

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS BOTUCATU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÁREA DE
ZOOLOGIA**

Diversidade de espécies de *Kingsleya* Ortmann 1897, (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) no nordeste brasileiro: implicações filogenéticas.

LÍVIA MARTINS LUPINO

**BOTUCATU - SP
2024**

LÍVIA MARTINS LUPINO

Diversidade de espécies de *Kingsleya* Ortmann 1897, (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) no nordeste brasileiro: implicações filogenéticas.

Dissertação apresentada como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho sob orientação do Prof. Dr. William R. A. Santana.

**BOTUCATU - SP
2024**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Lupino, Livia Martins.

Diversidade de espécies de *Kingsleya* Ortmann 1897,
(Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) no nordeste
brasileiro : implicações filogenéticas / Livia Martins
Lupino. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: William Ricardo Amancio Santana

Capes: 20405006

1. Caranguejos. 2. Crustáceos - Distribuição geográfica.
3. Filogenia.

Palavras-chave: Caranguejos dulcícolas; Distribuição;
Filogenia.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Diversidade de espécies de Kingsleya Ortmann 1897, (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae) no nordeste brasileiro: implicações filogenéticas.

AUTORA: LÍVIA MARTINS LUPINO

ORIENTADOR: WILLIAM RICARDO AMÂNCIO SANTANA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Biológicas (Zoologia), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. WILLIAM RICARDO AMÂNCIO SANTANA (Participação Virtual)
Zoologia / Universidade Regional do Cariri

Pós Doutoranda JÉSSICA COLAVITE (Participação Virtual)
Zoologia / Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo

Prof. Dr. ALLYSSON PONTES PINHEIRO (Participação Virtual)
Zoologia / Universidade Regional do Cariri

Botucatu, 26 de janeiro de 2024

Amanda Regina Sanches
Assistente Administrativo II da Seção Técnica de Pós-graduação
do Instituto de Biociências

“A experiência humana não seria tão rica e gratificante se não existissem obstáculos a superar. O cume ensolarado de uma montanha não seria tão maravilhoso se não existissem vales sombrios a atravessar.” Helen Keller

Dedico essa dissertação aos meus pais Wilton e Rose Lupino, minha irmã Letícia, meu filho e amor Liam e ao meu companheiro Renan. Vocês são a minha força!

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar agradecendo ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências da Unesp, campus Botucatu, à coordenação e todos os funcionários que sempre estão dispostos a ajudar nas etapas do processo de conclusão desse projeto.

Ao Departamento de Zoologia, onde essa pesquisa se realizou nos últimos anos, pelo suporte e espaço físico cedidos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. William Santana, que colaborou para a idealização e realização deste trabalho contribuindo com o seu conhecimento e experiência, enriquecendo ainda mais essa fase desafiadora em minha vida acadêmica.

Agradeço à CAPES por financiar meus estudos durante o meu mestrado com o PROEX (Programa de Excelência Acadêmica), fundamental em todo projeto (88887.648412/2021-00).

Aos meus amigos do Laboratório de Sistemática Zoológica: Fran, que foi nossa mãezona durante esses anos. Jana, que está comigo desde a graduação e que eu agradeço por toda amizade, ajuda e participação em mais uma fase da minha vida. E ao Peixe, parceiro de caronas que sempre está à disposição para o que precisar.

Meus mais sinceros agradecimentos à Dr^a Jéssica Colavite, profissional capacitada e dedicada que me ensinou, dividiu experiências, ajudou minhas dificuldades, e me guiou pelos melhores caminhos, sempre sem poupar esforços, em todas as partes do desenvolvimento desse projeto. Você é incrível.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcos Tavares e ao Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo pelo acesso e recepção à coleção de carcinologia, uso das instalações necessárias e também por ceder espaço para a realização das análises moleculares junto ao Laboratório de Biologia Molecular. Aproveito para agradecer às técnicas Jaqueline e Marlise por me ensinarem e auxiliarem.

E por último agradeço, com o meu amor mais sincero, os meus familiares, mãe e pai, que acreditaram e incentivaram meus estudos mais uma vez e ficaram ao meu lado até o fim. Ao meu filho Liam, pelo amor puro e incondicional, você sempre será a razão da minha luta. Ao meu companheiro e confidente Renan, pelo carinho e paciência. À minha irmã e amiga Letícia e cunhado e amigo Lucas, que

me acolheram com muito zelo todas as vezes. Às orações e afeto da minha avó. E aos meus amigos, Gi e Lucas, que se prontificaram a ajudar sempre que precisei e estão comigo até aqui, Belle, meu bombom e amiga para todas as horas, Carol, amiga sensível e cuidadosa, Thay, amiga/irmã que resgata meu espírito, e Flávia, amiga que reencontrei nessa vida. Obrigada a todos pela essência do amor genuíno e a entender a importância dos amigos verdadeiros.

RESUMO

Na região Neotropical, as florestas úmidas e os ecossistemas aquáticos apresentam uma grande diversidade biológica. Entre a fauna de ambientes de água doce estão os caranguejos da seção Eubrachyura (caranguejos verdadeiros), que se dividem em duas grandes famílias, sendo Kingsleyinae considerada a divisão oriental, devido à sua endemividade na América do Sul. Kingsleyinae compreende 15 gêneros, incluindo *Kingsleya* Ortmann, 1897, com 11 espécies válidas. Estas espécies são encontradas na região amazônica e em áreas relictuais do nordeste do Brasil, tornando crucial o entendimento dos padrões de distribuição geográfica e isolamento destas espécies. Nosso objetivo foi realizar análises filogenéticas e taxonômicas, utilizando dados moleculares e morfológicos, a fim de compreender as relações entre as espécies de *Kingsleya* e preencher lacunas de informação sobre este grupo. As sequências obtidas neste estudo foram combinadas com publicações anteriores, juntamente com sequências externas da base de dados GenBank. As análises filogenéticas validaram o monofiletismo de *Kingsleya*. Além disso, 75% das relações intra-específicas deste gênero foram claramente evidenciadas. Além disso, foi possível identificar uma nova espécie do Piauí. A convergência de evidências morfológicas e moleculares dá suporte aos padrões de distribuição delineados neste estudo.

Palavras-chave: Filogenia, distribuição, caranguejos dulcícolas.

ABSTRACT

In the Neotropical region, humid forests and aquatic ecosystems have a great diversity of elements. Among the fauna of freshwater environments are the crabs of the section Eubrachyura (true crabs), which are divided into two large families, with the Kingsleyinae being considered the eastern division, due to its endemism in South America. Kingsleyinae comprises 15 genera, including *Kingsleya* Ortmann, 1897, with 11 valid species. These species are found in the Amazon regions and in relict areas of northeastern Brazil, making it crucial to understand the patterns of geographic distribution and isolation of these species. Our aim was to carry out phylogenetic and taxonomic analyses, using molecular and morphological data, in order to understand the relationships between *Kingsleya* species and fill information gaps regarding this group. The sequences obtained in this study were combined with previous publications, along with external sequences from the GenBank database. The phylogenetic analyses validated the monophyly of *Kingsleya*. In addition, 75% of the intraspecific relationships of this genus were clearly evidenced. In addition, it was possible to identify a new species from Piauí. Support for the distribution patterns outlined in this study is found in the convergence of morphological and molecular evidence.

Keywords: Phylogeny, distribution, freshwater crab.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Análise morfológica.....	20
3.2 Extração DNA, PCR e sequenciamento.....	21
3.3 Análise de dados moleculares.....	23
4 RESULTADOS.....	26
4.1 Filogenia molecular.....	26
4.2 Taxonomia.....	28
5 DISCUSSÃO.....	40
6 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A-D. Macho parátipo *Kingsleya* sp. nov. (LACRUSE 306): Região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e abdominal, respectivamente. Abreviaturas: pa, placa apical; ld, lobo distal da placa apical; ca, campo de espinhos apicais; sl, sutura lateral; pms, processo mesial; pm, processo marginal; sm, sutura marginal; lp, lóbulo proximal da placa apical. Barra de escala 2 mm.

Figura 2. Árvore filogenética molecular representada com valores de bootstrap para Maximum Likelihood (ML) e de posterior probability para Inferência Bayesiana (IB) de duas sequências mitocondriais parciais (COI e 16S), mostrando a relação das espécies dentro do gênero *Kingsleya*, incluindo *Fredius* como grupo externo..... **26**

Figura 3. *Kingsleya* sp. nov., macho holótipo, lc 48,9 mm, cc 32,5mm (MZUSP 42708): A, vista dorsal; B, vista cefalotórax frontal; C, vista cefalotórax ventral, indivíduo sem quela direita e o terceiro pereópodo; D, E, vista lateral do quelípodo direito e esquerdo, respectivamente do parátipo (LACRUSE 306). Barras de escala: A–E, 20 mm..... **29**

Figura 4. *Kingsleya* sp. nov.: Fêmea parátipo, lc 60,8 mm, cc 56,6 mm (MZUSP 42709): A, habitus, vista dorsal; B, cefalotórax, vista ventral. *Kingsleya attenboroughi* Pinheiro e Santana, 2016, fêmea parátipo, lc 41,5 mm, cc 26,7 mm (MZUSP 34628): C, cefalotórax, vista ventral. *Kingsleya parnaiba* Pralon et al., 2020, fêmea parátipo, lc 52,5 mm, cc 35 mm (MZUSP 40266). D, cefalotórax vista ventral. Notar as diferenças no sexto somito e no télson da fêmea (setas vermelhas). Barras de escala: 20 mm. Imagens combinadas com Pralon et al., 2020..... **31**

Figura 5. *Kingsleya parnaiba* Pralon et al., 2020, macho holótipo (MZUSP 40264): A-D, região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e abdominal, respectivamente. *Kingsleya attenboroughi* Pinheiro e Santana, 2016, macho parátipo (MZUSP 9699): E-H, região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e abdominal, respectivamente. *Kingsleya* sp. nov. macho parátipo (LACRUSE 306): I-L, região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e pleonal, respectivamente. Notar as diferenças na curvatura da superfície pleonal (setas brancas); porção medial do processo mesial (setas verdes); porção proximal

da placa apical (setas amarelas); processo mesial e placa apical (setas vermelhas); lobo proximal da placa apical com uma protuberância basal semicircular (setas azuis). Barras de escala: A-L, 2mm. Imagens combinadas com Pralon et al., 2020 **35**

Figura 6. Mapa de distribuição baseado na localidade-tipo e Bacias Hidrográficas dos *Kingsleya* na região neotropical..... **40**

Figura 7. Mapa de distribuição baseado na localidade-tipo dos *Kingsleya* na região neotropical..... **42**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de *Kingsleya* examinadas quanto à sua morfologia. (LACRUSE), Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri; Laboratório de Sistemática Zoológica da UNESP – Campus Botucatu (LSZ); (MZUSP), Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.....**20**

Tabela 2. Espécies de *Kingsleya* incluídas nas análises filogenéticas moleculares. Os espécimes sequenciados neste estudo estão marcados em negrito. (LACRUSE), Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri; (MZUSP), Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.....**23**

1 INTRODUÇÃO

A região neotropical abrange todo o continente sul-americano, América Central, México, ilhas do Caribe e sul da Flórida, apresentando um clima que varia desde o tropical, com águas mais quentes, até o subtropical, com águas mais frias, como observado no sul do Brasil, Uruguai, Paraguai, Argentina e Chile (Cumberlidge *et al.*, 2014). Ecossistemas aquáticos dessa região possuem grande diversidade biológica e como parte da fauna dos ambientes dulcícolas destacam-se os caranguejos Eubrachyura, que são divididos em duas grandes famílias: Trichodactylidae H. Milne Edwards, 1853 e Pseudothelphusidae Ortmann, 1893 (Rodríguez, 1982; Magalhães e Türkay, 1996). Ambas as famílias são caracterizadas pelo desenvolvimento direto e com um ciclo de vida completamente desvinculado do ambiente marinho (Klaus *et al.*, 2011).

Os tricodactídeos são encontrados no Brasil em rios de planícies, entretanto existem registros com altitudes superiores a 700 metros (Gomides *et al.*, 2009 e Rosa *et al.*, 2009). Já os Pseudothelphusidae são tipicamente encontrados em pequenos riachos situados entre 400 m e 3.000 m acima do nível do mar, o que pode refletir uma maior adaptação à vida semiterrestre quando comparado aos tricodactídeos. Sua distribuição geográfica abrange desde o México até o Brasil (Álvarez *et al.*, 2020; Cumberlidge *et al.*, 2014; Magalhães e Türkay, 2008). Os caranguejos Pseudothelphusidae reúnem atualmente cerca de 49 gêneros e 309 espécies, e no Brasil são conhecidas atualmente 21 espécies em 5 gêneros (Álvarez *et al.*, 2020; Santos, 2020).

Em meados de 2020, a superfamília Pseudothelphusoidea recebeu um novo arranjo taxonômico (Álvarez *et al.*, 2020), modificação semelhante às classificações baseadas em tribos propostas por Rodríguez (1982), porém no renovado sistema taxonômico, duas famílias foram destacadas: Epiloboceridae, que inclui o gênero *Epilobocera* Stimpson, 1860, e uma redefinição de Pseudothelphusidae, abarcando os demais gêneros conhecidos. Sendo assim, atualmente, Pseudothelphusidae é subdividida em oito subfamílias: Guinotiinae, Hypolobocerinae, Kingsleyinae, Potamocarcininae, Pseudothelphusinae, Ptychophallinae, Raddausinae e Strengeriana. A faixa de distribuição de cada subfamília corresponde a uma área geográfica diferente, onde a subfamília Kingsleyinae é tida como a divisão oriental

de Pseudothelphusidae por ser exclusiva da América do Sul (Magalhães, 2003; Pedraza *et al.*, 2016). Descrito por Ortmann, 1897, para abrigar *Potamia latifrons* (Randall, 1840), *Kingsleya* manteve-se monoespecífico até Bott (1970) adicionar mais espécies a este gênero com base na disposição das estruturas apicais do primeiro apêndice sexual masculino (primeiro gonópodo, G1). Posteriormente o táxon sofreu uma emenda por Pretzmann (1972) na qual sua diagnose também passa a incluir a morfologia do terceiro maxilípede. Por sua vez, Rodríguez (1982) incluiu três novos gêneros na família, elevou a categoria de gênero os subgêneros de *Eudaniela* Pretzmann, 1971 e considerou *Guinotia* (*Aspöckia*) Pretzmann, 1967 sinônimo de *Fredius* (Mendoza, 2015).

Atualmente Kingsleyinae é composta por 15 gêneros, dos quais *Kingsleya* tem 11 espécies: *K. attenboroughi* Pinheiro e Santana, 2016; *K. besti* Magalhães, 1990; *K. castrensis* Pedraza, Martinelli-Filho e Magalhães, 2015; *K. celioi* Pedraza e Tavares, 2015; *K. gustavoi* Magalhães, 2005; *K. hewashimi* Magalhães e Türkay, 2008; *K. junki* Magalhães, 2003; *K. latifrons* (Randall, 1840); *K. parnaíba* Pralon *et al.*, 2020; *K. siolii* (Bott, 1967); *K. ytupora* Magalhães, 1986, encontradas especificamente no Brasil, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Venezuela (Mendoza, 2015; Pinheiro e Santana, 2016; Pralon *et al.*, 2020).

Espécies de *Kingsleya*, são encontradas em corpos d'água doce com características que variam entre fundo rochoso e arenoso, como também com resíduos foliares e ramos submersos, onde esse diversificado grupo de invertebrados compõe parte importante da comunidade de estruturas aquáticas colaborando com funções essenciais como o ciclagem de nutrientes e o fluxo de energia (Hill e O'Keeffe 1992; Magalhães, 2016). Ao analisar *K. castrenses*, Martinelli-Filho *et al.*, (2019), observaram aspectos da variação morfológica, dimorfismo sexual, heteroquelia e lateralidade nesta espécie. Características que apontam para um possível comportamento agressivo e territorialista, ponto importante para entender as características ecológicas e comportamentais desse grupo.

Com a ocorrência restrita conhecidas apenas das localidade-tipo, espécies desse gênero em geral apresentam sua maior diversidade na bacia amazônica (Magalhães, 2016). Contudo, em estudos recentes, espécies como *K. attenboroughi*

e *K. parnaiba* têm sido encontradas em enclaves de mata em áreas de brejos nordestinos e áreas de transição entre o Cerrado e a Caatinga. Estas espécies, até o presente momento, são consideradas endêmicas e restritas às áreas de florestas úmidas do interior do Ceará e Piauí, respectivamente (Pinheiro e Santana, 2016; Pralon *et al.*, 2020).

Haffer (1969), postulou que a Floresta Amazônica, durante vários períodos climáticos secos do Pleistoceno e pós-Pleistoceno, foi dividida em várias florestas menores que foram isoladas por extensões de vegetação aberta e não florestal, e que as florestas remanescentes, conhecidas como "áreas de refúgio", serviram como abrigo para numerosas populações de animais da floresta que se desviaram umas das outras durante os períodos de isolamento geográfico e que, dentro desses refúgios, a evolução e diversificação das espécies poderiam ocorrer de forma isolada, levando à especiação e, voltando a unir-se, quando o espaço aberto que as separava voltou a ficar coberto de floresta.

Ainda hoje, na região da Caatinga, são frequentemente encontrados indícios dessas mudanças entre fases de semiárido e umidade, de crescimento e redução, dado que a configuração global do bioma demonstra que, após a sedimentação e erosão das rochas do escudo basal brasileiro entre os períodos Terciário e Quaternário, as fases de aridez, durante essas variações, propiciaram o surgimento desse ecossistema, com uma vegetação que varia entre trechos de floresta úmida, savana e campos pedregosos devido às condições climáticas, características do solo e níveis de precipitação, contribuindo para a extensa distribuição fitogeográfica da Província das Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (SDTF) (Fernandes e Queiroz, 2018).

Ainda são claramente encontrados remanescentes de Mata Atlântica encravados na Caatinga, com distribuição de plantas e vertebrados terrestres em áreas de endemismo reconhecidas para esse bioma, como Brejos Nordestinos ou Brejos de Altitude (Cardoso, 2011). Em ambientes úmidos de Brejos de Altitude e enclaves de Mata Atlântica, como o observado na Chapada do Araripe, é possível

encontrar espécies que dependem da quantidade de chuva e umidade exclusivos deste tipo de ambiente e ausentes nas demais áreas da Caatinga (Santos *et al.*, 2020).

Pouco se sabe sobre as relações de parentesco entre as espécies de *Kingsleya*. Análises filogenéticas facilitam estudos comparativos, permitindo o entendimento de características compartilhadas e traços que evoluíram de forma convergente ou divergente entre as espécies. Além disso, uma compreensão clara das relações entre as espécies pode ajudar a identificar padrões de adaptação e especialização em diferentes ambientes ou condições ecológicas. As recentes análises filogenéticas moleculares, com seis genes codificadores de proteínas nucleares e dois genes mitocondriais, que incluem representantes da família Pseudothelphusidae apareceram em Tsang *et al.*, (2014), nas quais esta foi apontada como um grupo parafilético dentro dos Eubrachyura. No estudo de Álvarez *et al.*, (2020), estes autores combinaram evidências moleculares com características morfológicas do primeiro gonópodo masculino. Essa abordagem visava superar as limitações das categorias taxonômicas fundamentadas unicamente em análises moleculares. Tal combinação propiciou uma compreensão mais ampla da irradiação dos grupos ancestrais ao longo do tempo, levando à atual estruturação da subfamília Kingsleyinae. Contudo, o estudo não entrou em detalhes específicos em nível de gênero.

A investigação das relações de parentesco entre as espécies de *Kingsleya*, combinada com análises filogenéticas utilizando dados morfológicos e moleculares permite reconstruir a história evolutiva deste grupo, proporcionando o estudo da diversificação das espécies ao longo do tempo. A análise de áreas relictuais em outras regiões do nordeste brasileiro é crucial, não só para a potencial descoberta de novas espécies, mas também para o melhor entendimento da distribuição das espécies mais recentemente identificadas e sua relação com congêneres da região amazônica. Além disso, o presente trabalho tem o potencial de servir como base para futuras pesquisas e para a implementação de medidas de proteção para as localidades-tipo, bem como, para as espécies estudadas, uma vez que, conforme destacado por Correia *et al.*, (2020), Sampaio *et al.*, (2021) e Pinheiro *et al.*, (2021), a abundância e área de distribuição da fauna nordestina podem estar sendo

afetadas por intervenções humanas devido à exploração abusiva dos recursos naturais disponíveis no entorno das localidades-tipo. Especificamente, na Chapada do Araripe, local em que *K. attenboroughi* é encontrada, o ambiente enfrenta desafios como o desmatamento em suas margens, delimitadas por fazendas e currais. Essas atividades intensificam a pressão sobre os recursos hídricos, um elemento intrinsecamente ligado à qualidade ambiental da região, que já é precariamente disponível (Pinheiro e Santana, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Testar a monofilia do gênero para reconstruir as relações de parentesco entre as espécies de *Kingsleya* Ortmann, 1897 encontradas em áreas relictuais do nordeste brasileiro e regiões amazônicas, além de compreender os padrões de distribuição e isolamento.

2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os padrões de distribuição das espécies em áreas relictuais do nordeste brasileiro e regiões amazônicas, identificando possíveis centros de radiação.
- Descrever nova espécie proveniente de brejos de altitude e enclaves úmidos em partes do nordeste brasileiro.
- Realizar análises filogenéticas e taxonômicas com base em informações moleculares e morfológicas

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Análise morfológica

Os exemplares foram examinados quanto à sua morfologia externa, considerando aspectos relevantes para taxonomia descritiva como, largura e comprimento das carapaças, tamanho dos quelípodos, incluindo a morfologia apendicular. Para examinar a morfologia dos espécimes foram utilizados um estereomicroscópio trinocular para fotografia, pinças de dissecação, tesouras, placas de Petri e câmera fotográfica. A solução alcoólica de azul de metileno foi utilizada como corante para melhor visualização de determinadas estruturas, principalmente dos gonópodos (fig. 4). A apresentação da morfologia externa do macho holótipo da *Kingsleya* sp. nov. é dada na Figura 2 e comparada aos demais indivíduos do gênero em relação às suas peculiaridades, assim como, a fêmea parátipo na Figura 3.

Os indivíduos de *Kingsleya* estudados (ver Tabela 1) estão depositados nas coleções carcinológicas: Laboratório de Sistemática Zoológica da UNESP – Campus Botucatu (LSZ), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri - LACRUSE / URCA. Os espécimes foram analisados comparativamente quanto à morfologia externa adultos, machos e fêmeas. A terminologia morfológica seguiu Magalhães, (1986), Mendoza, (2015), Pinheiro e Santana, (2016) e Pralon *et al.*, (2020). Os espécimes foram medidos quanto ao comprimento da carapaça (cc), entre a extremidade anterior e a margem posterior da carapaça; e quanto à largura da carapaça (lc) medida na maior largura da carapaça, sem incluir os espinhos. Todos os exemplares tiveram tecido muscular extraído dos pereópodos para a realização das análises moleculares. Todos os espécimes foram devolvidos à respectiva coleção de origem após retirada de tecido para análise molecular e análises morfológicas. Apesar dos esforços para obter amostragem de tecido de todos as espécies do gênero, fatores como a ocorrência remota, barraram a coleta de material fresco. Assim, não foram obtidas sequências para as espécies *K. besti*, *K. siolii*, *K. hewashimi*. Apesar disso, os táxons aqui amostrados constituem 75% de todo gênero.

Abreviaturas: P2-P5, segundo ao quinto pereópodos; G1, primeiro gonópodo; G2, segundo gonópodo; mm, milímetros; m, metros; det., determinador; col., coletor.

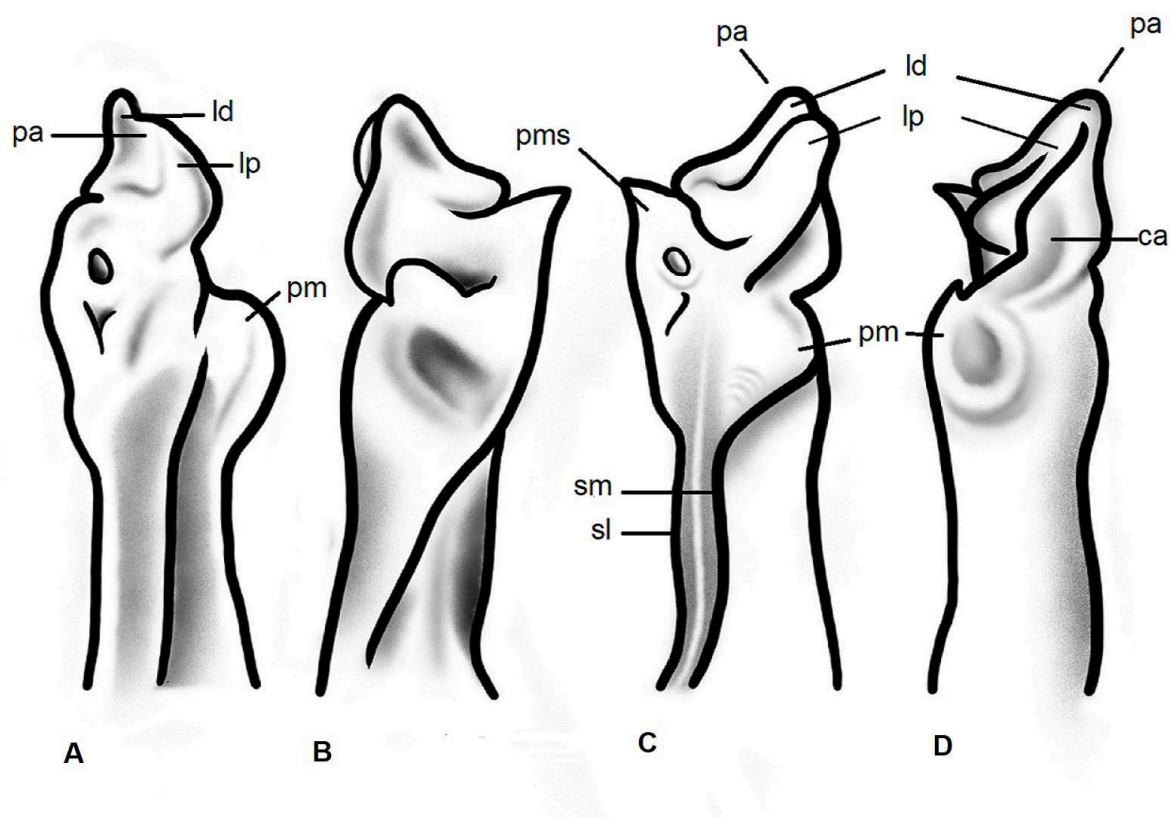


Figura 1. A-D. Macho parátipo *Kingsleya* sp. nov. (LACRUSE 306): Região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e abdominal, respectivamente. Abreviaturas: pa, placa apical; ld, lobo distal da placa apical; ca, campo de espinhos apicais; sl, sutura lateral; pms, processo mesial; pm, processo marginal; sm, sutura marginal; lp, lóbulo proximal da placa apical. Barra de escala 2 mm.

Tabela 1. Espécies de *Kingsleya* examinadas quanto à sua morfologia. (LACRUSE), Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri; Laboratório de Sistemática Zoológica da UNESP – Campus Botucatu (LSZ); (MZUSP), Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.

Espécies	Coleção Carcinológica	Nº Catalográfico
<i>K. attenboroughi</i>	LSZ	XXXXX
<i>K. castrensis</i>	MZUSP	(32738);
<i>K. celioi</i>	MZUSP	(25365), (32588), (25361)
<i>K. gustavoi</i>	MZUSP	(35087), (35105), (35116), (35129), (35133);
<i>K. junki</i>	MZUSP	(32818);
<i>K. latifrons</i>	MZUSP	(25197), (7008), (42707), (25928), (32307), (6384), (42705);
<i>K. parnaíba</i>	LSZ	XXXXX
<i>Kingsleya. sp. nov.</i>	MZUSP	(42708), (42709);
<i>K. ytupora</i>	MZUSP	(18459), (7009);

Os espécimes foram examinados com estereomicroscópio Leica MZ125 ou Motic K 400 L, e fotografados com uma Canon EOS Rebel T6. Os gonópodos foram examinados com um estereomicroscópio Leica M165C ou Leica MZ16A e fotografados com uma Canon EOS Rebel T6. As imagens foram processadas digitalmente com o software Adobe Photoshop CS2015. As barras de escala estão em milímetros (mm) e indicadas nas legendas das figuras.

Os mapas foram elaborados utilizando o programa QGIS Desktop 3.32.2. sobre a distribuição do gênero baseado na localidade-tipo de cada espécie, bem como, as divisões macro e meso das Bacias Hidrográficas. Todas as bases cartográficas e metadados utilizados neste estudo são públicas e disponibilizadas pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) e pela ANA (Agência Nacional de Águas).

3.2 Extração DNA, PCR e sequenciamento

Os indivíduos preservados em etanol 100% tiveram amostras de tecidos retirados dos pereópodos (ver Tabela 2), usando o kit de extração de DNA total genômico DNeasy Blood and Tissue (Qiagen Catalog No. 69504) no Laboratório de

Biologia Molecular do MZUSP, os procedimentos seguiram Folmer *et al.* (1994), Hultgren and Stachowicz (2008) e Colavite *et al.* (2022), com as devidas modificações. Os tecidos foram incubados a 56°C com agitação (Thermomixer) com 180 µL do tampão de digestão ATL + 20 µL de Proteinase K até a lise completa de todo material. A separação das proteínas e lavagem das amostras foram feitas seguindo o protocolo do kit, e, ao final dessas etapas, duas adições de 25 µL de tampão de eluição foram feitas com um intervalo de incubação entre eles de 30 minutos em temperatura ambiente. Cada amostra das reações em cadeia da polimerase (PCR) continham um volume final de 20 µL para os dois marcadores mitocondriais de DNA.

O primeiro é o 16S rRNA específico do grupo Majoidea nos quais, 16AR + (50 -TATT TTGA CCGT GCAA AGGT AG-30) e 16BR + (50 -ATTT AAAG GTCG AACA GACC CT-30) (Hultgren and Stachowicz (2008), e o segundo primer é universal do citocromo C Oxidase I (COI) em que, LCO: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' HC0: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' (Folmer *et al.* (1994), com os volumes e concentrações dos seguintes reagentes: 1,0 µL de DNA total, 0,4 µL dos primers, 2 µL de tampão Taq (10x), 0,6 de MgCl₂ (50 mM), 0,4 µL de dNTPs (10 mM) e 0,2 µL de Taq (PlatinumR Taq DNA Polimerase) (5 U/mM) e por último 15 µL de água ultrapura para completar o volume final. A amplificação das reações de PCR foram feitas através do Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) com a programação do primeiro ciclo a 94°C por 2'; 35 ciclos de 94°C (desnaturação) por 30'', 52°C (anelamento) por 30'', 72°C por 60'', 72°C (extensão) por 5' para 16S. Primeiro ciclo a 95°C por 1'; 35 ciclos de 95°C (desnaturação) por 30'', 42°C (anelamento) por 30'', 72°C por 60'', 72°C (extensão) por 2'30'' para COI.

Os produtos de PCR amplificados foram visualizados em géis de agarose a 1% e aqueles que apresentaram um resultado positivo nas bandas foram purificados usando ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher Scientific Inc) e encaminhados para sequenciamento no Instituto de Biotecnologia da Unesp (IBTEC), Botucatu - SP. O sequenciamento usou 10 µL do produto de PCR purificado e 5 µL dos primers forward e reverse na concentração de (5 pmol/µl). O programa Geneious Trial 8.0.5 e 9.1.8. o Assemble foram usados para verificar a qualidade das sequências, assim como, o consenso para as duas fitas e a conferência em relação à presença de códons de parada nas sequências com primer COI.

3.3 Análise de dados moleculares

As sequências produzidas serão oportunamente depositadas no GenBank. As sequências foram combinadas com as de Mendoza, (2015) e as sequências do grupo externo utilizadas do banco de dados GenBank. As informações sobre os táxons, como números de catálogo e de acesso no GenBank, localidade e marcadores moleculares incluídos nas árvores filogenéticas são fornecidos na Tabela 2.

Os alinhamentos das múltiplas sequências foram realizados com o plug-in MAFFT Alignment v7.017 (Kotah *et al.*, 2002), individualmente para cada marcador molecular com os parâmetros predefinidos, seguido de uma inspeção visual para detectar quaisquer desalinhamentos atípicos. Os conjuntos de dados foram concatenados no Geneious 8.0.5 e 9.1.8. Para avaliar a ocorrência de saturação de substituição da matriz concatenada, a taxa de transições/transversões (Xia e Lemey, 2009) foi avaliada no programa DAMBE (Análise de Dados em Biologia Molecular e Evolução) 7.2.7 (Xia e Xie, 2001). Dois métodos de inferência filogenética foram aplicados as matrizes concatenadas: Maximum Likelihood (ML) usando RAxML versão 8.2.12 (Stamatakis, 2014) e inferência Bayesiana (IB) em MrBayes (v.2.2.2: Huelsenbeck and Ronquist, 2001; Ronquist and Huelsenbeck, 2003).

Através do programa MEGA 11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) foi encontrado o modelo de substituição mais adequado para os parâmetros de métodos de Maximum Likelihood (ML), sendo eles os GTR (General Time Reversible) + G (Gamma distribution) (Takuma, Stecher e Kumar, 2021). Ainda nesse programa, a árvore filogenética com o método estatístico de ML foi desenvolvida com o Bootstrap de 1000 replicações. A Inferência Bayesiana foi usada para reconstruir as relações filogenéticas das espécies analisadas no software MrBayes (v.2.2.2: Huelsenbeck e Ronquist, 2001; Ronquist e Huelsenbeck, 2003) implementado em Geneious 8.0.5 e 9.1.8 usando o mesmo modelo de substituição (GTR+G), com quatro correntes aquecidas com o comprimento de 1,100,000 e frequência de subamostragem de 200. O suporte para os nós da análise bayesiana foi determinado com posterior probability calculadas pelo MrBayes e apenas nós com valores maiores ou igual a 50% foram representados.

Tabela 2. Espécies de *Kingsleya* incluídas nas análises filogenéticas moleculares. Os espécimes sequenciados neste estudo estão marcados em negrito. LACRUSE, Laboratório de Crustáceos do Semiárido da Universidade Regional do Cariri; MZUSP, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.

Espécies	Localidade	Nº Catalográfico	Nº de acesso GenBank	
			16S	COI
<i>K. attenboroughi</i>	BR, Ceará, Barbalha	MZUSP XXXXX	x	x
<i>K. castrensis</i>	BR, Pará, Altamira	MZUSP 32738	x	x
<i>K. celioi</i>	BR, Pará, Parauapebas	MZUSP 32588	x	x
<i>K. gustavoi</i>	BR, Pará, Canaã dos Carajás	MZUSP 16702	x	x
<i>K. junki</i>	BR, Pará, Altamira	MZUSP 32818	x	x
<i>K. latifrons</i>	BR, Pará, Rio Trombetas	MZUSP 7008	x	x
<i>K.parnaiba</i>	BR, Piauí, Ribeiro Gonçalves	MZUSP XXXXX	x	x
<i>Kingsleya</i> sp. nov.	BR, Piauí, São João da Canabrava	MZUSP 42708/42709 LACRUSE 306	x	x
<i>K. ytupora</i>	BR, Pará, Rio Trombetas	MZUSP 7009	-	x
Grupo externo				
<i>Fredius reflexifrons</i>	BR, Amazonas, Iranduba	INPA 852	MZ463218.1	MZ462196.1
<i>Fredius ibiapaba</i>	BR, Ceará, Ipu	INPA 1985	MZ463219.1	MZ462197.1

4 RESULTADOS

4.1 *Filogenia molecular*

A análise atual é baseada em 15 táxons (13 espécies de *Kingsleya* e 2 grupos externos de *Fredius*). O conjunto de dados final consistiu em 14 sequências do gene 16S rRNA com um comprimento de alinhamento de 484 pb, 15 sequências COI com um comprimento de alinhamento de 698 bp. A matriz concatenada dos dois genes resultou em um alinhamento de 995 pb após a remoção de regiões adjacentes.

Os alinhamentos do gene COI não continham códons de parada. O melhor modelo evolutivo obtido para a matriz foi o General Time Reversible, mais modelo gamma (+G) com a distribuição para sítios invariantes (+I) no MEGA-X.

Nenhuma saturação de substituição significativa, estimada no software DAMBE (Análise de Dados em Biologia Molecular e Evolução) 7.2.7 (Xia e Xie, 2001), foi observada para os genes concatenados. O teste de substituição de saturação apontou que as taxas de insaturação da matriz são menores que a insaturação crítica, demonstrando que as sequências são apropriadas para estudos filogenéticos.

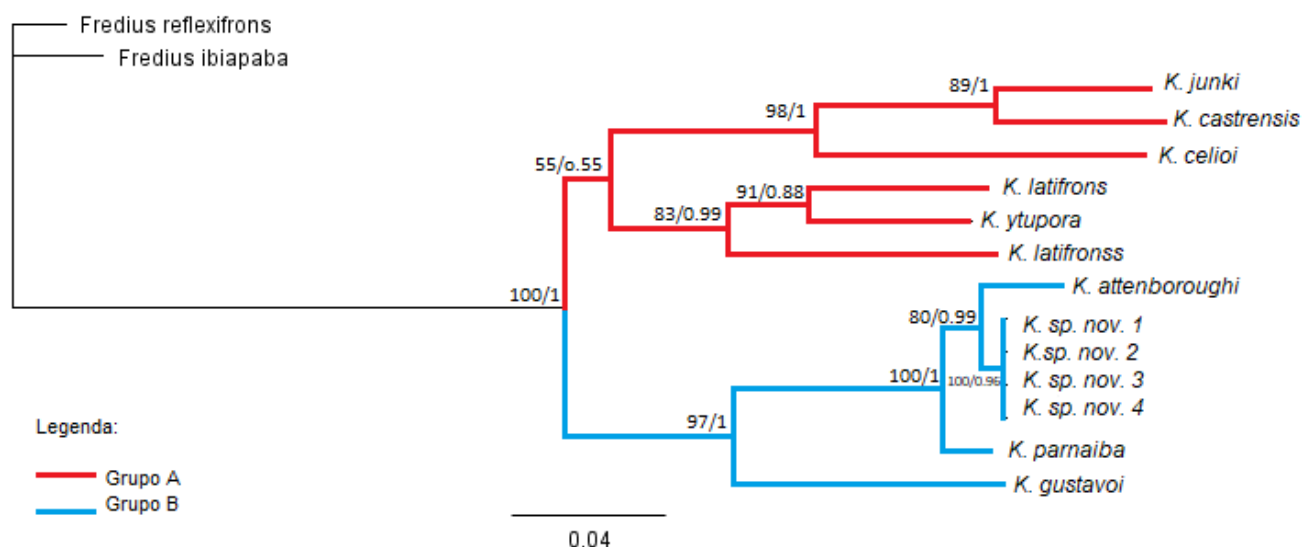


Figura 2. Árvore filogenética molecular representada com valores de bootstrap para Maximum Likelihood (ML) e de posterior probability para Inferência Bayesiana (IB) de duas sequências mitocondriais parciais (COI e 16S), mostrando a relação das espécies dentro do gênero *Kingsleya*, incluindo *Fredius* como grupo externo.

As seguintes espécies foram amplificadas e sequenciadas com sucesso para o gene mitocondrial 16S em *Kingsleya*, sendo: *K. attenboroughi*, *K. castrensis*, *K. celioi*, *K. gustavoi*, *K. junki*, *K. latifrons* (MZUSP 32307), *K. latifrons* (MZUSP 7008), *K. parnaíba*, *K. sp. nov.* Para o gene mitocondrial COI, todas as espécies citadas acima, além de com a adição da *K. ytipora* foram amplificadas e sequenciadas. Apesar dos esforços, nenhuma sequência de *K. siolii* foi gerada. Os representantes de *Fredius* incluídos como grupo externo tiveram suas sequências retiradas do banco de dados do GenBank.

Os clados das análises produzidas estão altamente sustentado em Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB) para a maioria das espécies, e as topologias concordaram nos dois métodos. Todos os clados das espécies têm forte suporte com os valores de bootstrap e posterior probability > 50% / 0,50 respectivamente.

São confirmadas aqui as posições filogenéticas das análises cladísticas, que suportam as espécies *Kingsleya* como um grupo monofilético. Podemos ver claramente dois clados sendo o grupo A (vermelho) separado em dois subclados. O

primeiro clado agrupando *K. junki* e *K. castrensis*, altamente sustentado (89/1.0), e mais basal *K. celioi* (98/1.0). No segundo clado temos os ramos, *K. latifrons* e *K. ytupora* também formando um grupo irmão (91/0.88), e mais basal o ramo de *K. latifrons* coletado em outra bacia (83/0.99), o que indica que esse exemplar pode ser uma espécie diferente da que forma clado com *K. ytupora*.

O grupo B (azul) é constituído por um clado onde no primeiro subclado aparece *K. attenboroughi* como grupo irmão de *K. sp. nov.* (80/0.99) e *K. parnaíba* (100/1.0) como ramo basal a este grupo. Como mais basal, *K. gustavoi* (97/1.0) completando a formação deste clado.

4.2 Taxonomia

Ordem Decapoda

Infraordem Brachyura

Família Pseudotelphusidae Ortmann, 1893

Subfamília Kingsleyinae Bott, 1970

Kingsleya Ortmann, 1897

Espécie tipo.— *Kingsleya latifrons* (Randall, 1840) [*Potamia*] por monotipia, gênero feminino.

Espécies incluídas (gêneros da combinação original indicado entre colchetes).— *K. attenboroughi* Pinheiro e Santana, 2016; *K. besti* Magalhães, 1990; *K. castrensis* Pedraza, Martinelli-Filho e Magalhães, 2015; *K. celioi* Pedraza e Tavares, 2015; *K. gustavoi* Magalhães, 2005; *K. hewashimi* Magalhães e Türkay, 2008; *K. junki* Magalhães, 2003; *K. latifrons* (Randall, 1840) [*Potamia*]; *K. parnaiba* Pralon *et al.*, 2020; *K. siolii* (Bott, 1967) [*Potamocarcinus (Kingsleya)*]; *Kingsleya* sp. nov.; *K. ytupora* Magalhães, 1986.

Diagnose (de Mendoza, 2015).— (i) metade proximal da superfície lateral do G1 abaulada; (ii) lobo do forame peniano do G1 de forma subtriangular e projetado em direção esternoabdominal; (iii) margem externa do G1 sinuosa e deslocada para porção mesial da superfície abdominal do apêndice; (iv) processo marginal maciço (lameliforme em *K. siolii*); (v) sulco oposto bem acentuado, formando uma prega profunda sobre a superfície esternal (sulco superficial em *K. hewashimi*); (vi) complexo apical aproximadamente $\frac{1}{4}$ do comprimento total do G1, com os lobos terminais sempre bem distintos.

***Kingsleya* sp. nov.**

Fig. 2-4

Material tipo.— Holótipo: macho, lc 48,9 mm, cc 32,5 mm, Brasil, estado do Piauí, São João da Canabrava, Riacho Jacaré, 7°04'40.3"S 041°26'40.7"W (MZUSP 42708). Parátipos: 1 fêmea cc 60,8 mm, lc 26,7 mm (MZUSP 42709); 1 macho cc

59,9 mm, lc 38,4 mm, Brasil, Piauí, São João da Canabrava, Riacho Jacaré, 7°04'40.3"S 041°26'40.7"W (LACRUSE 306).

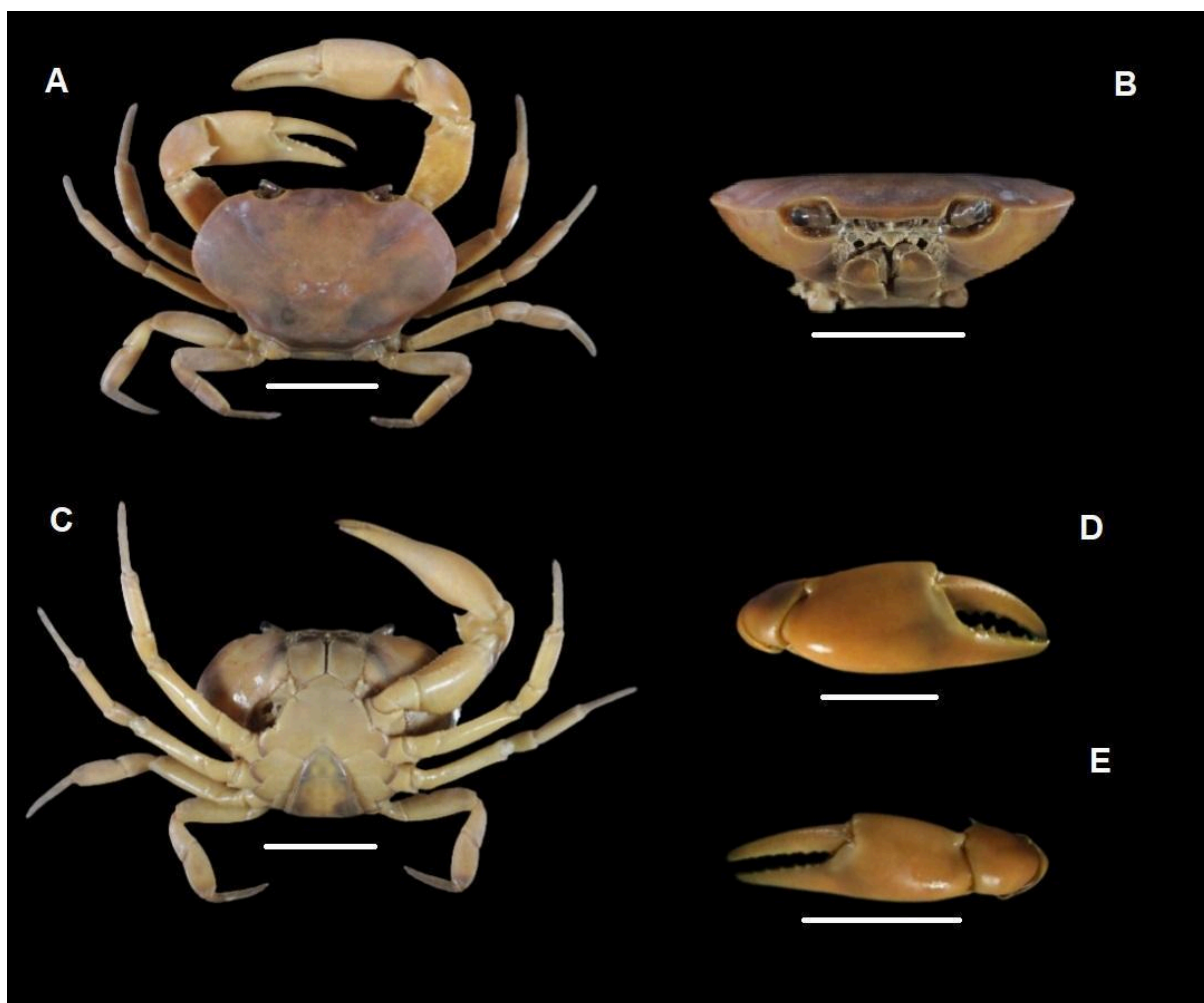


Figura 3. *Kingsleya* sp. nov., macho holótipo, lc 48,9 mm, cc 32,5mm (MZUSP 42708): **A**, vista dorsal; **B**, vista cefalotórax frontal; **C**, vista cefalotórax ventral, indivíduo sem quela direita e o terceiro pereópodo; **D**, **E**, vista lateral do quelípodo direito e esquerdo, respectivamente do parátipo (LACRUSE 306). Barras de escala: **A–E**, 20 mm.

Material comparativo: *K. attenboroughi*: Brasil, Ceará, Barbalha, distrito de Arajara, 07°20'07.6"S 39°23'58,8" W, 17.iv.2016, macho holótipo, lc 46mm, cc 29,2 mm, (MZUSP 34626). Parátipos: Brasil, Ceará, Barbalha, distrito de Arajara, Córrego do Arajara, 04.v.2016, 1 macho, lc 51,2mm, cc 31mm (MZUSP 34627); 1 fêmea, lc 41,5 mm, cc 26,7 mm (MZUSP 34628); 1 macho, lc 40mm, cc 26,1mm, 1 fêmea, lc 35mm, cc 23mm (INPA 2208); 2 machos, lc 36,8 mm, cc 24 mm; lc 36mm, cc 24mm;

1 fêmea, lc 37,7 mm, cc 24 mm (LACRUSE 0221). — *K. castrensis*: Brasil, Pará, Caverna Pedra da Cachoeira, 03°19'14.8"S 52°19'53.1"W, R. Pinto-da-Rocha coll., 20.vi.2012, macho, parátipo, lc 50,9mm, cc 30mm (MZUSP 26394); Pará, Altamira, 03°19'14.8"S 52°19'53.1"W, macho, parátipo, lc 32,7mm (MZUSP 25943). — *K. celioi*, Brasil, Pará, Parauapebas, Carajás, holótipo: macho lc 16,14 mm, cc 26,16 mm (MZUSP 25365). Parátipos: Brasil, Pará, Parauapebas, Carajás: 1 macho lc 14,43, cc 23,77 (MZUSP 25361); 1 fêmea cc 11,52 mm, lc 18,02 mm, (MZUSP 32588); 1 fêmea jovem, cc 6,52 mm, lc 9,47 mm, (MZUSP 25363); 1 fêmea jovem cc 7,50 mm, lc 11,14 mm, (MZUSP 25364); 1 fêmea cc 13,71 mm, lc 22,44 mm (MZUSP 25362); 1 fêmea cc 13,43 mm, lc 21,72 mm, (MZUSP 25367); 1 macho jovem cc 8,97 mm, lc 13,40 mm, (MZUSP 25366). — *K. gustavoii*: Brasil, Pará, Rio Itacaiúnas, Projeto Carajás, 17.vii.1988, 2 parátipos machos, lc 37mm, cc 23,3 mm; lc 19,5 mm, cc 12,2 mm (MZUSP 9699); Pará, Canaã dos Carajás, Gruta NV06, 2 machos (MZUSP 16702). — *K. junki*: Brasil, Pará, Altamira, Abrigo do Chuveiro, iv.2009. det. M. Pedraza. (MZUSP 32818). — *K. latifrons*: Brasil, Pará, Rio Trombetas, Cachoeira Porteira, V.P. Daniel et al. col., 10.iv.1985, C. Magalhães det., 1 macho, 1 fêmea (MZUSP 7008); Amazonas, Imbó, Rio Uatumã, Cachoeira Morena, E. Ferreira e outros coll., 07.x.1987, 4 machos (MZUSP 11673). — *Kingsleya parnaíba*: Holótipo macho, lc 49,7 mm, cc 32,4mm, Brasil, Piauí, Ribeiro Gonçalves, Riacho Manezinho, 07°33'20"S 45°14'31"W, 19.v.2019, G.P.B. Silva coll. (MZUSP 40264). — Parátipos coletados na mesma localidade: 1 macho, lc 34,4 mm, cc 22,3 mm; 1 fêmea, lc 56,9 mm, cc 36,4 mm (MZUSP 40265); 3 fêmeas, lc 42,2 mm, cc 29,7 mm; lc 45,7 mm, cc 30,6 mm; lc 52,5 mm, cc 35 mm (MZUSP 40266). — *K. ytipora*: Brasil, Pará, Rio Trombetas, Cachoeira Porteira, C. Magalhães et al. col., 2–10.x.1985, 1 macho, parátipo, lc 48 mm, cc 28,5mm, 2 fêmeas, parátipos, lc 64,5 mm, cc 38 mm; lc 55,6 mm, cc 33 mm (MZUSP 7009).



Figura 4. *Kingsleya* sp. nov.: Fêmea parátipo, lc 60,8 mm, cc 56,6 mm (MZUSP 42709): **A**, habitus, vista dorsal; **B**, cefalotórax, vista ventral. *Kingsleya attenboroughi* Pinheiro e Santana, 2016, fêmea parátipo, lc 41,5 mm, cc 26,7 mm (MZUSP 34628): **C**, cefalotórax, vista ventral. *Kingsleya parnaiba* Pralon *et al.*, 2020, fêmea parátipo, lc 52,5 mm, cc 35 mm (MZUSP 40266). **D**, cefalotórax vista ventral. Notar as diferenças no sexto somito e no télson da fêmea (setas vermelhas). Barras de escala: 20 mm. Imagens combinadas com Pralon *et al.*, 2020.

Descrição.— Carapaça elipsoidal, aproximadamente 2 vezes mais larga que longa, medianamente mais larga, lisa dorsalmente, ligeiramente convexa, regiões mal definidas. Duas fossas distintas na região mesogástrica. Sulcos cervicais marcados, estreitos, ligeiramente divergentes anteriormente, desaparecendo proximamente a extremidade distal quase atingindo a margem anterolateral. Regiões cardíaca e intestinal ligeiramente distintas. Lóbulos pós-frontais indistintos; sulco mediano indistinto. Carapaça entre os lóbulos frontais e pós frontais lisa, ligeiramente

côncava. Borda superior frontal lisa, angulosa, ligeiramente bilobada em vista dorsal, entalhe mediano fraco; margem inferior carenada, ligeiramente sinuosa em vista frontal, não visível em vista dorsal. Margem supra orbital lisa, margem infra orbital com pequenas granulações; ângulo exorbital baixo, um tanto agudo; cavidade orbital com várias cerdas pequenas perto do ângulo exorbital. Dente orbital interno bem desenvolvido, triangular, bloqueia pequena parte da cavidade orbital. Margem ânterolateral da carapaça com uma leve depressão logo atrás do ângulo exorbital, seguido por um conjunto de pequenos dentes ântero-laterais aumentando de tamanho da porção anterior para a posterior; margem pósterolateral lisa, mal definida.

Epistômio estreito, profundamente sulcado transversalmente, margem superior reta, margem inferior formando um dente mesial triangular, defletido, crenulado. Região sub-hepática lisa; região pterigostomial com pubescência margeando a moldura vestibular. Endópodo do 3 maxilípode com margem externa do ísquio angulada, sub-retangular, e o merus ligeiramente mais largo; margem mesial sedosa, crista dentada com dentes pequenos, subquadrados e córneos. Mero mais curto que o ísquio, similarmente largos, margem interna quase reta, com um pequeno lóbulo proximal coberto por várias cerdas longas; margem externa curvada distalmente. Superfície interna do palpo coberta por poucas e pequenas cerdas; margem externa do própodo e dátilo densamente coberta por cerdas longas, carpo com poucas cerdas longas. Exópodo do terceiro maxilípode, cerca de um quinto do comprimento da margem lateral do ísquio. Abertura do canal eferente branquial larga, subquadrado, sem cerdas. Quelípodos com heteroquelia em ambos sexos, mais pronunciados nos machos, armados de forma semelhante, quelípodo direito geralmente maior. Merus subtriangular, transversal; margens superiores mesiais nitidamente crenuladas; margem lateral inferior com fileira de pequenas granulações distintos, não atingindo as margens proximais e distais; margem distal arqueada, lisa lateralmente, crenulada mesialmente. Carpo com margem interna recuada proximalmente, com espinho mediano proeminente, liso distalmente; margem externa arredondada, lisa. própodo sólido, superfície superior, medial, lateral e ventral lisa. Dedos móveis e fixos com superfícies lateral, medial e dorsal com pontuações dispostas em linhas longitudinais subparalelas; dedo móvel distintamente curvado para baixo. Quelípodo maior com dedos fechados, pontas cruzadas distalmente; pontas cortantes dos dedos com dentes pequenos e agudos;

dedo fixo com dois dentes medialmente ligeiramente maiores do que outros; dedo móvel com dois dentes ligeiramente maiores proximalmente intercalados com dentes menores fortes. Quelípodo menor com espaço entre os dedos menos pronunciado, com dedo móvel levemente arqueado; dentes mais curtos, mais semelhantes em tamanho do que os quelípodos maiores. Quelípodos fêmeas menores e com espaços menores entre os dedos, dedos móveis menos curvos. P2-P5 delgado, semelhante em forma, diminuindo ligeiramente de tamanho de P2 a P5. P2-P5 margem superior do mero com fileira dispersa de espinhos reduzidos; dáctilos pontuados em todas as superfícies aumentando de tamanho distalmente.

Esterno torácico mais longo que largo. Esternitos 1 a 4 fundidos. Suturas esternais 4/5 a 7/8 bem distintas, suturas esternais 4/5 e 5/6 terminando pouco antes de atingir a linha mediana do esterno torácico, suturas esternais 6/7 e 7/8 terminando na linha mediana do esterno torácico. Episternitos 4-6 sub triangulares, episternito 7 mais curtas, truncadas nos machos, triangulares nas fêmeas. Episternitos 4-7 franjadas com cerdas curtas e mais longas nas fêmeas. Cavidade esterno abdominal profundamente escavada, mais rasa nas fêmeas; esternitos 5 a 8 densamente cobertos medialmente com cerdas finas e longas distintas, esternito 4 com poucas cerdas longas nos machos, fêmeas com cerdas esparsas principalmente nos esternitos 1-4; tubérculo do sistema de retenção abdominal reduzido nos machos, quase imperceptível nas fêmeas, colocado próximo à sutura esternal 5/6 nos machos. Pleon masculino e feminino com 6 somitos livres. Pléon masculino afinando distalmente do terceiro ao sexto somito; telson triangular; margens, incluindo telson, coberto por cerdas curtas. Pleon feminino um tanto arredondado, sexto somito mais longo, mais largo; sexto somito e telson formando um pleotelson sub trapezoide (setas vermelhas) (Fig. 3). Pênis nitidamente longo, maior proximalmente, afinando distalmente, emergindo próximo à articulação do côndilo coxoesternal.

G1 (Fig.4 **A-D**; Fig.5 **I-L**) robusto, alargado distalmente, superfície abdominal com curvatura mesial (setas brancas), com processo mesial bem desenvolvido. Sutura marginal na superfície mesial, quase reta, levemente deslocada para o lado mesial distalmente, com cerdas longas proximalmente. Sutura lateral profunda, aproximadamente 2/3 do comprimento do gonópodo da porção proximal. Processo marginal largo, ligeiramente mais fino em vista mesial, não se projetando distalmente além do campo dos espinhos apicais, entalhe distal na superfície

lateral-abdominal. Processo mesial curto, subtriangular, porção medial quase reta formando ângulo obtuso (setas verdes), porção distal protuberante em espinho cônico pontiagudo fracamente curvado na direção ântero-mesial, processo mesial e placa apical anexados (setas vermelhas). Placa apical com dois grandes lobos sub triangulares, completamente separados um do outro por um sulco distinto nas vistas mesial e esternal, lobo proximal com protuberância semicircular nas vistas mesial e esternal (setas azuis); lobo distal larga na porção proximal com constrição mediana, perceptível nas incidências lateral e mesial (setas amarelas). Abertura do canal espermático perto da base da placa apical em vista esternal. Campo do espinho apical bem desenvolvido, mais visível na visão esternal, curvado proximalmente, com uma mancha de espinhos diminutos concentrados medialmente, direcionados longitudinalmente ao longo do lado abdominal da lâmina apical, delimitado por uma borda mesial do lobo distal e borda lateral do lobo proximal da placa apical, fechada distalmente. G2 ligeiramente sinuoso, quase tão longo quanto G1, nitidamente delgado, 3/4 distal afilado; ponta achatada, com numerosos espinhos curtos na face esternal.

Localidade-tipo e distribuição – Até o momento conhecida apenas da localidade tipo, Riacho Jacaré, São João da Canabrava, Piauí.

Notas ecológicas.- Os espécimes coletados no Riacho Jacaré, pequeno córrego na região piauiense da cidade de São João da Canabrava, fica localizado na zona semiárida do nordeste brasileiro, onde a vegetação se caracteriza pela predominância da Caatinga. Influenciados pelo clima da região, os riachos e pequenos cursos d'água são considerados efêmeros e temporários sendo, em sua maioria, alimentados por corpos d'água maiores, nos quais se destacam, o Riacho Pitombeira, o Riacho Canabrava, o Riacho Grotão, o Riacho São João e o rio Riachão, que desembocam no rio Guaribas, uma das onze bacias hidrográficas classificadas pela Secretaria do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos do Piauí (Barros, 2022; De Araújo Sousa *et al.*, 2021). No entanto, devido à proximidade do local de amostragem com outras fontes de água, não descartamos a possibilidade da existência nos arredores.

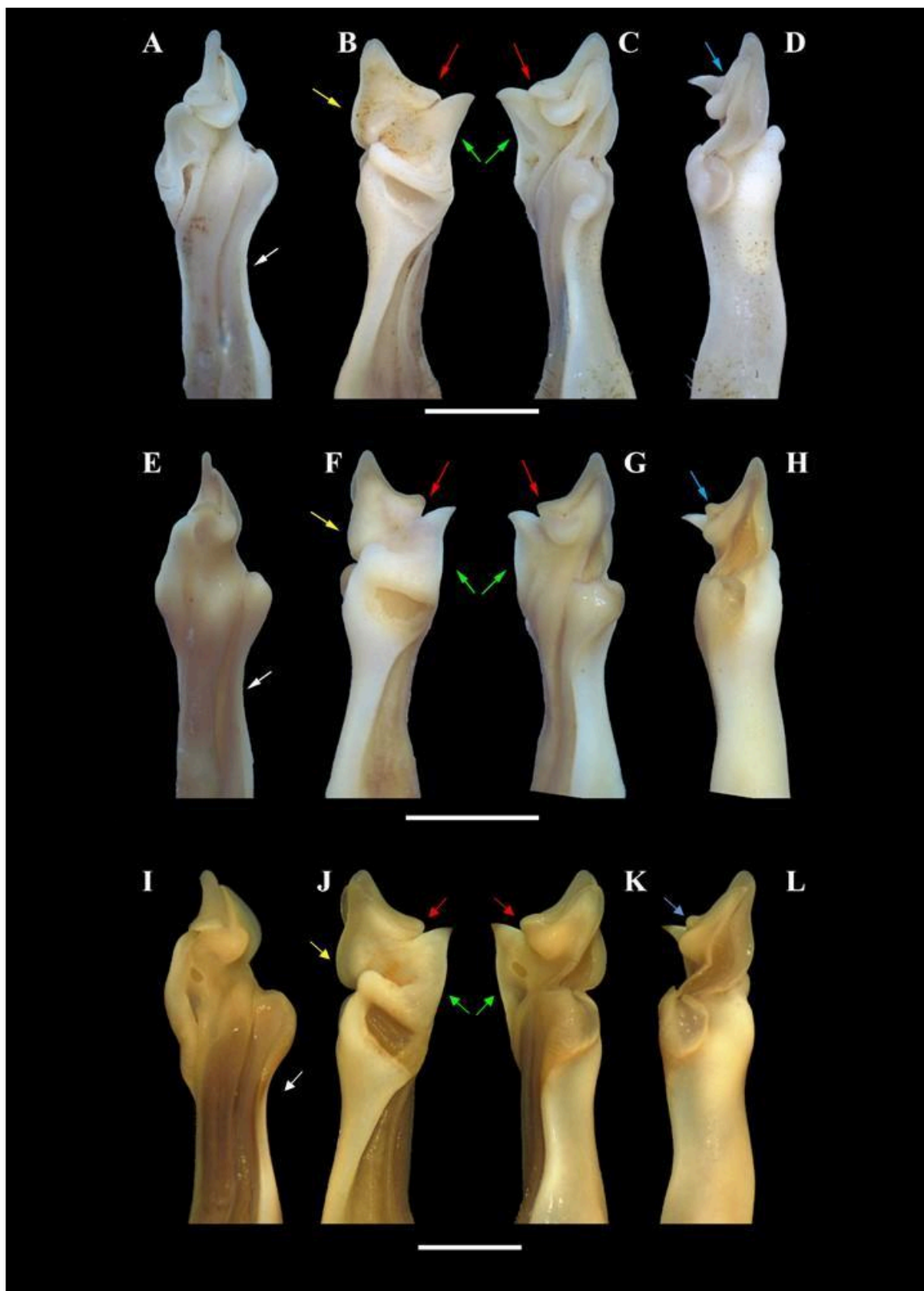


Figura 5. *Kingsleya parnaiba* Pralon *et al.*, 2020, macho holótipo (MZUSP 40264): **A-D**, região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista external,

lateral, mesial e abdominal, respetivamente. *Kingsleya attenboroughi* Pinheiro e Santana, 2016, macho parátipo (MZUSP 9699): **E-H**, região distal região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e abdominal, respetivamente. *Kingsleya* sp. nov. macho parátipo (LACRUSE 306): **I-L**, região distal do primeiro gonópodo (G1) esquerdo em vista esternal, lateral, mesial e pleonal, respetivamente. Notar as diferenças na curvatura da superfície pleonal (setas brancas); porção medial do processo mesial (setas verdes); porção proximal da placa apical (setas amarelas); processo mesial e placa apical (setas vermelhas); lobo proximal da placa apical com uma protuberância basal semicircular (setas azuis). Barras de escala: **A-L**, 2mm. Imagens combinadas com Pralon *et al.*, 2020.

Observações.— *Kingsleya* sp. nov. compartilha vários aspectos do G1 com *K. attenboroughi* e *K. parnaiba*: a placa apical do G1 é bilobada com lobos parcialmente sobrepostos; o processo marginal é alargado distalmente, não ultrapassando o campo apical dos espinhos; o processo mesial é distintamente separado da placa apical e se destaca da superfície esternal do eixo principal do G1; e o campo apical de espinhos é dividido distalmente por um entalhe terminal (Pinheiro e Santana, 2016; Pralon *et al.*, 2020). Entre seus congêneres, *Kingsleya* sp. nov. é muito parecida com *K. attenboroughi* e *K. parnaiba*, e até certo ponto *K. gustavoi*, mas distingue-se por alguns aspectos. Estes são: (i) superfície abdominal com curvatura distinta mesialmente (Fig 5. **I**) (vs. curvatura rasa na superfície abdominal mesialmente em *K. attenboroughi* e *K. gustavoi*); (ii) porção medial do processo mesial mais largo formando um ângulo obtuso (Fig 5. **J-K**) (porção proximal do processo mesial reta, arredondada quando comparada em *K. attenboroughi*, e pouco arredondada em *K. parnaiba*); (iii) processo mesial e placa apical fundidos na base (Fig 5. **J-K**) (processo mesial separado por um entalhe da placa apical intermediário entre *K. attenboroughi* e *K. parnaiba*); (iv) lobos da placa apical mais largos na margem distal completamente separados entre si por um sulco distinto (Fig 5. **K-L**) (lobos da placa apical mais largos na margem distal, separados por um sulco distalmente e fundidos perto da base quando comparados com *K. attenboroughi* e *K. parnaiba*); (v) lobo proximal da placa apical com uma protuberância basal semicircular (Fig 5. **H-L**) (lobo proximal com uma protuberância basal semicircular visível em *K. parnaiba*, ausente em *K. attenboroughi*); (vi) uma abertura circular acima do canal espermático na vista esternal (Fig 5. **A-I**), presente

em *K. attenboroughi* e ausente em *K. parnaíba*. Outras diferenças morfológicas entre *Kingsleya*. sp. nov. e *K. attenboroughi* são: (vii) sexto somito feminino e télson formando um pleotelson arredondado (Fig. 3. **B**) (margens do sexto somito arredondadas e télson feminino arredondadas distalmente, onde vemos triangular em *K. attenboroughi* (Fig. 3); (viii) dedo móvel do quelípodo menor pouco arqueado e dedo fixo ligeiramente menor (Fig. 2. **D**) (dedo móvel do quelípodo menor, quase reto e ligeiramente mais curto quando comparado a *K. attenboroughi* e *K. parnaíba*). Além disso, as espécies, *K. parnaíba* e *Kingsleya*. sp. nov., habitam diferentes bacias hidrográficas em lados opostos do estado do Piauí. *K. parnaíba* encontra-se nas áreas de várzea do vale do rio Parnaíba, aproximadamente 190 m acima do nível do mar, enquanto *Kingsleya* sp. nov. é encontrado em um córrego pequeno cerca de 5 km de distância do Riacho Canabrava. Por outro lado, *K. parnaíba* e *Kingsleya*. sp. nov. compartilham o fato de ocorrerem em áreas com fortes tendências a sofrerem impactos por alterações antrópicas no meio ambiente, sendo a expansão agrícola, o desmatamento, a poluição e o uso irregular dos recursos hídricos os principais problemas.

5 DISCUSSÃO

Em 2023, Wolfe *et al.*, contradiz pesquisas anteriores que sugerem uma relação próxima entre os Pseudothelphusoidea americanos e o grupo dulcícola do Velho Mundo (Gecarcinucidae, Potamidae e Potamonautidae), através de uma dispersão transoceânica. Estes estudos anteriores haviam proposto que tais conexões ocorreram superando barreiras marinhas criadas por massas terrestres emergentes entre continentes durante a fase inicial da separação de Gondwana, aproximadamente 125 milhões de anos atrás (Klaus *et al.*, 2011; Tsang *et al.*, 2014). Wolfe *et al.*, 2023 apresentou evidências que refutam essa hipótese, destacando uma série de características morfológicas distintas, conhecidas como sinapomorfias, indicando uma origem diferente para o grupo.

Os dados apresentados por Wolfe *et al.*, 2023 sugerem que a evolução da terrestrialidade foi mapeada por meio de caracteres estocásticos, e os Pseudothelphusoidea foram posicionados basalmente. As estimativas de tempo de divergência indicaram que a origem de todos os grupos primários dulcícolas, exceto Trichodactylidae, remontam a mais de 66 milhões de anos (Ma). Esta hipótese é congruente com Álvarez *et al.*, 2020, que propôs a emergência da superfamília Pseudothelphusoidea aproximadamente 68 milhões de anos atrás, no final do período Cretáceo.

Nossos resultados apresentados nas árvores filogenéticas (Fig. 1) expressaram claramente a especiação apoiada na distância genética onde tal diferenciação pode ter sido influenciada por eventos de diversificação na região neotropical, refletidos nos registros geológicos (Lavina, 2011). Estes registros sugerem que, há cerca de 50 milhões de anos, o clima quente e úmido propiciou o desenvolvimento e expansão das florestas tropicais, como a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica, onde, provavelmente, durante essa época, essas florestas formavam uma contínua extensão vegetal, estendendo-se do Pacífico ao Atlântico (Morley, 2000).

A origem e subsequente diversificação da subfamília Kingsleyinae, há aproximadamente 38 milhões de anos, ocorreram principalmente na região amazônica (Álvarez *et al.*, 2020). Contudo, o surgimento de uma formação diagonal seca tropical/subtropical pleistocênica promoveu a separação de dois grandes conjuntos florestais sul-americanos, a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica. Essa

transformação propiciou o isolamento das populações e a formação de áreas de endemismo (Zanella, 2011). A interação de eventos como dispersão, extinção, mudanças geológicas, geográficas e climáticas conduziu à separação de populações em diversas zonas e condições. Estes eventos não apenas evidenciam a presença atual das espécies, mas também buscam explicar a ausência delas em locais ecologicamente favoráveis para sua continuidade (Morley, 2000).

O interesse pela carcinofauna brasileira no final do século XIX, levou grande parte dos pesquisadores primeiramente para região amazônica, os registros disponíveis eram geralmente concentrados nas proximidades das áreas mais populosas ou dispersos ao longo dos principais rios (Boeger, 2009), período das primeiras descrições do nosso grupo de interesse. Mais tarde, Magalhães (1990) examinou um conjunto de três caranguejos *Pseudothelphusidea* coletados na bacia do alto Rio Negro, ao visitar o Rijksmuseum van Natuurlijke Historie. Nos anos seguintes, já nos anos 2000, ele participou de expedições ictiológicas e entomológicas que resultaram em novas descrições para o gênero (Magalhães 2003; Magalhães 2004) e coleções de caranguejos dulcícolas do médio e baixo Rio Xingu, bacia adjacente do Rio Tocantins e parte do Escudo Brasileiro (Fig. 6).

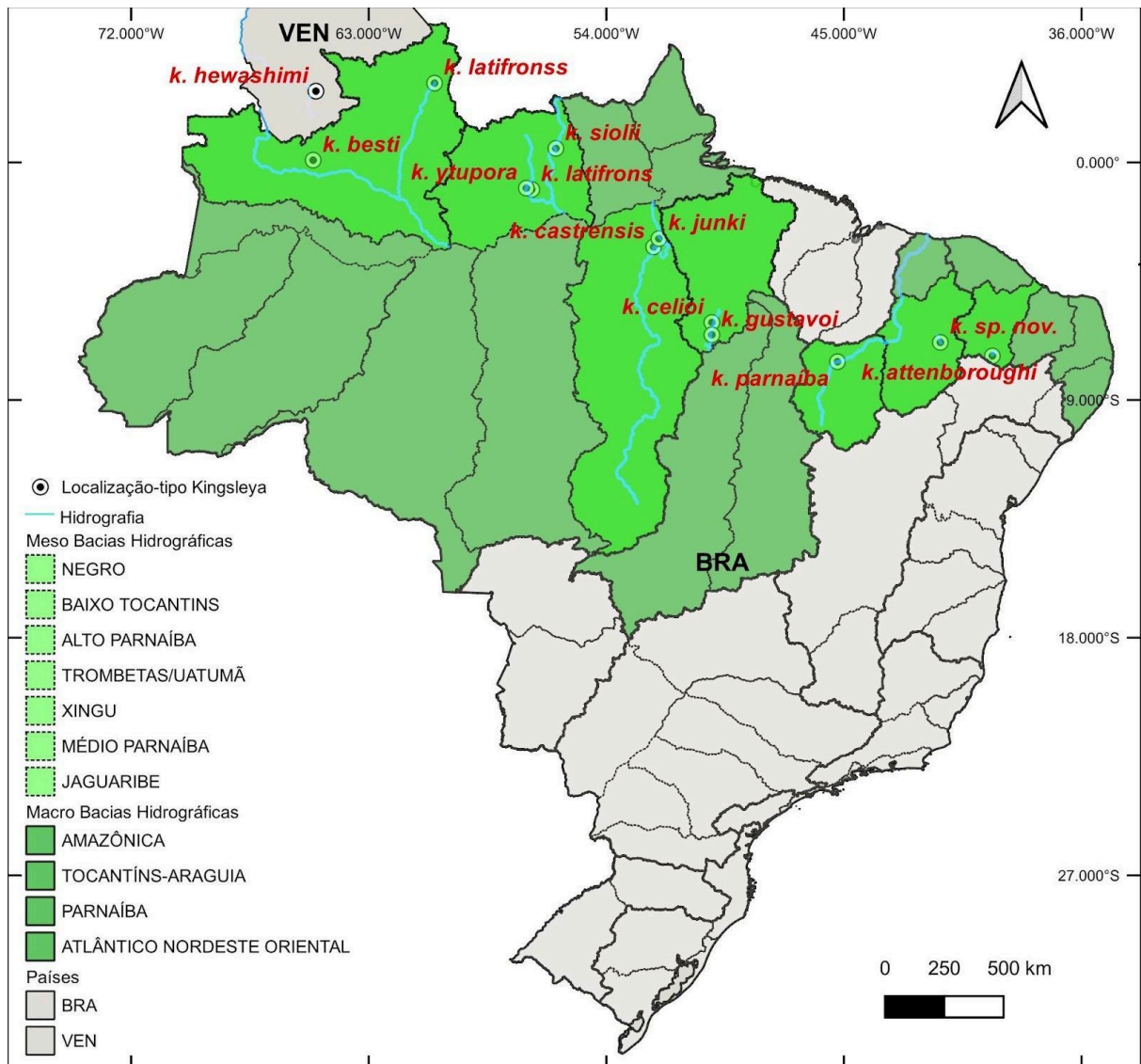


Figura 6. Mapa de distribuição baseado na localidade-tipo e Bacias Hidrográficas dos *Kingsleya* na região neotropical.

Buscando entender a distribuição do grupo a partir das espécies reunidas até aquele momento, Magalhães (2004) corroborou com a hipótese de Jégu (1992) sobre as rotas de distribuição norte/sul de dispersão dos peixes serrasalmídeos reofilicos da Amazônia Oriental, entre o sul do Escudo das Guianas e a área do Escudo Brasileiro do Rio Tocantins por vicariância de populações isoladas, isso porque, *K. siolii* tem uma distribuição no Escudo das Guianas e aparentemente está restrita aos cursos superiores dos rios e riachos das bacias dos rios Trombetas e Coppename, enquanto *K. gustavoi* teria evoluído na área do Escudo Brasileiro.

Kingsleya gustavoi marcaria a ocorrência mais oriental do gênero e, baseado em análises filogenéticas morfológicas (Mendoza, 2015) como espécie mais basal

do grupo por apresentar um processo marginal lameliforme que, até então, era observado apenas nesta espécie. Entretanto, recentes descrições localizadas ainda mais ao extremo oriental com *K. attenboroughi*, *K. parnaiba* e agora *Kingsleya*. sp. nov. mostram essa característica compartilhada por todas estas espécies e também, é confirmada aqui a proximidade pelas análises moleculares, onde essas espécies compartilham o mesmo clado (Fig. 1).

Do ponto de vista da distribuição, *K. gustavoi* possui a sua localidade-tipo relativamente próxima de outro indivíduo do gênero, *K. celioi*, cerca de 52 km, ao longo do Rio Parauapebas, mas, apesar de compartilharem o mesmo curso fluvial (Fig. 7), *K. celioi* está morfologicamente e molecularmente relacionado a outras espécies.

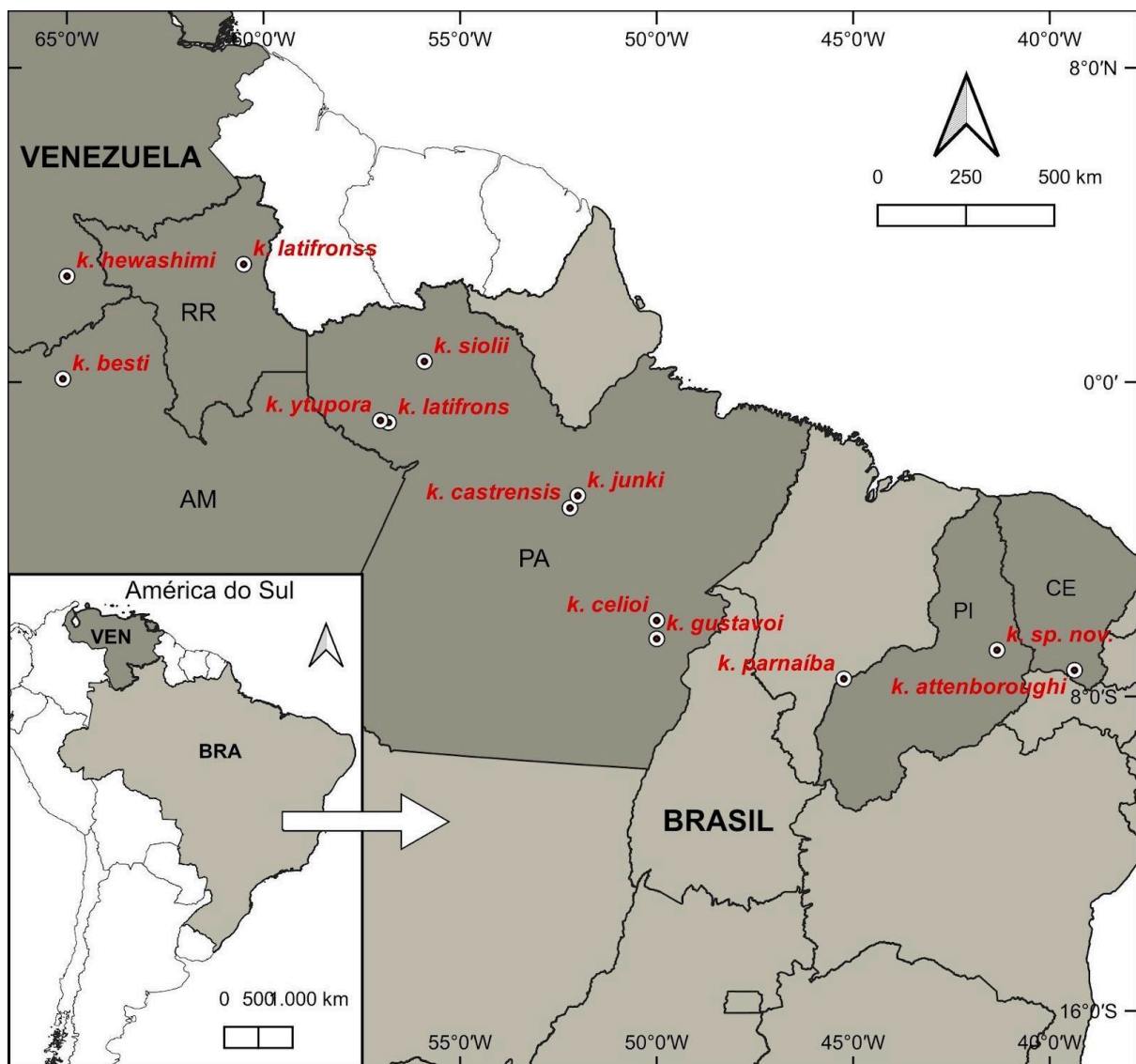


Figura 7. Mapa de distribuição baseado na localidade-tipo dos *Kingsleya* na região neotropical.

As espécies *K. junki* e *K. castrensis*, identificadas neste estudo como espécies irmãs, têm suas localidades-tipo separadas por aproximadamente 40 km, situadas ao longo do mesmo curso fluvial, o Rio Xingu. Ambas apresentam no G1 uma ampla placa apical, mais larga na parte média quando observada em vista abdominal. O lobo distal da placa apical se expande logo acima do campo de espinhos apicais, vendo-se lateralmente, e se estreita na direção distal. Esta característica é compartilhada com *K. celioi*, espécie morfológicamente similar às anteriores e molecularmente próxima por dividir o mesmo clado.

Completando o clado temos, *K. latifrons* e *K. ytipora* formando um clado bem sustentado e apesar de serem muito semelhantes, é possível sua diferenciação através da lâmina apical e apêndice dos gonópodos. Além disso, Magalhães (1986) afirma que estas espécies podem ser observadas dentro do mesmo espaço geográfico, mas pelo menos onde são simpátricas, ambas as espécies podem ser distinguidas pela presença (em *K. ytipora*) ou ausência (em *K. latifrons*) de espinhos agudos na metade distal do bordo interno superior do mero dos quelípodos. A presença de um ramo separado de *K. latifrons* (MZUSP 32307) indica que esta possa ser uma espécie nova, uma vez que a proximidade em relação a *K. ytipora* é distinta quando comparada ao outro indivíduo, como também a distância geográfica singular comparado a outros indivíduos (Fig. 7).

Os resultados da topologia concatenada (Fig. 1) revelam uma complexidade genética considerável com um padrão zoogeográfico acentuado indicando áreas relictuais que refletem alternâncias históricas entre períodos de semiárido e úmido, bem como fases de expansão e retração da área de distribuição (Fernandes e Queiroz, 2018).

Ao considerarmos o cenário dos refúgios e analisarmos a distribuição das espécies de *Kingsleya* em áreas como os brejos nordestinos e as zonas de transição, assim como, ao explorarmos outros grupos que compartilham padrões de distribuição semelhantes, emerge a plausível hipótese de que os refúgios desempenharam um papel fundamental nesse processo (Rocha e Kaefer, 2019). Esta hipótese também é discutida em outros autores dentro da subfamília

Kingsleyinae (Santos *et al.*, 2020; Mantelatto *et al.*, 2022;), uma vez que, os gêneros *Fredius* e *Kingsleya* compartilham similaridades nas suas áreas de distribuição de espécies e também, nas características do ambiente em que vivem, como é o caso das espécies *K. attenboroughi* e *F. ibiapaba*, ambas encontradas em áreas relictuais de florestas úmidas.

Este isolamento, muito provavelmente, agiu como um catalisador para a diversificação das espécies de *Kingsleya*, possibilitando que cada refúgio desse origem a populações ou espécies com características distintas. No entanto, diversas barreiras, sejam elas de natureza geográfica, ecológica ou comportamental, podem ter impedido a completa mistura dessas populações, preservando, assim, suas identidades únicas.

Nesse contexto, as conexões entre essas florestas e as variações temporais desempenharam um papel crucial no estímulo ao intercâmbio da biota, favorecendo tanto a migração quanto a especiação da fauna e da flora. Entretanto, nos tempos contemporâneos, a migração da fauna e da flora entre essas duas regiões enfrenta obstáculos significativos devido às marcantes disparidades climáticas e aos fatores biogeográficos predominantes (Santos, 2020).

6 CONCLUSÃO

As análises filogenéticas corroboraram o monofiletismo das *Kingsleya*. Ficaram evidenciadas 75% das relações intraespecíficas desse gênero, bem como foi identificada a singularidade de uma nova espécie.

Conforme estudos preconizam, mesmo com sua ampla disseminação, principalmente na bacia Amazônica, a exploração dessas áreas relictuais no Nordeste e em outras localidades, torna-se primordial para alcançar um conhecimento abrangente dos aspectos biológicos e ecológicos dos caranguejos dulcícolas. O isolamento da população de caranguejos dulcícolas no Nordeste enfatiza a relevância desses organismos na reconstrução das narrativas biogeográficas entre a Amazônia e a Mata Atlântica, ambas ricas em diversidade. Além disso, os padrões de distribuição delineados aqui encontram suporte na convergência de evidências morfológicas e moleculares.

Portanto, a proteção efetiva das áreas onde esses caranguejos ocorrem garantirá não apenas a sobrevivência dessas subpopulações, mas também a preservação dos corpos d'água e do remanescente de vegetação natural, evitando assim a extinção.

REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ, Fernando *et al.* Revision of the higher taxonomy of Neotropical freshwater crabs of the family Pseudothelphusidae, based on multigene and morphological analyses. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 2020.

BARROS, José Sidiney. GEOLOGIA DA BACIA DO RIO GUARIBAS. **Revista da Academia de Ciências do Piauí**, v. 3, n. 3, 2022.

BOEGER, WALTER A. Estado da Arte e Perspectivas para a Zoologia no Brasil, 2009.

BOTT, Richard. Die Süßwasserkrabben von Afrika (Crust., Decap.) und ihre **Stammesgeschichte**. 1955.

CARDOSO, Zandra Zangrando. **A ligação histórica entre os Biomas Amazônia e Mata Atlântica através da Caatinga: Brejos de altitude**. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) - UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, 2011.

COLAVITE, Jessica *et al.* Molecular phylogeny of Thoe Bell, 1836 (Crustacea, Brachyura, Majoidea). **Nauplius**, v. 30, 2022.

CORREIA, Dennis Bezerra *et al.* Etnobiologia do caranguejo Kingsleya attenboroughi Pinheiro & Santana 2016 na Área de Proteção Ambiental Chapada do Araripe. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p.e19091210827-e19091210827, 2020.

CUMBERLIDGE, Neil *et al.* The significance of female dimorphic characters of primary freshwater crabs for the systematics of Eubrachyura (Crustacea: Decapoda: Brachyura). **Journal of Crustacean Biology**, v. 41, n. 4, p. 058, 2021.

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

DE ARAUJO SOUSA, Francisco Wellington; LIMA, Iracilde Maria Moura Fé. DIAGNÓSTICO SOCIOAMBIENTAL DA PORÇÃO OESTE DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUARIBAS, PIAUÍ. **Revista da Academia de Ciências do Piauí**, v. 2, n. 2, 2021.

SOUSA, Francisco Wellington De Araújo; LIMA, Iracilde Maria De Moura Fé; VALLADARES, Gustavo S. ANÁLISE DO RELEVO A PARTIR DE IMAGENS SRTM DA PORÇÃO OESTE DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUARIBAS, SEMIÁRIDO PIAUIENSE. **OKARA: Geografia em Debate**, v. 15, n. 1, 2021.

FERNANDES, Moabe Ferreira; QUEIROZ, Luciano Paganucci de. Vegetação e flora da Caatinga. **Ciência e cultura**, v. 70, n. 4, p. 51-56, 2018.

FOLMER, O. *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Mol. Mar. Biol. Biotechnol.** 1994.

GOMIDES, Samuel Campos *et al.* Novo registro altitudinal de *Trichodactylus fluvitilis* (LATREILLE, 1828)(Decapoda, Trichodactylidae) no Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 31, n. 3, p. 327-330, 2009.

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

HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17, 754–755 (2001). **Scientific Reports**, v. 11, p. 16055, 2001.

JÉGU, M. Influência das alterações climáticas do quaternário sobre a distribuição e evolução dos peixes na Amazônia. **Revista Brasileira de Genética**, v. 15, p. 234-234, 1992.

RONQUIST, Fredrik; HUELSENBECK, John P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

HULTGREN, Kristin M.; STACHOWICZ, John J. Molecular phylogeny of the brachyuran crab superfamily Majoidea indicates close congruence with trees based on larval morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, n. 3, p. 986-996, 2008.

KLAUS, Sebastian; YEO, Darren CJ; AHYONG, Shane T. Freshwater crab origins—laying Gondwana to rest. **Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology**, v. 250, n. 4, p. 449-456, 2011.

LAVINA, E. L.; FAUTH, G. Evolução geológica da América do Sul nos últimos 250 milhões de anos. **Biogeografia da América do Sul, Padrões e Processos**. Editora Roca, São Paulo, p. 3-13, 2011.

LIMA-GOMES, Renata Cristina de. **Análise filogenética dos caranguejos dulcícolas da família Trichodactylidae (Crustacea: Decapoda: Brachyura) com base no estudo morfológico-anatômico do esqueleto gástrico**. Tese (Doutorado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) - INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA, 2017.

LONDE, Bruna Pires *et al.* **Estrutura populacional do caranguejo *Dilocarcinus pagei* (Decapoda, Trichodactylidae) no rio Araguari, Minas Gerais**. Monografia (Ciências Biológicas) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, 2021.

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

MAGALHÃES, Célio. The occurrence of freshwater crabs (Crustacea: Decapoda: Pseudothelphusidae, Trichodactylidae) in the Rio Xingu, Amazon Region, Brazil, with description of a new species of Pseudothelphusidae. **Amazoniana**, v. 17, n. 3/4, p. 377-386, 2003.

MAGALHÃES, Célio; TÜRKAY, M. A new species of *Kingsleya* from the Yanomami Indians area in the upper Rio Orinoco, Venezuela. **Senckenbergiana biológica**, v. 88, p. 231-237, 2008.

MAGALHÃES, Célio. Avaliação dos Pseudotelfusídeos (Decapoda: Pseudotelfusidae). **Livro Vermelho dos crustáceos do Brasil: avaliação**, v. 2014, p. 441-458, 2010.

MAGALHÃES, Célio *et al.* Diversity, distribution and conservation of freshwater crabs and shrimps in South America. **A global overview of the conservation of freshwater decapod crustaceans**, p. 303-322, 2016.

MANTELATTO, Fernando L. *et al.* Combined multigene and morphological analysis reveals lineage-specific diversification of the neotropical freshwater crabs of the genus *Fredius* Pretzmann, 1967 (Brachyura, Pseudothelphusidae). **Systematics and Biodiversity**, v. 20, n. 1, p. 1-15, 2022.

MARTINELLI FILHO, José E. *et al.* Heterochely and laterality in *Kingsleya castrensis* Pedraza, Martinelli-Filho & Magalhães, 2015 (Decapoda, Pseudothelphusidae). **Crustaceana**, v. 92, n. 4, p. 415-427, 2019.

MENDOZA, Manuel Enrique Pedraza. **Morfologia, taxonomia e análise cladística da tribo Kingsleyini (Crustacea: Decapoda)**. 2015. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/38/38131/tde-16032016-122758/>. Acesso em: 03 maio 2023.

MORLEY, Robert J. *et al.* **Origin and evolution of tropical rain forests**. John Wiley & Sons, 2000.

NASCIMENTO, Carlito Alves do *et al.* Mating behavior of the freshwater crab *Kingsleya attenboroughi* Pinheiro and Santana, 2016 (Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae). **Nauplius**, v. 28, 2020.

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

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

PINHEIRO, Allysson Pontes *et al.* EDUCAÇÃO AMBIENTAL COMO FERRAMENTA DE CONSERVAÇÃO DO CARANGUEJO DE ÁGUA DOCE *KINGSLEYA ATTENBOROUGH* PINHEIRO & SANTANA, 2016 NO DISTRITO DE

ARAJARA, BARBALHA, CEARÁ. **Revista de Extensão da URCA**, v. 1, n. 1, p. 297–302-297–302, 2021.

PRALON, Bruno; PINHEIRO, Allysson P.; SANTANA, William. New species of freshwater crab genus *Kingsleya* Ortmann, 1897 (Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae) from Piauí, northeastern Brazil. **Nauplius**, v. 28, 2020.

POETTINGER, Theodor S.; KLAUS, Sebastian; SCHUBART, Christoph D. Phylogenetic relationships among neotropical freshwater crabs of the Pseudothelphusidae (Decapoda, Brachyura) and the taxonomic position of Ptychophallus and related genera. **Crustaceana**, v. 89, n. 14, p. 1717-1728, 2016.

ROCHA, Daniel Gomes da; KAEFER, Igor L. What has become of the refugia hypothesis to explain biological diversity in Amazonia?. **Ecology and evolution**, v. 9, n. 7, p. 4302-4309, 2019.

RONQUIST, Fredrik; HUELSENBECK, John P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

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

SAMPAIO, Raimundo Samuel Leite *et al.* Revisão bibliográfica e análises de visualizações sobre *Kingsleya attenboroughi* Pinheiro & Santana, 2016 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Pseudothelphusidae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e18010615272-e18010615272, 2021.

SANTOS, Livanio Cruz dos. **Caranguejo relictual na Serra da Ibiapaba: o que nos diz a teoria dos refúgios?** Tese (doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2020.

SANTOS, Livanio C. *et al.* A new species of freshwater crab genus *Fredius* Pretzmann, 1967 (Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae) from a naturally isolated orographic forest enclave within the semiarid Caatinga in Ceara, northeastern Brazil. **PeerJ**, v. 8, p. e9370, 2020.

SANTOS, Viviane M.; DA SILVA CÁCERES, Marcela E.; LÜCKING, Robert. Diversity of foliicolous lichens in isolated montane rainforests (Brejos) of northeastern Brazil and their biogeography in a neotropical context. **Ecological Research**, v. 35, n. 1, p. 182-197, 2020.

TAMURA, Koichiro; STECHER, Glen; KUMAR, Sudhir. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

Tsang, L. M., Schubart, C. D., Ahyong, S. T., Lai, J. C., Au, E. Y., Chan, T. Y., Ng, P. K., & Chu, K. H. (2014). Evolutionary history of true crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) and the origin of freshwater crabs. **Molecular biology and evolution**, 31(5), 1173–1187. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu068>.

WOLFE, Joanna M. et al. Convergent adaptation of true crabs (Decapoda: Brachyura) to a gradient of terrestrial environments. **BioRxiv**, p. 2022.12.09.519815, 2022.

XIA, Xuhua et al. Assessing substitution saturation with DAMBE. **The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny**, v. 2, p. 615-630, 2009.

XIA, X.; XIE, Z. DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Journal of heredity**, v. 92, n. 4, p. 371-373, 2001.

ZANELLA, F. C. V. Evolução da biota da diagonal de formações abertas secas da América do Sul. **Biogeografia da América do Sul: padrões e processos**, p. 198-220, 2011.