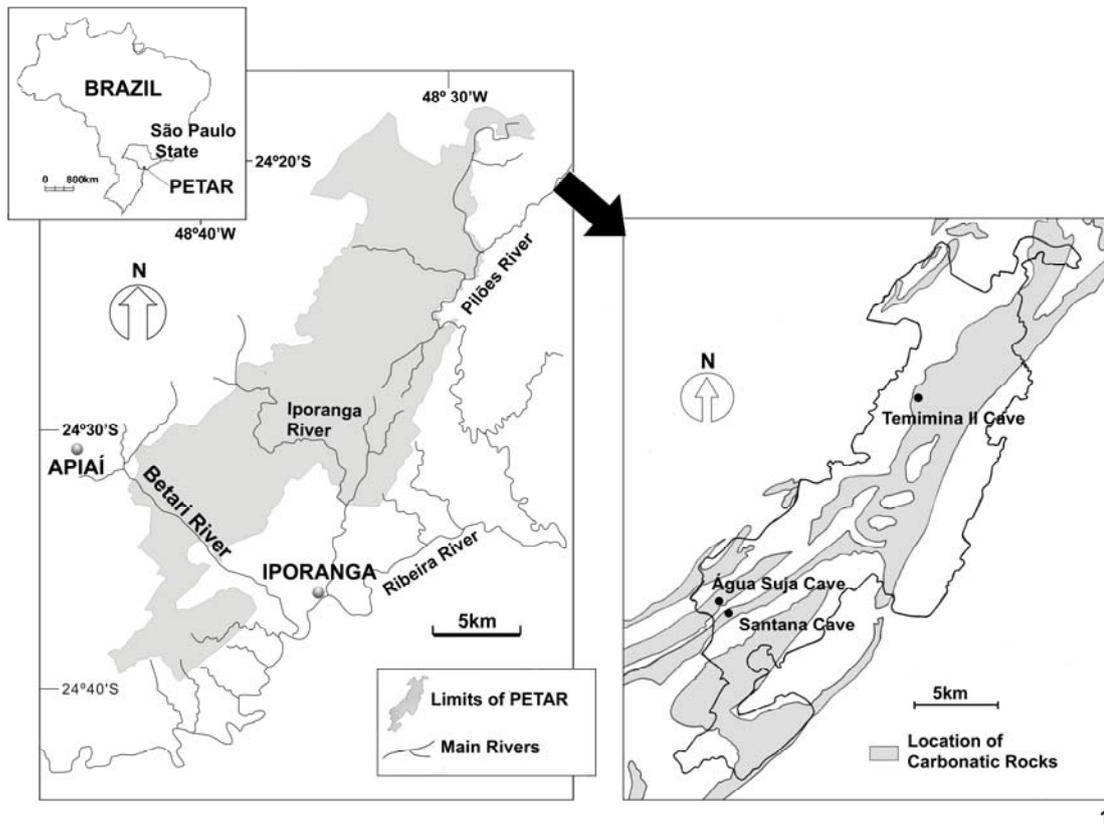
452 **FIGURE CAPTIONS**

453 **Figure 1** Limits of Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) and location of  
454 limestone and caves in the study area. Modified from geologic map available at Campanha  
455 (2003) and Karmann & Ferrari (2002).

456 **Figure 2** Dorsal view of *Aegla schmitti* showing the landmarks used in geometric  
457 morphometric analyses. **1** tip of the rostrum; **2 and 9** outer basis of eyestalk; **3 and 8** tip of  
458 anterolateral spine; **4 and 7** precervical width; **5 and 6** cephalothorax posterior region  
459 (marked where abdomen begins); **10 and 11** cervical groove apodeme.

460 **Figure 3** Relative Warps for values of  $\alpha=0$  of *A. schmitti* males from Betari River sampled  
461 specimens (circles), Betari River from scientific collections (squares) and from Santana Cave  
462 (triangles). RW1 = Relative warp 1 e RW2 = Relative warp 2.

463 **Figure 4** Thin plate splines diagrams showing deformations of a reference in a target  
464 configuration. (a) Betari River deformed in Santana Cave; (b) Santana Cave in Betari River.  
465 Results magnified 10 times for visualization of shape differences.

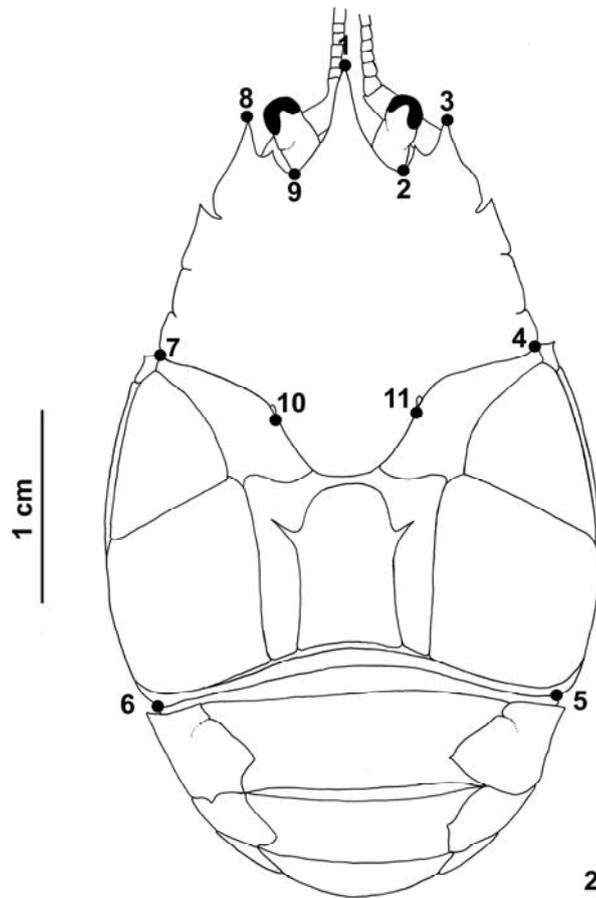


466

467 **Figure 1** Limits of Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) and location of  
 468 limestone and caves in the study area. Modified from geologic map available at Campanha  
 469 (2003) and Karmann & Ferrari (2002).

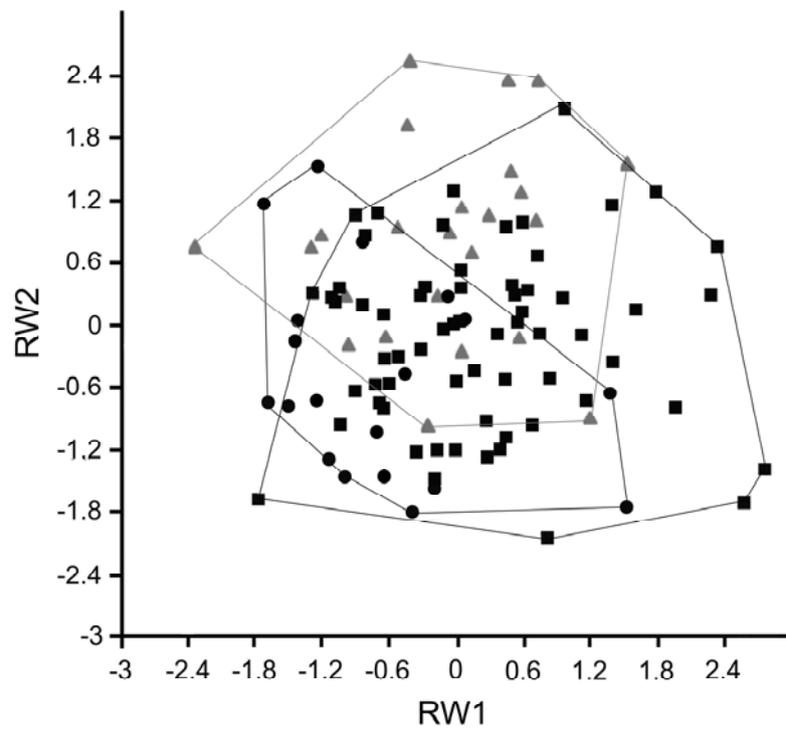
470

471



472

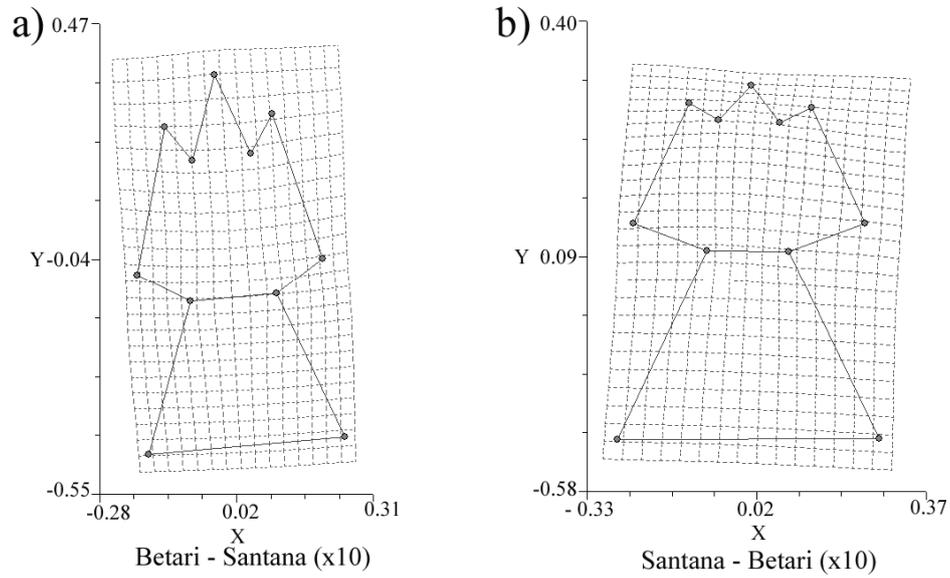
473 **Figure 2** Dorsal view of *Aegla schmitti* showing the landmarks used in geometric  
 474 morphometric analyses. **1** tip of the rostrum; **2 and 9** outer basis of eyestalk; **3 and 8** tip of  
 475 anterolateral spine; **4 and 7** precervical width; **5 and 6**, cephalothorax posterior region  
 476 (marked where abdomen begins); **10 and 11** cervical groove apodeme.  
 477



3

478  
 479  
 480  
 481  
 482  
 483  
 484

**Figure 3** Relative Warps for values of  $\alpha=0$  of *A. schmitti* males from Betari River sampled specimens (circles), Betari River from scientific collections (squares) and from Santana Cave (triangles). RW1 = Relative warp 1 e RW2 = Relative warp 2.



4

485  
 486  
 487  
 488

**Figure 4** Thin plate splines diagrams showing deformations of a reference in a target configuration. (a) Betari River deformed in Santana Cave; (b) Santana Cave in Betari River. Results magnified 10 times for visualization of shape differences.

*Resultados e  
Discussão*

## 9 RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Durante as amostragens, capturamos indivíduos adultos de *Aegla schmitti* no Rio Betari (18 machos) e na Caverna de Santana (quatro machos) com medidas entre 22,81 e 28,44 mm. Não obtivemos nenhum espécime nas Grutas Temimina II e Água Suja, apesar de haver registro de ocorrência nesses locais (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; ROCHA & BUENO 2004). Uma falha amostral deve ser considerada, porém é possível que a permanência dessa espécie nessas cavernas tenha sido transitória, em função de uma dinâmica de metapopulações (HARRISSON 1991; ROCHA et al. 2006), como proposto neste trabalho.

Indivíduos jovens (4,3 a 11,74 mm) e adultos (12,32 a 21,14 mm) de *A. marginata* foram obtidos em algumas das localidades visitadas: Gruta do Fendão (duas fêmeas e três machos adultos); Temimina I e II (sete fêmeas adultas e 12 juvenis, dois machos adultos e dez juvenis); Gruta Colorida (um macho e uma fêmea adultos) e Jane Mansfield (três fêmeas adultas e uma juvenil, três machos adultos um juvenil). Não houve captura na Gruta do Tatu e nem no Rio da Bocaina, onde havia registro anterior (MORACHIOLLI 1994). Diversas populações dessa espécie, incluindo indivíduos juvenis, têm sido registradas nas mesmas cavernas ao longo do tempo (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; ROCHA & BUENO 2004). Esses fatos podem indicar que *A. marginata* coloniza e estabelece populações viáveis em meio subterrâneo com maior facilidade que *A. schmitti*.

Estimativas populacionais realizadas em 1994 por Morachiolli apontaram densidades relativamente elevadas para as populações de troglóbios da Gruta dos Paiva (*A. leptochela*) e Areias II (*A. cavernicola*). Em trabalho mais recente (MAIA et al. 2009), observou-se uma redução significativa nos tamanhos populacionais de *A. leptochela*. Nesse mesmo trabalho, nenhum exemplar de *A. cavernicola* foi avistado e confirmou-se a situação crítica de *A. microphthalma*. Embora estudos específicos não tenham sido realizados, corroboramos Maia et al. (2009) na medida em que, em diversas ocasiões de coleta, durante as quais todo o rio das cavernas foi percorrido por seis pessoas e armadilhas foram deixadas no local, nenhum troglóbio foi capturado ou sequer avistado na Caverna de Santana (*A. microphthalma*) e na Ressurgência das Areias de Água Quente (*A. cavernicola*). As únicas amostras obtidas foram as das coleções científicas, totalizando quatro fêmeas e dois machos da espécie *A. microphthalma*, sete fêmeas e 13 machos de *A. leptochela* na Gruta dos Paiva (não visitada para esse trabalho) e sete fêmeas e cinco machos da espécie *A. cavernicola*, endêmica ao Sistema Areias.

O número reduzido de indivíduos obtidos de *A. marginata* e *A. schmitti* em algumas cavernas impediu que estas fossem avaliadas quanto ao isolamento morfológico de suas populações, como inicialmente pretendido. No caso de *A. schmitti*, esperava-se comparar as cavernas de Santana, Água Suja e Temimina II, ocorrentes em diferentes lentes calcárias (TRAJANO 1991; BICHUETTE 1998; GENTHNER, FERRARI & KARMANN 2003), a fim de verificar a influência da distância entre os pontos de coleta e também um possível isolamento entre os sistemas de cavernas na morfologia do cefalotórax.

A amostra total de indivíduos adultos obtida para essa espécie compreendeu 24 machos e três fêmeas da Caverna de Santana, 84 machos e 50 fêmeas para o Rio Betari, três fêmeas e dois machos da Gruta Temimina II e somente três fêmeas provenientes da Gruta Água Suja, inviabilizando análises estatísticas envolvendo as duas últimas localidades. Sendo assim, comparamos somente indivíduos machos do Rio Betari e da Caverna de Santana, quanto à possível existência de adaptações ao meio subterrâneo. A diferença na proporção sexual provavelmente ocorreu em função de diferenças comportamentais, já que as fêmeas costumam se enterrar no substrato enquanto os machos são nadadores ativos (TEODÓSIO 2007).

Para a espécie *A. marginata*, como todas as cavernas visitadas encontravam-se localizadas no mesmo maciço calcário (com exceção das Grutas Temimina I e II) (PELLEGATTI-FRANCO 1997), as comparações deveriam levar em consideração a influência das diferentes microbacias hidrográficas na forma desses organismos. Os indivíduos adultos dessa espécie, incluindo as amostras provenientes de coleções, totalizaram sete fêmeas e dois machos das Grutas Temimina, duas fêmeas e quatro machos da Gruta do Fendão, um macho do Rio Barra Bonita, três fêmeas e seis machos da Gruta Jane Mansfield, duas fêmeas da Gruta Barra Bonita, três fêmeas e cinco machos da Gruta dos Paiva e três fêmeas e oito machos da Gruta Colorida, tamanho amostral insuficiente para as análises de morfometria geométrica.

Cavernas localizadas no mesmo maciço calcário frequentemente formam sistemas interconectados (PALMER 2007), por onde pode haver dispersão de organismos cavernícolas. Nesses casos, em geral, as espécies estão amplamente distribuídas (BARR 1967; BARR & HOLSINGER 1985). Sem as restrições impostas por rochas não solúveis, a migração de organismos troglófilos pode ocorrer entre as cavernas do mesmo sistema e também por meio epígeo. A presença bastante freqüente de *A. marginata* nas cavernas e rios ao longo da região do PEI é evidência de que esses organismos se utilizam de ambos os caminhos para dispersão. Isso é possível já que todas as cavernas amostradas na região de Intervalles fazem parte da

mesma lente calcária (PELLEGATTI-FRANCO 1997) (ver figura 4 em materiais & métodos).

A espécie *A. schmitti* ocorre apenas em determinadas cavernas. Essa diferença entre as duas espécies troglófilas possivelmente deve-se ao fato de a unidade geomorfológica do PETAR ser composta por quatro diferentes lentes calcárias separadas por rochas insolúveis, e cada caverna com registro de *A. schmitti* encontrar-se em um estrato diferente (TRAJANO 1991; BICHUETTE 1998; GENTHNER, FERRARI & KARMANN 2003) (ver figura 3 em materiais & métodos). Esse padrão sugere que a colonização do meio subterrâneo pela espécie ocorre somente a partir de populações-fonte epígeas.

Essa influência das barreiras geológicas na distribuição das espécies também é observada para *Aegla* troglóbias do PETAR: *A. microphthalma* (Caverna de Santana) e *A. cavernicola* (Sistema Areias). Esta última ainda mostra reduzida capacidade de migrar por meio subterrâneo, uma vez que ocorre nas cavernas localizadas no mesmo sistema (Gruta das Areias de Cima, Areias de Baixo e Ressurgência das Areias de Água Quente) (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; ROCHA & BUENO 2004). Entretanto, assim como as demais espécies do gênero ocorrentes no local, *A. cavernicola* não transpõe as rochas insolúveis que, portanto, atuam como barreira à dispersão por meio subterrâneo. As duas novas espécies, possivelmente troglóbias (CAMARGO 2010), descobertas na região de Bulhas D'água (Bacia do Rio Pilões) ocorrem em área limítrofe entre os dois parques, atravessada por diferentes lentes calcárias, segundo o mapa geológico de Campanha (2003). O maior número de espécies endêmicas com pequena amplitude geográfica observada nesses locais cujas cavernas estão separadas por barreiras extrínsecas, confirma o padrão previsto por Barr (1967) e Barr & Holsinger (1985) para espécies subterrâneas de Coleoptera (Trechinae).

A espécie *A. leptochela* ocorre em simpatria com *A. marginata* na Gruta dos Paiva, região do PEI em que o maciço calcário é contínuo (PELLEGATTI-FRANCO 1997) e, mesmo assim, não é encontrada em outras cavernas além da localidade-tipo. Nesse caso, é possível que o troglóbio possua reduzida habilidade de migração ou, ainda, que a competição entre ambas possa impor restrições adicionais à expansão da espécie troglóbia por meio subterrâneo (BARR 1967). Os padrões de distribuição das espécies de *Aegla* na área de estudo corroboram as evidências obtidas para Coleoptera (Trechinae) troglóbios de regiões temperadas, segundo as quais a amplitude das espécies hipógeas depende não somente da presença ou ausência de rochas insolúveis interrompendo o calcário, mas também da mobilidade e do comportamento destas, ou seja, fatores intrínsecos às populações (BARR 1967; BARR & HOLSINGER 1985). Ainda que ocorra elevada divergência genética nas

populações devido aos fatores discutidos acima, há o risco de perda de alelos caso não haja o fluxo gênico por meio de indivíduos migrantes (BARR 1967). Como eglídeos são, possivelmente, bons indicadores de fina escala (PÉREZ-LOSADA et al. 2008), padrões similares de distribuição restrita de espécies podem estar ocorrendo com outros táxons aquáticos, merecendo ser mais bem investigados.

Não registramos novas ocorrências para as espécies estudadas. A ausência de capturas para algumas cavernas com registro de ocorrência sugere falha amostral ou, ainda, que esses indivíduos tiveram permanência temporária na caverna. Entretanto, esses dados também podem indicar que houve declínio populacional das espécies de *Aegla* da região, não apenas dos troglóbios como já constatado no trabalho de Maia et al (2009), mas também para as espécies troglófilas.

Na região do PETAR, constatou-se o comprometimento da qualidade da água por resíduos de agroquímicos, esgotos domésticos não tratados e metais pesados em teores potencialmente perigosos, medidos em tecidos de peixes e sedimento (MORAES 2003; COTTA, REZENDE & PIOVANI 2006). Ainda, peixes do Ribeirão Furnas, que deságua no Rio Betari, mostraram efeitos resultantes de exposição crônica a metais pesados, como a redução do fator de condição, redução de atividade enzimática, aumento do percentual de indivíduos com dieta generalista e diminuição da densidade e diversidade da comunidade de peixes (MORAES 2003). Dados desse tipo ainda não foram obtidos com relação às populações de eglídeos nesse local, porém é possível que estejam na mesma situação que os peixes, principalmente por serem muito seletivos com relação aos habitats (BUENO & BOND-BUCKUP 1996).

Níveis elevados desses resíduos não foram observados na área do PEI (MORAES 2003), entretanto os impactos promovidos pela presença de pessoas nas cavernas são evidentes em função da recuperação da população de *A. marginata* da Gruta Colorida observada após a proibição do acesso de turistas (M. E. Bichuette, com. pess.). Sendo assim, a possibilidade de declínio populacional dos eglídeos exige que estudos adicionais sejam realizados na área dos parques visando à elaboração de políticas eficientes de manejo e fiscalização desses locais.

Os resultados forneceram evidências morfológicas de que a espécie *A. schmitti* é capaz de estabelecer populações viáveis em cavernas, já que os indivíduos provenientes do Rio Betari e os da Caverna de Santana são distintos quanto à morfologia do cefalotórax, com níveis elevados de significância ( $p=0.003$ ). Essa diferença pode ser observada principalmente nos marcos anatômicos posicionados nos espinhos ântero-laterais e pedúnculos oculares, que

mostraram a maior influência no primeiro componente principal após a análise de deformações relativas. Os indivíduos da caverna de Santana, de modo geral, possuem o cefalotórax mais estreito e a região pré-cervical alongada em relação aos indivíduos do Rio Betari.

O resultado da análise de deformações relativas também permitiu descartar a possibilidade de essa divergência ter ocorrido unicamente pela influência da distância entre os pontos de coleta, por Efeito de Área (VANZOLINI 1992), uma vez que o material coletado no rio próximo à saída da caverna de Santana mostrou maior semelhança morfológica com indivíduos coletados no próprio rio, provenientes das coleções científicas.

A pigmentação em crustáceos Decapoda é frequentemente associada à disponibilidade de pigmentos vegetais na dieta (MAGUIRE JR. 1961; WOLFE & CORNWELL 1964), escassos em ambientes subterrâneos. De acordo com Morachiolli (1994), indivíduos das espécies *A. marginata* e *A. schmitti* mantidos em laboratório sob condições afóticas e sem inclusão de carotenoides na alimentação por um período prolongado (da ordem de um ano) apresentaram redução progressiva da pigmentação a cada muda. Assim, os indivíduos em diversos graus de despigmentação observados em campo por essa autora estariam sobrevivendo no interior das cavernas por um período de tempo considerável. Em conjunto com outros registros de capturas da espécie em cavernas no passado (BOND-BUCKUP & BUCKUP 1994; MORACHIOLLI 1994; ROCHA & BUENO 2004) e resultados do presente trabalho, podemos afirmar que *A. schmitti* coloniza com sucesso o ambiente cavernícola.

De acordo com os resultados, sugerimos que as populações analisadas enquadram-se no modelo de metapopulações continente-ilha (ou fonte-escoadouro) (HARRISSON 1991; ROCHA et al. 2006). Esse modelo explica a permanência transitória de exemplares da espécie nas cavernas Temimina II e Água Suja e também o padrão de contínua divergência morfológica observado no gráfico de deformações relativas, indicativo de que essas populações mantêm o fluxo gênico, estando apenas parcialmente isoladas. Segundo o modelo proposto, a população de *A. schmitti* proveniente do Rio Betari, constituída por maior número de indivíduos, atuaria como fonte de novos genes por meio de migrações para a população da Caverna de Santana. Esta última estaria em condições mais restritivas, dependendo dos indivíduos migrantes do Rio Betari para sua permanência. Esses resultados corroboram Barr & Holsinger (1985), na medida em que sugerem um padrão de ambientes descontínuos para a evolução das populações de *A. schmitti* da Caverna de Santana e do Rio Betari.

O traçado aproximado da antiga rede de drenagem superficial sobre as rochas da região mostra a ocorrência de desvios ao longo do tempo, em função do aumento gradativo da

capacidade de drenagem subterrânea nas rochas calcárias (KARMANN 1994). Ainda, as alternâncias climáticas que teriam ocorrido na região (AB'SABER 1977; LEDRU 1993; CRUZ et al. 2005) podem ter baixado níveis de rios durante os períodos mais secos, isolando-os. Embora não existam estudos específicos sobre a paleodrenagem da região, estimativas do tempo de isolamento do bagre subterrâneo *Pimelodella kronei* (Ribeiro, 1907) remetem ao Pleistoceno, época em que tais alterações de drenagem teriam ocorrido (TRAJANO & BRITSKI 1992).

O isolamento de populações troglófilas em meio subterrâneo durante os períodos mais secos, associado à fragmentação do ambiente aquático promovida pelo rebaixamento de lençóis freáticos, possibilitaria sua divergência (TRAJANO 1995). Há evidências da atuação de alternâncias climáticas do Pleistoceno na divergência genética de populações epígeas de *Aegla alacalufi* (XU et al. 2009) e no surgimento de formas fracamente modificadas (pouco despigmentadas, apêndices pouco alongados e presença de olhos) em opiliões do gênero *Sclerobunus* (DERKARABETIAN, STEINMANN & HEDIN 2010). Ainda não há estudos que avaliem a atuação dessas alternâncias climáticas nas frequências gênicas de *A. schmitti* ocorrentes na área de estudo.

Além do isolamento reprodutivo parcial observado nos resultados, é possível que as diferenças morfológicas constatadas na população da Caverna de Santana sejam consequência da seleção de alelos com características vantajosas à sobrevivência no meio subterrâneo ou, ainda, da existência de um fenótipo ambientalmente induzido. No primeiro caso, a adaptação genética favoreceria indivíduos com características morfológicas e fisiológicas diferentes entre os dois ambientes, os ecótipos (ROMERO & GREEN 2005; BROWN & LOMOLINO 2006). Já a capacidade de resposta fenotípica às condições do meio pode ser também favorecida por seleção natural, visto que aumenta a probabilidade de adaptação a diferentes condições do ambiente (WHITEMAN 1994; STEARNS 1983; ROMERO & GREEN 2005) e foi observada em estudos experimentais com peixes *Astyanax fasciatus* (ROMERO, JEFFERY & YAMAMOTO 2002) e lagostas epígeas *Cambarus tenebrosus* (COOPER et al. 2001) em condições afóticas. Em um ambiente sujeito à sazonalidade em relação ao aporte de alimento trazido por períodos chuvosos (BICHUETTE & TRAJANO 2003), como o subterrâneo, é esperado que genótipos plásticos sejam favorecidos por seleção natural. A variabilidade intraespecífica de espécies de *Aegla* (ver GIRI & COLLINS 2004; GIRI & LOY 2008) sugere que esses organismos são dotados de plasticidade e respondem às variações do ambiente. Entretanto, nossos resultados não permitem afirmar se as diferenças morfológicas

observadas são respostas às condições ambientais ou se adaptação genética ao ambiente subterrâneo.

*Conclusões*

## 10 CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a espécie *A. schmitti* é capaz de estabelecer populações viáveis em meio subterrâneo, constituindo espécie troglófila. Entretanto, os registros de ocorrência e o isolamento parcial observado na morfometria geométrica sugeriram que a população na Caverna de Santana segue uma dinâmica de metapopulações do tipo continente-ilha, recebendo novos genes por meio de indivíduos migrantes provenientes da população do Rio Betari. Sendo assim, as condições do ambiente subterrâneo seriam mais restritivas ao estabelecimento desses organismos, existindo subpopulações com permanência transitória em alguns locais.

Divergências morfológicas apresentadas pela população de *A. schmitti* da caverna de Santana em relação aos indivíduos do Rio Betari possivelmente são reflexo da existência de um fenótipo ambientalmente induzido ou da adaptação genética à vida em meio subterrâneo. Estudos de tamanho populacional efetivo seriam úteis a fim de avaliar a viabilidade dessa população no interior da Caverna Santana.

O número reduzido de capturas obtidas para ambas as espécies (*A. marginata* e *A. schmitti*) para algumas das localidades impediu que estas fossem comparadas quanto ao isolamento morfológico das populações. Entretanto, a distribuição da espécie *A. marginata* por grande extensão geográfica em Intervales, em cavernas da mesma lente, sugere que a espécie se dispersa tanto por meio subterrâneo quanto por meio epígeo. Já *A. leptochela*, endêmica à gruta dos Paiva, possivelmente tem sua dispersão limitada por competição com a espécie simpátrica ou por sua capacidade de acesso a conexões subterrâneas. A ocorrência de *A. schmitti* em poucas cavernas do PETAR, localizadas em diferentes lentes calcárias, indicou que esta espécie colonizou as cavernas somente por meio do rio epígeo e que algumas dessas populações são transitórias. Todas as espécies do PETAR, inclusive as troglóbias, mostraram ter sua distribuição limitada pela presença das rochas insolúveis.

Embora não tenha sido possível realizar a morfometria geométrica da espécie *A. marginata*, os registros temporais de ocorrência com ampla distribuição em cavernas na área de estudo e as capturas obtidas no presente nos permitiram concluir que a espécie está mais bem estabelecida no ambiente subterrâneo do que *A. schmitti*. Ambas podem ser consideradas troglófilas, mas possuem diferentes graus de adaptação ao meio subterrâneo.

Não foram ampliados registros de ocorrência para nenhuma espécie de *Aegla* da área de estudo. A ausência de capturas em localidades com registro anterior sugeriu a permanência transitória dos indivíduos nesses locais, falha amostral ou, ainda, o declínio populacional das

espécies estudadas. Estas, de acordo com os padrões de distribuição observados, encontram-se potencialmente isoladas e, em consequência, vulneráveis à perda de alelos. Além disso, podem indicar a ocorrência de padrões similares em outros táxons aquáticos.

## 11 REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. **Paleoclimas**, São Paulo, v. 3, p. 1-9.
- BARR Jr, T. C. 1967. Observations on the ecology of caves. **The American Naturalist**, Chicago, v. 101, n. 922, p. 475-491.
- BARR Jr., T. C.; HOLSINGER, J. R. 1985. Speciation in cave faunas. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 16, p. 313-337.
- BARROSO, F. E. C. 2005. **O efeito dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Botryocladia occidentalis* (Rhodophyta, Rhodimenniales) na sobrevivência de pós-larvas do camarão *Litopenaeus vannamei*, adaptadas em águas oligohalinas**. 67p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- BICHUETTE, M. E. 1998. **Distribuição e biologia de gastrópodes de água doce, gênero *Potamolithus*, no Vale do Alto Ribeira, São Paulo (Mollusca: Gastropoda: Hydrobiidae)**. 127 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BICHUETTE, M. E.; TRAJANO, E. 2003. Epigeal and subterranean ichthyofauna from the São Domingos Karst area, Upper Tocantins River Basin, central Brazil. **Journal of Fish Biology**, British Isles, v. 63, p. 1100-1121.
- BOND-BUCKUP, G.; BUCKUP, L. 1994. A Família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). **Arquivos de Zoologia do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1-346.
- BUENO, A. A. P.; BOND-BUCKUP, G. 1996. Os estágios juvenis iniciais de *Aegla violacea* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). **Nauplius**, Rio Grande, v. 4, p. 39-47.
- BROWN J.; LOMOLINO, M. V. 2006. **Biogeografia**. 2 ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 691p.
- CAMARGO, A. L. 2010. Duas novas espécies de eglídeos descobertas em Bulhas d'Água, São Paulo. **O Carste**, Belo Horizonte, v. 22, p. 12-14.
- CAMPANHA, G. A. C. 2003. **O papel do sistema de zonas de cisalhamento transcorrentes na configuração da porção meridional da Faixa Ribeira**. Tese (Livre Docência), São Paulo: Universidade de São Paulo, 138p.
- COTTA, J. A.; REZENDE, M. O. O.; PIOVANI, M. R. 2006. Avaliação do teor de metais em sedimento do Rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 40-45.

- COOPER, R. L.; LI, H.; LONG, Y.; COLE, J. L.; HOPPER, H. L. 2001. Anatomical comparisons of neural systems in sighted epigeal and troglomorphic crayfish species. **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 21, p. 360-374.
- CULLINGFORD, C. H. D. 1962. Cave fauna and flora. In: \_\_\_\_\_. **British Caving, an introduction to speleology**. 2. ed. London: Routledge and Kegan Paul, p. 347-389.
- CRUZ Jr., F. W.; BURNS, S. J.; KARMANN, I.; SHARP, W. D.; VUILLE, M.; CARDOSO, A. O.; FERRARI, J. A.; DIAS, P. L. S.; VIANA Jr. O. 2005. Insolation-driven changes in atmospheric circulation over the past 116,000 years in subtropical Brazil. **Nature**, Hampshire, v. 434, p. 63-66. doi:10.1038/nature03365.
- DE DONATO, M.; MANRIQUE, R.; RAMIREZ, R.; MAYER, L.; HOWELL C. 2005. Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* in Venezuela. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 247, p. 159-167.
- DERKARABETIAN, S.; STEINMANN, D. B.; HEDIN, M. 2010. Repeated and time-correlated morphological convergence in cave dwelling harvestmen (Opiliones, Laniatores) from Montane Western North America. **PLoS ONE**, Cambridge, v. 5, n. 5, e10388. doi:10.1371/journal.pone.0010388.
- GENTHNER, C.; FERRARI, J. C.; KARMANN, I. 2003. Identificação das áreas de Recarga de fontes cársticas com o uso do traçador Rodamina Fwt (Área carbonática Lajeado – Bombas, Iporanga-SP). **Revista do Instituto Geológico**, São Paulo, v. 24, n.1-2, p. 11-23.
- GIRI, F.; COLLINS, P. A. 2004. A geometric morphometric analysis of two sympatric species of the family Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura) from the La Plata basin. **Italian Journal of Zoology**, Trieste, v. 71, p. 85-88. doi:10.1080/11250000409356555.
- GIRI, F.; LOY, A. 2008. Size and shape variation of two freshwater crabs in Argentinean Patagonia: the influence of sexual dimorphism, habitat, and species interactions. **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 28, n. 1, p. 37-45.
- GREGATI, R. A.; NEGREIROS-FRANZOZO, M. L. 2009. Occurrence of Shell disease and carapace abnormalities on natural population of *Neohelice granulata* (Crustacea: Varunidae) from a tropical mangrove forest, Brazil. **Marine Biodiversity Records**, Cambridge, v. 2, n. 60, p. 1-3.
- HARRISSON, S. 1991. Local extinction in a metapopulation context: an empirical evaluation. In: GILPIN, M. E.; HANSKI I. (editors). **Metapopulation dynamics: empirical and theoretical investigations**. London: Academic Press, pp. 73-88.
- KARMANN, I. 1994. **Evolução e dinâmica atual do sistema cárstico do Alto Vale do Rio Ribeira de Iguape, sudeste do Estado de São Paulo**. 241 p. Tese (Doutorado em Geologia), Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

- LEDRU, M. P. 1993. Late Quaternary environmental and climatic changes in Central Brazil. **Quaternary Research**, Washington, v. 39, p. 90-98.
- LÓPEZ-GRECO, L. S.; BOLAÑOS, J.; RODRÍGUEZ, E.; HERNÁNDEZ, G. 2001. Survival and molting of the pea crab larvae *Tunicotheres moseri* Rathbun, 1918 (Brachyura, Pinnotheridae), exposed to copper. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, Paron, v. 40, p. 505-510.
- LUPPI, T. A.; SPIVAK, E. D. 2007. Morphology of megalopa and first crab of *Cyrtograpsus angulatus*, with comments on the presence of an anomalous first crab stage in brachyuran crabs. **Journal of Crustacean Biology**, Lawrence, v. 27, n.1, p. 80-89.
- MARTIN, J. W.; ABELE, L. G. 1988. External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea: Anomura: Aeglidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, Washington, v. 453, p. 1-46.
- MAIA, S. C. A.; MOLINA, W. F.; DE F. 2009. Analysis of fluctuating asymmetries in marine shrimp *Litopenaeus schmitti* (Decapoda, Penaeidae). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, Rio Grande, v. 4, n.1, p. 55-62.
- MAIA, K. P.; TAKANO, B. F.; GUIL, A. L. F.; BUENO, S. L. S.; TRAJANO, E. 2009. Ecologia populacional e conservação de crustáceos eglídeos (Decapoda: Aeglidae) na área cárstica do Alto Ribeira, São Paulo. In: **Encontro Brasileiro de Estudos do Carste – Carste**, 3, São Carlos, Programação e livro de resumos, Redespeleo Brasil e Universidade Federal de São Carlos, p. 45-46.
- MAGUIRE Jr, B. 1961. Regressive evolution in cave animals and its mechanism. **Texas Journal of Science**, Texas, v. 13, p. 363-370.
- MORACHIOLLI, N. 1994. **Estudo da biologia de *Aegla* spp. cavernícolas do Vale do Alto Ribeira, São Paulo (Crustacea: Anomura: Aeglidae)**. 148 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- MORACHIOLLI, N.; TRAJANO, E. 2002. **Reproductive aspects and population densities of cave *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in the Ribeira Valley karst area, southeastern Brazil**. Livro de resumos do Congresso Brasileiro Sobre Crustáceos, São Pedro: Sociedade Brasileira de Carcinologia, 211p.
- MORAES, R. 2003. **Avaliação de Risco Ecológico no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR) Brasil**. Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden, 34 p., Relatório Técnico.
- NUNES, A. J. P.; MARTINS, P.C. 2002. Avaliando o estado de Saúde de Camarões Marinhos na Engorda. **Panorama da Aqüicultura**, Laranjeiras, v. 12, n. 72, p. 23-33.
- PALMER, A. N. 2007. **Cave geology**. Dayton: Cave Books, 454 p.

- PELLEGATTI-FRANCO, F. 1997. **Estudo da história natural do grilo cavernícola *Strinatia brevipennis* (Ensifera: Phalangopsidae) em laboratório.** 73 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PÉREZ-LOSADA, M.; BOND-BUCKUP, G.; JARA, C. G.; CRANDALL, K. A. 2008. Conservation Assessment of Southern South American Freshwater Ecoregions on the Basis of the Distribution and Genetic Diversity of Crabs from the Genus *Aegla*. **Conservation Biology**, Washington, v. 23, n. 3, p. 692-702. doi: 10.1111/j.1523-1739.2008.01161.x.
- POLY, W. J.; BOUCHER, C. E. 1996. Nontroglobitic fishes in caves: their abnormalities, ecological classification and importance. **The American Midland Naturalist Journal**, Notre Dame, v. 136, p. 187-198.
- POULSON, T. L.; WHITE, W. B. 1969. The cave environment. **Science**, Washington/Cambridge, v. 3897, n. 165, p. 971-980.
- RASQUIN, P.; ROSENBLOOM L. 1954. Endocrine imbalance and tissue hyperplasia in teleosts maintained in darkness. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 104, p. 359-426.
- RELYEA, K., B. SUTTON. 1973. Cave dwelling yellow bullheads in Florida. **Florida Citizens for Science**, Tampa, v. 36, p.31-34.
- ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; VAN SLUYS, M.; ALVES, M. A. 2006. **Biologia da Conservação – Essências**. São Carlos: RiMa, 582p.
- ROCHA, S. S.; BUENO, S. L. S. 2004. Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale do Ribeira de Iguape e Rios Costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 1001-1010.
- ROMERO, A.; JEFFERY, W.; YAMAMOTO, Y. 2002. When cave fish see the light: reaction norm to light exposure during development in epigeal, troglomorphic and hybrids of *Astyanax fasciatus*. **Program Book and Abstracts, Joint Meeting of Ichthyologists and herpetologists**. Kansas City: University of Kansas, p.225.
- ROMERO, A.; GREEN, S. M. 2005. The end of regressive evolution: examining and interpreting the evidence from cave fishes. **Journal of Fish Biology**, British Isles, v. 67, p. 3-32. doi:10.1111/j.1095-8649.2005.00776.x
- STEARNS, S. C. 1983. The evolution of life-history traits in mosquitofish since their introduction to Hawaii in 1905: rates of evolution, heritabilities, and developmental plasticity. **American Zoologist**, Washington, v. 23, p. 65–75.
- TEODÓSIO, E. A. O. 2007. **Biologia de *Aegla schmitti* Hobbs III, 1979 (Crustacea, Anomura, Aegliidae) em reservatórios dos Mananciais da Serra, Piraquara, Estado**

**do Paraná.** 62 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

- TRAJANO, E. 1991. Population ecology of *Pimelodella kronei*, troglobitic catfish from southeastern Brazil (Siluriformes: Pimelodidae). **Environmental Biology of Fishes**, Netherlands, v. 30, p. 407-421.
- TRAJANO, E. 1995. Evolution of tropical troglobites: applicability of the model of Quaternary climatic fluctuations. **Mémoires de Biospéologie**, Moulis, v. 23, p. 203-209.
- TRAJANO, E. 2007. The challenge of estimating the age of subterranean lineages: examples from Brazil. **Acta Carsologica**, Ljubljana, v. 36, n. 1, p. 191-198.
- TRAJANO, E.; BRITSKI, H. A. 1992. *Pimelodella kronei* (Ribeiro, 1907) e seu sinônimo *Caecorhamdella brasiliensis* Borodin, 1927: morfologia externa, taxonomia e evolução (Teleostomi, Siluriformes). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 12, p. 53-89.
- VANZOLINI, P. E. 1992. Paleoclimas e especiação em animais da América do Sul tropical. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 6, n. 15, p. 41-65.
- WHITEMAN, H. H. 1994. Evolution of facultative paedomorphosis in salamanders. **Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 69, p. 205-221.
- WOLFE, D. A.; CORNWELL, D. G. 1964. Carotenoids of cavernicolous crayfish. **Science**, Washington, v. 144, p. 1467-1469.
- XU J.; PÉREZ-LOSADA, M.; JARA, C.; CRANDALL, K. 2009. Pleistocene glaciation leaves deep signature on the freshwater crab *Aegla alacalufi* in Chilean Patagonia. **Molecular Ecology**, San Antonio, v. 18, p. 904-918. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.04070.x.

The first record of external abnormalities in the subterranean  
*Aegla marginata* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Crustacea:  
Decapoda: Aeglidae), from a karst area of Southeastern Brazil

*Anexo*

**The first record of external abnormalities in the subterranean *Aegla marginata* Bond-Buckup & Buckup, 1994 (Crustacea: Decapoda: Aeglidae), from a karst area of Southeastern Brazil.**

Camile Sorbo FERNANDES <sup>(1\*)</sup>, Rafael Augusto GREGATI <sup>(2)</sup> & Maria Elina BICHUETTE <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Laboratório de Estudos Subterrâneos, Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (DEBE), Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. Via Washington Luís, km 235, São Carlos, SP, Brazil, 13565-905, phone +55 16 3351-8798, PO Box 676. <sup>(1\*)</sup> e-mail: camilesorf@bol.com.br; <sup>(3)</sup> e-mail: bichuette@uol.com.br

<sup>(2)</sup> Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos (NEBECC), Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Jr. s/nº, Botucatu, SP, Brazil, 18618-970, phone/fax +55 14 3811-6268. e-mail: gregati@ibb.unesp.br

\* corresponding author

**ABSTRACT:**

The occurrence of a morphologically altered individual identified as *Aegla marginata* is reported in this note. The specimen was found in the subterranean environment, as part of wider bioespeleological study. The observed abnormalities consist mainly of deformities in abdominal epimera, pleopods, telson and uropods, which could results in difficulties for reproduction and escape from predators. Genetic or nutritional factors related to the scarce food supply observed in the cave environment are admitted as being the most probable cause

of the deformities reported here. We emphasize the need of new studies in the area as well as efforts to preserve subterranean environment.

**Keywords:** Anomura, abdominal deformities, nutritional factors, genetic factors, cave environment.

## **INTRODUCTION:**

External abnormalities or deformities are just one of the common problems affecting freshwater and marine crustaceans, and have been reported in many natural crustacean populations (see Lawler and Van Engel 1973; Lira et al. 2006; Luppi & Spivak 2007; Beguer et al. 2008; Follesa et al. 2008; Gregati and Negreiros-Fransozo 2009). The most common problems are modifications on chelipeds (Morgan 1923; Shuster Jr. et al. 1963; Zou and Fingerman 2000; Benneti and Negreiros-Fransozo 2003), carapace spines (Moncada and Gomes 1980; Gregati and Negreiros-Fransozo 2009), pereopods (Lawler and Van Engel 1973) and abdomen shape (Mantellato et al. 2000). These alterations could be attributed to genetic factors (Zou and Fingerman 2000), accidents or predation that occurred during the molting process (Moncada and Gomes 1980; Luppi and Spivak 2007; Follesa et al. 2008), besides stress and environmental contamination (Beguer et al. 2008).

For crustaceans of the Infraorder Anomura Mac Leay 1838, these records are still scarce. We can cite Nickerson and Gray Jr. (1967) that describe abnormalities on pereopods of *Paralithodes camtschatica* (Tilesius, 1815) (Lithodidae); Fantucci et al. (2008) that report intersexual specimens of *Isocheles sawayai* Forest and Saint-Laurent, 1968 (Diogenidae); and Jara and Palacios (2001) that described the occurrence of conjoined twins in *Aegla abtao* Schmitt, 1942 (Aeglidae).

The Aeglidae Dana, 1852, constitutes a distinctive family of Anomura with characteristic morphology, ecology, and reproduction. They are the only freshwater anomurans. The family consists of two fossil genera and one extant genus, *Aegla* Leach, 1820, which is endemic to temperate South America. The genus contains approximately 70 species and subspecies spread out over Chile, Brazil, Argentina, Uruguay, Paraguay, and Bolivia (Bond Buckup and Buckup, 1994; Pérez Losada *et al.*, 2002) in habitats such as lakes, streams, swamps, and caves (Bond-Buckup and Buckup 1994).

The species *Aegla marginata*, is relatively little studied in comparison with other congeneric species. It is known that to occur in both epigeal and subterranean environments in Parque Estadual Intervales (PEI), Iporanga city, São Paulo State, southeastern Brazil (Rocha and Bueno 2004). In this region, the *A. marginata* populations present some differences in pigmentation among each other (Morachiolli 1994). As the species is capable of completing its entire life cycle in both subterranean and epigeal streams, it is considered as troglophiles (Barr and Holsinger 1985; Morachiolli and Trajano 2002).

The purpose of this note is to present information, for the first time about the occurrence of abdominal abnormalities on a subterranean population of *Aegla marginata*.

#### **METHODS:**

As part of a bioespeological study in the Parque Estadual Intervales (PEI), located in the city of Iporanga in the São Paulo State (Fig. 1), Brazil, anomuran crabs of the genus *Aegla* were sampled inside the cave Gruta Colorida (24° 16'13'' S; 48° 25'09'' W, registration number SP 129) by means of *covo* traps, in May 2009.

All of the collected individuals (n= 15) were kept in plastic bags and refrigerated until they were analyzed. The identification was performed according to Buckup and Bond-Buckup

(1994). An individual bearing abdominal deformities was identified by similarity with other individuals collected in the same place and occasion, because the second abdominal epimera, an important taxonomic character, was modified (Fig. 2 c). The specimen was photographed and measured under a stereoscope microscope equipped with camera and distances measurement system, and is stored in the scientific collection of the Laboratório de Estudos Subterrâneos, under the following registration numbers: CC1036.

## **RESULTS:**

The female specimen with external abdominal deformities was identified as being *Aegla marginata*, measuring 15.5 mm of carapace width and 17.6 mm of carapace length (Fig 2 a, c, e). Sex was identified by the presence of developed pleopods and the presence of the genital apertures in the coxa of third pair of pereopods, characters which are present only in females. In ventral position, there are considerable changes in the insertion of pleopods in the abdominal epimera, resulting in a non functional morphology (Fig 2 a). It is also observed the absence of the fourth and fifth pleopods on the right side of the abdomen.

In dorsal view, the second abdominal epimera is modified, and the third and fourth ones are in abnormal position, folded backwards (fig 2 c, e). Between second and third abdominal somites is a flattening of the carapace, forming a scar. The telson is almost divided in two horizontal parts, forming an additional segment. The uropod is reduced to two buds, in both sides.

The other morphological characters are similar to the ones reported in the literature for the species *A. marginata* (Buckup and Bond-Buckup 1994) and for the morphological description of the genus *Aegla* (Martin and Abele 1988).

## **DISCUSSION:**

This malformation probably results in difficulties for egg incubation and aeration, as well as juvenile maintenance, since the genus shows evidence of parental care (López-Greco et al. 2004). Moreover, as they present caridoid swim reflex (Martin and Abele 1988), probably the pleon deformities would result in greater difficulties to escape predators.

The regeneration of damaged appendages has been reported in the literature for several Decapoda, in case of injury or problems during molting (López-Greco et al. 2001; Luppi and Spivak 2007). This process is often flawed, resulting in scars and deformities (Luppi and Spivak 2007). In the case of the described specimen it is a hypothesis to be considered, although the apparent symmetry of the lesions in the uropods suggests an advanced process of regeneration that, given the extent of the lesions, would have resulted in the death of the individual.

High rates of incidence of anomalies in crustaceans have been associated with the presence of pollution by heavy metals and organophosphates (Betancourt-Lozano et al. 2006; Beguer et al. 2008; Sanchez et al. 2005). Nonetheless, there is a low probability that these pollutants may cause the reported problem, because Moraes (2003), based on chemical analysis of water, sediment and fish tissues, established the levels of these substances as being below the risk levels for the area of Parque Estadual Intervales (PEI). However, new environmental analysis must be accomplished, mostly in benthonic invertebrates.

The subterranean environment depends on allochthonous food intake, which could mean food scarcity (Bichuette and Trajano 2003). As a result, the subterranean populations may have some differences when compared to the epigeal ones, mainly in melanic pigmentation, metabolic rates, sex maturation and size (Poulson and White 1969; Mejía-Ortiz

and Lopez-Mejía 2005). Depending on the degree of nutritional deficiency, a high level of chronic distress develops, subjecting the individuals to attack by pathogens, which may cause of several deformities in crustaceans (Nunes and Martins, 2002 *apud* Barroso, 2005; Gregati and Negreiros-Fransozo, 2009). Hence, this hypothesis must be considered in the reported case.

Studies with Decapoda species in cultivation environment has demonstrated that populations subjected to inbreeding can present some morphological effects as deformities (De Donato et al. 2005), and asymmetries (Maia et al. 2009 a). In natural decreased populations without gene flow with other populations, the loss of genetic diversity is plausible. That is provided they are subjected to founder effect and genetic drift (Barr, 1967; Poulson and White, 1969; Trajano, 2007), mainly if a reproductive connection with other populations does not occur to replace this loss. In that way, some populations could be subjected to endogamic depression effects and, consequently, to morphological effects in the form of deformities or malformations (Poulson and White, *op. cit.*).

The cave system where the specimen was collected is developed in limestones that occur discontinuously and are interrupted by unsolvable rocks such as granites, phyllites and quartzites (Trajano, 1991; Bichuette, 1998). This fact suggests reduced gene flow between caves, since unsolvable rocks could limit the contact between populations by isolating the caves.

Evidence that *A. marginata* populations can be isolated was observed in the study of Morachiolli (1994), who found populations of the same species showing different levels of pigmentation in the same cave system. However, it is not known if that is due to genetic differences, pigments eaten by epigean individuals, food type, or absence of light in hypogean environment necessary to aggregate some pigments (Cullingford, 1962; Morachiolli, 1994).

The absence of light has also been reported in the literature as responsible for deformations in nontroglobitic (accidental) fishes. Rasqueen and Rosenbloom (1954) *apud* Poly and Boucher (1996) reported the occurrence of esquelletal deformations associated with darkness in epigeal individuals of *Astyanax mexicanus* (De Filippi, 1853) maintained in absence of light in the laboratory, possibly due to hormonal imbalance. Other deformations that could be associated with subterranean environment were the lack of pelvic fins or deformed caudal fins in *Ameiurus natalis* (Lesueur, 1819) (Relya and Sutton, (1973) *apud* Poly and Boucher, (1996).

We speculate that absence of light is not responsible for deformations observed in *A. marginata*, because this species is generally considered to be a troglophile (Morachioli and Trajano 2002). It is therefore well adapted and capable of completing its life cycle in a subterranean environment.

The distribution of the genus *Aegla*, which is restricted to temperate and subtropical South America (Bond-Buckup and Buckup 1994), contributes to its vulnerability (IUCN 2001). In addition the situation is aggravated by the present drastic reduction of populations in the Ribeira Valley (Maia et al. 2009 b) and, possibly, by the founder effect and increased homozygosity, both very common in subterranean populations (Barr 1967). According Brook et al. (2002), Spielman et al. (2004) and Buhay and Crandall, (2005), loss of heterozygosity and inbreeding play an important role in the extinction of threatened species. Therefore, we could consider the need of studies related to effective population size and genetic diversity in this population (Buhay and Crandall, 2005), as well as efforts to preserve subterranean environment.

In as much as only one specimen was registered with anomalies, it is not possible to establish if these problems occur by chance, or are influenced by the above mentioned factors.

Genetic or nutritional factors are suggested as being the most probable cause of the deformities reported here.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

To CNPq for the master's degree scholarship awarded to the first author (# 136052/2009-6) and Fundação Florestal do Estado for financial support. We also thank the members of the Laboratório de Estudos Subterrâneos (Universidade Federal de São Carlos - Ufscar) for collecting the biological material, and Dr. Adilson Fransozo and Dr. Maria Lucia Negreiros Fransozo for laboratorial assistance. The samplings were performed according to Brazilian State and Federal laws concerning wild animals (IBAMA # 19.051-1).

#### **REFERENCES:**

- Barr Jr., T. C. 1967. Observations on the ecology of caves. *The American Naturalist*, 101(922): 475-491.
- Barr Jr, T. C., J. R. Holsinger. 1985. Speciation in cave faunas. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16: 313-337.
- Barroso, F. E. C. 2005. O efeito dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Botryocladia occidentalis* (Rhodophyta, Rhodimenniales) na sobrevivência de pós-larvas do camarão *Litopenaeus vannamei*, adaptadas em águas oligohalinas. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Ceará, 67p.
- Beguer, M., Pasquaud, S., Noël, P., Girardin, M., P. Boët. 2008. First description of heavy skeletal deformations in *Palaemon* shrimp populations of European estuaries: the case of the Gironde (France). *Hidrobiologia*, 607: 225-229.

- Benneti, A. S., M. L. Negreiros-Fransozo. 2003. Symmetric chelipeds in males of the fiddler crab *Uca burgersi* Holthuis, 1967 (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae). *Nauplius*, 11(2), 141–144.
- Betancourt-Lozano, M., Baird, D. J., Sangha, R. S., F. Gonzalez-Farias. 2006. Induction of morphological deformities and moulting alterations in *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles exposed to the triazole derivative fungicide tilt. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 69–78.
- Bichuette, M. E. 1998. Distribuição e biologia de gastrópodes de água doce, gênero *Potamolithus*, no Vale do Alto Ribeira, São Paulo (Mollusca: Gastropoda: Hydrobiidae) 127p. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bichuette, M. E., E. Trajano. 2003. Epigeal and subterranean ichthyofauna from the São Domingos Karst area, upper Tocantins River Basin, central Brazil. *Journal of Fish Biology*, 63: 1100-1121.
- Bond-Buckup, G., L. Buckup. 1994. A Família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo*, 32(4): 1-346.
- Brook, B. W., Tonykn, D. W., O’Grady, J., R. Frankham. 2002 Contribution of inbreeding to extinction risk in threatened species. *Conservation Ecology*, 6: 16.
- Buhay, J. E., K. A. Crandall. 2005. Subterranean phylogeography of freshwater crayfishes shows extensive gene flow and surprisingly large population sizes. *Molecular Ecology*, 14: 4259-4273.

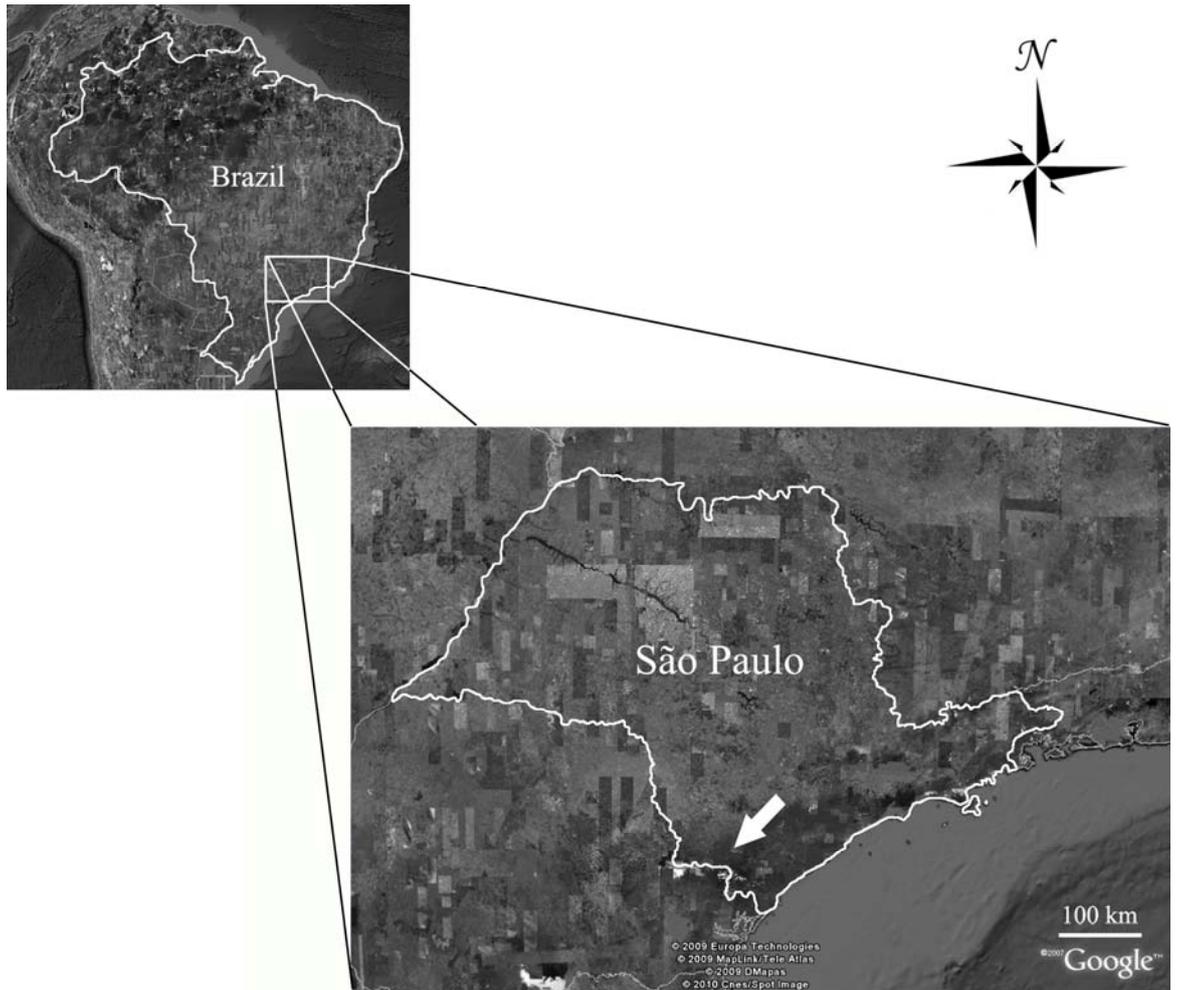
- Cullingford, C. H. D. 1962. Cave fauna and flora. *In*: CULLINGFORD, C.H.D. (ed), British Caving, an introduction to speleology. London: Routledge and Kegan Paul, 2<sup>nd</sup> ed., p. 347-389.
- De Donato, M., Manrique, R., Ramirez, R., Mayer, L., C. Howell. 2005. Mass selection and inbreeding effects on a cultivated strain of *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* in Venezuela. *Aquaculture*, 247: 159-167.
- Fantucci, M. Z., Biagi, R., F. L. Mantelatto. 2008. Record of intersexuality in the western Atlantic hermit crab *Isocheles sawayai* (Anomura: Diogenidae). *Marine Biodiversity Records*, 1(68): 1-3.
- Follesa, M. C., Cannas, R., Gastoni, A., Cabiddu, S., Deiana, A. M., A. Cau. 2008. Abnormal rostrum in *Polycheles typhlops* Heller, 1862 (Decapoda: Polychelidae) from the Central Western Mediterranean. *Journal of Crustacean Biology*, 28(4): 731-734.
- Gregati, R. A., M. L. Negreiros-Fransozo. 2009. Occurrence of Shell disease and carapace abnormalities on natural population of *Neohelice granulata* (Crustacea: Varunidae) from a tropical mangrove forest, Brazil. *Marine Biodiversity Records*, 2(60): 1-3.
- International Union For The Conservation Of Nature (IUCN), 2001. IUCN Red List Categories: Version 3.1. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.
- Jara, C. G., V. L. Palacios. 2001. Occurrence of conjoined twins in *Aegla abtao* (Schmitt, 1942). *Crustaceana*, 74(10): 1059-1065.
- Lawler A. R., W. Van-Engel. 1973. Triple regeneration of the fifth pereopod of a blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. *Chesapeake Science*, 14(2), 144–145.

- Lira, C., Bolaños, J., Hernández, G. J. Hernandez. 2006. Um caso de hipertrofia bilateral de quelas em el cangrejo violinista *Uca cumulanta* (Decapoda: Ocypodidae). *Revista de Biologia Tropical*, 54(3): 117-119.
- López-Greco, L. S., Bolaños, J., Rodríguez, E., G. Hernández. 2000. Survival and molting of the pea crab larvae *Tunicotheres moseri* Rathbun, 1918 (Brachyura, Pinnotheridae), exposed to copper. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 505-510.
- López-Greco, L. S., Viau, V., Lavolpe, M., Bond-Buckup, G., E. M. Rodriguez. 2004. Juvenile hatching and maternal care in *Aegla uruguayana* (Anomura: Aeglidae). *Journal of Crustacean Biology*, 24(2): 309-313.
- Luppi, T. A., E. D. Spivak. 2007. Morphology of megalopa and first crab of *Cyrtograpsus angulatus*, with comments on the presence of an anomalous first crab stage in brachyuran crabs. *Journal of Crustacean Biology*, 27(1): 80-89.
- Mantelatto, F. L. M., O'Brien, J. J., F. Alvarez. 2002. The first record of external abnormalities on abdomens of *Callinectes ornatus* (Portunidae) from Ubatuba Bay, Brazil. *Nauplius*, 8(1), 93-97.
- Martin, J. W., L. G. Abele. 1988. External morphology of the genus *Aegla* (Crustacea: Anomura: Aeglidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 453: 1-46.
- Maia, S. C. A., Molina, W. F., F. De. 2009 a. Analysis of fluctuating asymmetries in marine shrimp *Litopenaeus schmitti* (Decapoda, Penaeidae). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4(1): 55-62.

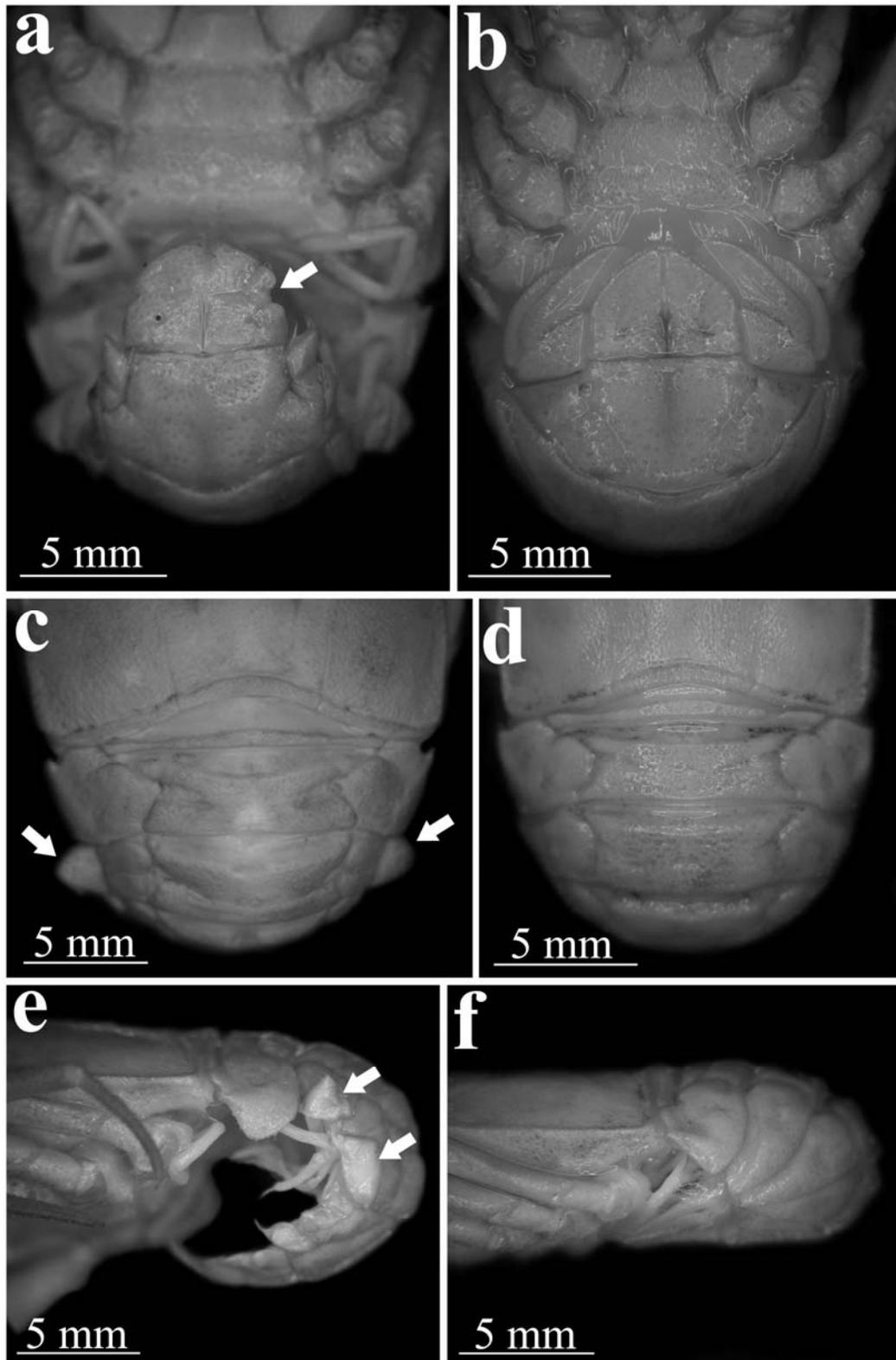
- Maia, K. P., Takano, B. F., Guil, A. L. F., Bueno S. L. S., E. Trajano. 2009 b. Ecologia populacional e conservação de crustáceos eglídeos (Decapoda: Aeglidae) na área cárstica do Alto Ribeira, São Paulo. Livro de resumos do III Encontro Brasileiro de Estudos do Carste. São Carlos, Redespeleo Brasil e Universidade Federal de São Carlos.
- Mejía-Ortiz, L. M., M. López-Mejía. 2005. Are there adaptation levels to cave life in crayfish? *Journal of Crustacean Biology*, 25(4): 593-597.
- Moncada, F.G., O. Gomes. 1980. Algunos aspectos biológicos de três especies del gênero *Callinectes* (Crustacea, Decapoda). *Revista Cubana de Investigación Pesquera*, 5: 1–35.
- Morachiolli, N. 1994. Estudo da biologia de *Aegla* spp. Cavernícolas do Vale do Alto Ribeira, São Paulo (Crustacea: Anomura: Aeglidae). Dissertação de mestrado - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 148p.
- Morachiolli, N., E. Trajano. 2002. Reproductive aspects and population densities of cave *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) in the Ribeira Valley karst area, southeastern Brazil. Livro de Resumos do Congresso Brasileiro Sobre Crustáceos, São Pedro: Sociedade Brasileira de Carcinologia, 211p.
- Moraes, R. 2003. Avaliação de Risco Ecológico no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), Brasil. 34 p. Tese de doutorado, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden.
- Morgan, T. H. 1923. The development of asymmetry in the fiddler crab. *American Naturalist*, 57: 269–274.

- Nickerson, R. B., G. W. Gray Jr. 1967. Abnormalities of King Crab Pereiopods (Decapoda, Anomura, Lithodidae). *Crustaceana* 12(1): 9-12.
- Nunes, A. J. P., P.C. Martins. 2002. Avaliando o estado de Saúde de Camarões Marinhos na Engorda. *Panorama da Aqüicultura*, 12(72): 23-33.
- Pérez-Losada, M. C. G., Jara, C., Bond-Buckup, G., Porter, M. L., K. Crandall. 2002. Phylogenetic position of the freshwater anomuran family Aeglidae. *Journal of Crustacean Biology*, 22: 670-676.
- Poly, W. J., C. E. Boucher. 1996. Nontroglobitic fishes in caves: their abnormalities, ecological classification and importance. *The American Midland Naturalist Journal*, 136: 187-198.
- Poulson, T. L., W. B. White. 1969. The cave environment. *Science*, 3897(165): 971-980.
- Rasquin, P., L. Rosenbloom. 1954. Endocrine imbalance and tissue hyperplasia in teleosts maintained in darkness. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 104: 359-426.
- Relyea, K., B. Sutton. 1973. Cave dwelling yellow bullheads in Florida. *Florida Scitizens for Science*, 36:31-34.
- Rocha, S. S., S. L. S. Bueno. 2004. Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale do Ribeira de Iguape e Rios Costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(4): 1001-1010.

- Sánchez, M. V., Cahansky, A. V., López-Greco, L. S., E. M. Rodríguez. 2005. Toxicity of mercury during the embrionic development of *Chasmagnatus granulatus* (Brachyura, Varunidae). *Environmental Research*, 99: 72-78.
- Shuster, Jr C. N., Hulmer, Jr D. B., W. A. Van Engel. 1963. A commentary on claw deformities in the blue crab. *Estuarine Bulletin*, 7(2), 15–23.
- Spielman, D., Brook, B.W., R. Frankham. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 101: 15261–15264.
- Trajano, E. 1991. Population ecology of *Pimelodella kronei*, troglobitic catfish from southeastern Brazil (Siluriformes: Pimelodidae). *Environmental Biology of Fishes*, 30: 407-421.
- Trajano, E. 2007. The challenge of estimating the age of subterranean lineages: examples from Brazil. *Acta Carsologica*, 36(1): 191-198.
- Zou, E., M. Fingerman. 2000. External features of an intersex fiddler crab, *Uca pugilator* (Bosc, 1802) (Decapoda, Brachyura). *Crustaceana*, 73(4), 417–423.



**Figure 1:** Location of Parque Estadual Intervales (PEI), Iporanga, São Paulo State, Brazil (modified from Google Earth (2010), Digital Globe satellite).



**Figure 2:** *Aegla marginata* on ventral, dorsal and lateral view. **a, c, e)** specimen found with carapace abnormalities; **b, d, f)** normal specimen found on same place. White arrows indicate the abnormalities on abdomen.