

**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto  
Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade PIBIC/ICMBio**



**Relatório Final de Acompanhamento**  
**(Ciclo 2023-2024)**

**Influência de diferentes condições de habitat em variações ecológicas e  
fenotípicas nas diferentes populações de *Potiberaba porakuara*  
(Amphipoda: Mesogammaridae) Fisër, Zgmajster & Ferreira, 2013**

**Nome do estudante de IC: Ícaro Silveira da Silva**

**Orientador: Diego de Medeiros Bento**

**Coorientador: Matheus Arthur Lúcio da Rocha**

**Instituição do coorientador: Universidade Federal do Rio Grande do Norte**

**Natal  
Setembro/2024**

## Resumo

Cavernas abrigam uma biodiversidade única, sendo alvos de estudos recentes que revelaram várias novas espécies. A fauna cavernícola, especialmente as espécies troglóbias, como *Potiberaba porakuara* Fiser, Zigmajster & Ferreira, 2013 (Amphipoda: Mesogammaridae), responde de forma acentuada a variações ambientais, sendo um modelo ideal para estudar adaptabilidade frente à dinâmica hídrica e sazonalidade. Esta espécie troglóbia, encontrada em cavernas calcárias na Formação Jandaíra, no Nordeste do Brasil, foi estudada para compreender seus aspectos populacionais, reprodutivos e morfológicos. Foram analisados 907 indivíduos de *P. porakuara* coletados durante as estações seca e chuvosa, utilizando análises morfométricas, geométricas, testes estatísticos e modelos incorporando dados morfológicos e abióticos. As variações na forma da região cefálica e própodo sugerem respostas a condições hidrodinâmicas, formando dois grupos morfológicos distintos. As análises indicam possíveis morfótipos ao longo da distribuição da espécie, refletindo variações ambientais e recursos disponíveis. Além disso, os dados populacionais e abióticos mostram que a sazonalidade influencia a abundância de indivíduos, mas tem menor impacto nos aspectos reprodutivos. Os resultados fornecem subsídios para ações de conservação de *P. porakuara*, espécie oficialmente ameaçada de extinção, destacando como diferentes condições ambientais afetam seus aspectos morfológicos, ecológicos e populacionais.

**Palavras-chave:** Cavernas, Relicto oceânico, Caatinga.

### ***Abstract***

Caves harbor a unique biodiversity and have been the focus of recent studies that have revealed several new species. Cave fauna, particularly troglobitic species like *Potiberaba porakuara* Fiser, Zigmajster & Ferreira, 2013 (Amphipoda: Mesogammaridae), respond significantly to environmental variations, making them an ideal model for studying adaptability to hydrodynamic and seasonal changes. This troglobitic species, found in limestone caves of the Jandaíra Formation in Northeast Brazil, was studied to understand its population, reproductive, and morphological aspects. A total of 907 individuals of *P. porakuara* were analyzed during the dry and rainy seasons using morphometric analyses, geometric methods, statistical tests, and models incorporating morphological and abiotic data. Variations in the shape of the cephalic region and propodus suggest responses to hydrodynamic conditions, forming two distinct morphological groups. The analyses indicate possible morphotypes along the species distribution, reflecting environmental variations and resource availability. Additionally, population and abiotic data show that seasonality influences individual abundance but has less impact on reproductive aspects. The results provide insights for conservation actions for *P. porakuara*, a species officially listed as endangered, highlighting how different environmental conditions affect its morphological, ecological, and population aspects.

**Keywords:** Caves, Oceanic relic, Caatinga

## Lista de Figuras

**Figura 1:** Exemplar de *Potiberaba porakuara* capturado na caverna dos Três Lagos.

**Figura 2:** Mapa das localidades de amostragem de *Potiberaba porakuara* nas cavernas calcárias da Formação Jandaíra nos estados do Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE). Linhas azuis indicam hidrografia. A área demarcada em azul evidencia a Bacia Apodi-Mossoró, área cinza delimita a Formação Jandaíra, círculos representam locais de ocorrência de *Potiberaba porakuara*. **1.** Caverna do Poço feio (PFE), **2.** Caverna da Água (CAG), **3.** Olho d'água da Furna (ODF), **4.** Caverna dos Troglóbios (TRO), **5.** Olho d'água do Tetéu (ODT), **6.** Caverna da Aposta (APO), **7.** Caverna dos Três Lagos (TLG), **8.** Gruta Zé de Juvino (ZJU).

**Figura 3:** Localidades onde exemplares de *Potiberaba porakuara* foram capturados. **A-** Caverna do Poço feio (PFE), **B-** Olho d'água da Furna (ODF), **C-** Caverna dos Troglóbios (TRO), **D-** Olho d'água do Tetéu (ODT), **E-** Caverna da Aposta (APO), **F-** Caverna dos Três Lagos (TLG), **G-** Gruta Zé de Juvino (ZJU). Não foi possível inserir foto da localidade da Caverna da Água (CAG) devido à indisponibilidade da imagem.

**Figura 4:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio.

**Figura 5:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Mandíbula, **D-** Maxilípede esquerdo, **E-** Maxilla I e **F-** Maxilla II.

**Figura 6:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 7:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 8:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna da Água.

**Figura 9:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna da Água. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Mandíbula, **D-** Maxilípede direito, **E-** Maxilla I e **F-** Maxilla II.

**Figura 10:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Caverna da Água. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 11:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna da Água. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 12:** Ilustração de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna.

**Figura 13:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna. **A-** Maxilípede esquerdo e direito, **B-** Maxilla I, **C-** Mandíbula.

**Figura 14:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 15:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 16:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna dos Troglóbios.

**Figura 17:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna dos Troglóbios. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Maxilípede direito e **D-** Maxilla II.

**Figura 18:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Cavernas dos Troglóbios. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 19:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna dos Troglóbios. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 20:** Ilustração de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu.

**Figura 21:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Maxilípede direita e **D-** Mandíbula.

**Figura 22:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 23:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 24:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna da Aposta.

**Figura 25:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna da Aposta. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Mandíbula, **D-** Maxilípede esquerdo e **E-** Maxilla I.

**Figura 26:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Caverna da Aposta. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 27:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna da Aposta. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 28:** Ilustração de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos.

**Figura 30:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Maxilípede esquerdo e direito e **D-** Mandíbula.

**Figura 31:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

**Figura 32:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

**Figura 33:** Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando dados morfométricos de oito localidades de *Potiberaba porakuara*. Cada localidade foi representada por uma cor, Caverna do Poço feio (Vermelho), Caverna da Água (Verde), Olho d'água da Furna (Rosa), Caverna dos Troglóbios (Azul), Olho d'água do Tetéu (Laranja), Caverna da Aposta (Amarelo), Caverna dos Três Lagos (Roxo), Gruta Zé de Juvino (Ciano).

**Figura 34:** **A-** Análise Discriminante Linear (LDA) com oito localidades de *Potiberaba porakuara* utilizando as mesmas variáveis da PCA. Cada localidade foi representada por uma cor, Caverna do Poço feio (Vermelho), Caverna da Água (Verde), Olho d'água da Furna (Rosa), Caverna dos Troglóbios (Azul), Olho d'água do Tetéu (Laranja), Caverna da Aposta (Amarelo), Caverna dos Três Lagos (Roxo), Gruta Zé de Juvino (Ciano). **B-** Análise Discriminante Linear (LDA) com as oito localidades de *Potiberaba porakuara* divididas em lêntico (Laranja) e lótico (Ciano). As cavernas com ambientes lênticos são Caverna da Água, Caverna dos Troglóbios, Caverna da Aposta, Caverna dos Três Lagos e Gruta Zé de Juvino. Caverna do Poço feio, Olho d'água da Furna e Olho d'água do Tetéu apresentam ambientes lóticos.

**Figura 35:** Matriz de correlação associada a um *heatmap* entre fatores bióticos e variáveis morfológicas das localidades lóticas de *P. porakuara*. As cores variam de vermelho a azul, representando correlações positivas e negativas, respectivamente, com valores próximos de 1 (em vermelho) indicando uma correlação positiva forte e valores próximos

de -1 (em azul) indicando uma correlação negativa forte. As siglas nos eixos X e Y correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

**Figura 36:** Matriz de correlação associada a um *heatmap* entre fatores bióticos e variáveis morfológicas das localidades lênticas de *P. porakuara*. As cores variam de vermelho a azul, representando correlações positivas e negativas, respectivamente, com valores próximos de 1 (em vermelho) indicando uma correlação positiva forte e valores próximos de -1 (em azul) indicando uma correlação negativa forte. As siglas nos eixos X e Y correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

**Figura 37:** Comparação das formas médias das populações de *P. porakuara* em ambientes lênticos (cinza claro) e lóticos (cinza escuro). As estruturas analisadas incluem a região cefálica e o própodo do gnatópode II, utilizando valores de distância de Procrustes para avaliar as diferenças morfológicas entre os ambientes.

**Figura 38:** Gráfico de distribuição de abundância por classe de tamanho de *P. porakuara* nas estações chuvosa e seca. As barras azuis representam a abundância durante a estação chuvosa, enquanto as barras vermelhas indicam a abundância na estação seca.

**Figura 39:** Análise de LC50 para *P. porakuara* durante a estação chuvosa, destacando em verde o ponto em que 50% da população atinge a maturidade.

**Figura 40:** Análise de LC50 para *P. porakuara* durante a estação seca, destacando em verde o ponto em que 50% da população atinge a maturidade.

**Figura 41:** Gráficos de regressão relacionando o número de ovos ao tamanho dos indivíduos de *P. porakuara*. As curvas em azul correspondem à estação chuvosa, enquanto as curvas em vermelho representam a estação seca.

## Lista de Tabelas

**Tabela 1:** Descrição das localidades e número amostral de *Potiberaba Porakuara* na Formação do calcário Jandaíra. As siglas PCA (Análise de componentes principais) e LDA (Análise Discriminante Linear) correspondem às análises morfológicas e os números amostrais utilizados em cada análise.

**Tabela 2:** Matriz de confusão derivada da CVA (Análise de Variação Canônica), com as comparações morfológicas entre localidades. PFE (Caverna do Poço feio), CAG (Caverna da Água), ODF (Olho d'água da Furna), TRO (Caverna dos Troglóbios), ODT (Olho d'água do Tetéu), APO (Caverna da Aposta), TLG (Caverna dos Três Lagos), ZJU (Gruta Zé de Juvino).

**Tabela 3:** Média das variáveis morfológicas em milímetros por localidade. PFE (Caverna do Poço feio), CAG (Caverna da Água), ODF (Olho d'água da Furna), TRO (Caverna dos Troglóbios), ODT (Olho d'água do Tetéu), APO (Caverna da Aposta), TLG (Caverna dos Três Lagos), ZJU (Gruta Zé de Juvino).

**Tabela 4:** Média das variáveis abióticas de cada localidade. PFE (Caverna do Poço feio), CAG (Caverna da Água), ODF (Olho d'água da Furna), TRO (Caverna dos Troglóbios), ODT (Olho d'água do Tetéu), APO (Caverna da Aposta), TLG (Caverna dos Três Lagos), ZJU (Gruta Zé de Juvino). Temperatura (°C), pH, ORP = Potencial de oxirredução, Condutividade, Turbidez, DO = Oxigênio dissolvido, TDS = Sólidos totais dissolvidos, Salinidade, PT = Fósforo total da água, TN = Nitrogênio total da água, TIC = Carbono inorgânico da água, TC = Carbono total da água, TOC = Carbono orgânico da água, OM = Matéria orgânica do sedimento.

Tabela 5: Valores de significância ( $p \leq 0,05$ ) resultantes a partir de Modelos Lineares Generalizados (GLM), mostrando valores de correlação entre variáveis morfológicas e abióticas das localidades lênticas. As siglas da tabela correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

Tabela 6: Valores de significância ( $p \leq 0,05$ ) resultantes a partir de Modelos Lineares Generalizados (GLM), mostrando valores de correlação entre variáveis morfológicas e abióticas das localidades lóticas. As siglas da tabela correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais



## Abreviaturas e Siglas

CAG	Caverna da Água
CE	Ceará
CVA	Análise de Variação Canônica
APO	Caverna da Aposta
GLM	Modelos Lineares Generalizados
ZJU	Gruta Zé de Juvino
LDA	Análise Discriminante Linear
ODF	Olho d'água da Furna
ODT	Olho d'água do Tetéu
PCA	Análise de componentes principais
PFE	Caverna do Poço feio
PLS	Regressão parcial de mínimos quadrados
RN	Rio Grande do Norte
TRO	Caverna dos Troglóbios
TLG	Caverna dos Três Lagos
P1A1	Comprimento do pedúnculo I da antena I
P2A1	Comprimento do pedúnculo II da antena I
P3A1	Comprimento do pedúnculo III da antena I
CFA	Comprimento do flagelo acessório
CA1	Comprimento da antena I
NAA1	Número de artículos da antena I
NAA2	Número de artículos da antena II
A2A4	Comprimento do artículo IV da antena II
A2A5	Comprimento do artículo V da antena II

A2CF	Comprimento total da antena II
CG1	Comprimento do gnatópode I
LG1	Largura do gnatópode I
CD1	Comprimento do dáctilo do gnatópode I
CP1	Comprimento do própodo do gnatópode I
CG2	Comprimento do gnatópode II
LG2	Largura do gnatópode II
U1RI	Comprimento do ramo interno do urópode I
U1RE	Comprimento do ramo externo do urópode I
U1P	Comprimento do pedúnculo do urópode I
U2RI	Comprimento do ramo interno do urópode II
U2RE	Comprimento do ramo externo do urópode II
U2P	Comprimento do pedúnculo do urópode II
U3RI	Comprimento do ramo interno do urópode III
U3RE	Comprimento do ramo externo do urópode III
U3P	Comprimento do pedúnculo do urópode III
ORP	Potencial de oxirredução
DO	Oxigênio dissolvido
TDS	Sólidos totais dissolvidos
PT	Fósforo total da água
TN	Nitrogênio total da água
TIC	Carbono inorgânico da água
TC	Carbono total da água
TOC	Carbono orgânico da água
OM	Matéria orgânica do sedimento

## Sumário

<b>Introdução.....</b>	<b>03</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>06</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>07</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>12</b>
<b>Discussão e Conclusões .....</b>	<b>57</b>
<b>Recomendações para o manejo .....</b>	<b>61</b>
<b>Agradecimentos .....</b>	<b>62</b>
<b>Citações e referências bibliográficas .....</b>	<b>63</b>

## Introdução

Cavernas são cavidades naturais formadas por meio do intemperismo químico, físico e/ou mecânico sobre a rocha matriz (Jones *et al.*, 1992). Assim, existem cavernas formadas pela dissolução de diferentes tipos de rocha (como calcário, formações ferríferas, mármore, arenito, etc) ou formadas a partir de fontes hidrotérmicas, derramamento de lava, dissolução de geleiras ou de origem tectônica (Poulson & White, 1969; Romero, 2012). Além disso, as características geológicas e biológicas desses ambientes são determinadas pela deposição e moldagem de diversas feições (White & Culver, 2011).

No mundo, o Brasil se destaca em número de cavidades registradas até o momento, com cerca de 23.000 cavernas, distribuída em todas as regiões do país. Dentre as regiões em destaque, está o Nordeste, com ênfase no estado do Rio Grande do Norte (RN) abrigando cerca de 6,02% (1.362) do total de cavernas do país, cuja maioria estão inseridas nos calcários do Grupo Apodi/Formação Jandaíra, região Oeste do estado (CECAV, 2023). As cavernas desta região apresentam rica diversidade fossilífera, de vertebrados e invertebrados, que foi moldada pelas mudanças paleoclimáticas que marcaram a área (Delić *et al.*, 2020). Essas mudanças também influenciaram a alternância de fauna ao longo do tempo, evidenciada pelos fósseis e pela presença de diversos relictos filogenéticos e filogeográficos (Fišer *et al.*, 2013; Bento, 2021; Bento *et al.*, 2021; Rocha, 2021).

As cavernas da Formação Jandaíra têm sido alvo de estudos de cunho ecológico, taxonômico e geológico nos últimos anos, com a descoberta de diversas novas cavidades, bem como a descoberta e descrição de novas espécies nesta região (Fišer *et al.*, 2013; Hellmann *et al.*, 2018; Santos, 2020), indicando que as cavernas desta formação podem abrigar uma fauna muito mais diversa do que se imaginava.

Apesar de numerosas no RN, as cavernas são afetadas por ações antrópicas como assentamentos rurais, desmatamento, visitação desordenada, exploração petrolífera e, principalmente, por mineração (Ferreira *et al.*, 2010; Bento, 2021; CECAV, 2023). Ações deste tipo são comumente associadas a distúrbios populacionais em espécies epígeas e hipógeas, em casos extremos levando a perdas irreversíveis em populações com alta especificidade ambiental, como as espécies troglóbias (Rodas *et al.*, 2023). Estas espécies são exclusivamente subterrâneas e são conhecidas por apresentarem alta correlação evolutiva com o ambiente que habitam, sejam em termos de macro ou micro-habitats. Isso torna essas populações sensíveis a mudanças ambientais nas regiões que habitam (Protas *et*

*al.*, 2012; Balazs *et al.*, 2021). Por isso, é importante entender como estes ambientes interagem com a fauna local, e como essa fauna pode responder a mudanças nesses ambientes.

Dentre as espécies que habitam as cavernas da formação Jandaíra, está o anfípode *Potiberaba porakuara*, espécie descrita em 2013 por Fišer e colaboradores e que, até 2021, apresentava localidade restrita apenas à localidade tipo, a gruta Três Lagos, localizada no município de Felipe Guerra, região Oeste do estado do RN (Bento *et al.*, 2021). Esta espécie se destaca por sua capacidade de colonização de uma vasta gama de cavernas na Formação calcária Jandaíra, que apresentam uma grande heterogeneidade em suas condições físico-químicas. Biogeograficamente, é considerada uma espécie de relictos oceânico, espécie atualmente dulcícola que se originou a partir de ancestrais marinhos. Além da peculiaridade biogeográfica, a espécie apresenta singularidades também em aspectos reprodutivos, sendo considerada partenogenética, de modo que, desde sua descrição até o presente estudo, apenas fêmeas foram registradas em 11 anos de coletas (Ferreira *et al.*, 2010; Fišer *et al.*, 2013; Bento, 2021; Bento *et al.*, 2021; Rocha, 2021).

Estudos preliminares, como o desenvolvido por Rocha (2021), já indicavam que os sistemas subterrâneos da Formação Jandaíra poderiam promover não apenas diversificação genética, mas também poderiam impulsionar diferenciações fenotípicas entre populações distribuídas em mais de uma localidade. Isso foi observado em *Potiberaba porakuara*, o que a torna um bom modelo para estudos ecoevolutivos.

Levando em conta as delimitações realizadas por Rocha (2021) e Bento *et al.* (2024), que consideram indivíduos de algumas das localidades analisadas como pertencentes a uma mesma população, observações preliminares desses estudos sugerem que, apesar de constituírem uma mesma população, indivíduos de cavernas diferentes apresentam fenótipos distintos. Uma vez que estas cavernas apresentam características físico-químicas distintas, os diferentes ambientes podem levar à seleção e fixação de diferentes fenótipos. Assim, para cumprir um dos objetivos propostos, a identificação dos indivíduos por cavernas foi realizada para investigar a existência de variação fenotípica entre elas e compreender sua natureza.

Os locais de registro de *P. porakuara* variam em aspectos como tamanho da caverna, presença de predadores, competição, diferença entre substratos, presença de raízes, variações hidrodinâmicas e parâmetros físico-químicos da água (Bento *et al.*, 2021; Rocha, 2021).

Variações em aspectos como estes podem ser fundamentais para que diferentes fenótipos sejam expressos e perpetuados entre as populações (Lima *et al.*, 2017), ocasionando, por exemplo, processos de adaptação local (Zamudio *et al.*, 2016).

Levando em consideração os fatos anteriores, o presente estudo busca, por meio da interseção de dados morfológicos, morfométricos e ecológicos, identificar e descrever os diferentes fenótipos encontrados entre as localidades de *P. porakuara* nas cavernas da Formação Jandaíra. Além disso, busca identificar os fatores ambientais com maior influência no surgimento e manutenção destes fenótipos, avaliando ao final dos estudos se os agrupamentos filogenéticos, propostos por Bento *et al.* (2024) e Rocha (2021), convergem com os dados morfológicos. Além disso, objetiva avaliar indícios de que o ambiente não apenas estaria agindo somente na seleção fenotípica, mas também em uma possível seleção genética (Trontelj *et al.*, 2019).

## **Objetivos**

### **Objetivo geral**

Avaliar, de forma qualitativa e quantitativa, como as diferentes condições ambientais nos variados habitats em toda a distribuição geográfica de *P. porakuara* podem atuar na moldagem de aspectos biológicos das suas diferentes populações, bem como direcionar o surgimento e manutenção de diferentes fenótipos, gerando subsídios para conservação da biodiversidade subterrânea no oeste da Formação Jandaíra.

### **Objetivos específicos**

1. Identificar fatores ambientais e/ou antrópicos com potencial efeito na dinâmica de *P. porakuara* em cavernas e nascentes cársticas na Formação Jandaíra;
2. Avaliar o efeito de diferentes condições e recursos nos habitats subterrâneos sobre as variações fenotípicas de *P. porakuara*;
3. Descrever as variações fenotípicas encontradas ao longo da distribuição geográfica de *P. porakuara*;
4. Gerar subsídios para a conservação da biodiversidade subterrânea no oeste da Formação Jandaíra.

## **Material e Métodos**

### **Local de amostragem e coleta dos espécimes**

Para a captura dos exemplares, foi utilizado o método de busca ativa, com auxílio de pincel ou tela de puçá, retirando os animais e os acondicionando em tubos plásticos. Além disso, mergulhos livres foram realizados para retirada de indivíduos aderidos ao substrato e raízes. As coletas foram realizadas em cavernas da Formação Jandaíra, localizada na porção Oeste do estado do Rio Grande do Norte (RN) e Nordeste do estado do Ceará (CE). Os espécimes foram capturados nas localidades: 1. Caverna do Poço feio (PFE), 2. Caverna da Água (CAG), 3. Olho d'água da Furna (ODF), 4. Caverna dos Troglóbios (TRO), 5. Olho d'água do Tetéu (ODT), 6. Caverna da Aposto (APO), 7. Caverna dos Três Lagos (TLG), 8. Gruta Zé de Juvino (ZJU) (Figura 2).

Ao término das expedições e da triagem, 907 espécimes foram coletados e selecionados para inclusão no presente estudo. Esta seleção foi baseada na preservação das estruturas corporais necessárias para a extração das informações morfológicas. Durante o processo de captura e fixação dos organismos, ocorreu a perda de partes das antenas, pereópodes, urópodes, entre outras estruturas. Dessa forma, apenas os indivíduos adultos e aqueles que estavam mais completos foram escolhidos para análise. Os espécimes que apresentavam danos ou ausência de estruturas foram devidamente registrados e mensurados, visando a utilização dessas informações em estudos ecológicos subsequentes, assim como possível utilização na descrição dos morfótipos de *P. porakuara*.

Após a captura, os exemplares foram armazenados em recipientes plásticos, separados e identificados por localidades. Posteriormente, foram fixados em solução de álcool 100%. Em seguida, uma amostra de cada localidade foi corada utilizando rosa de bengala, e os exemplares foram dissecados sob estereomicroscópio com auxílio de alfinetes entomológicos e montados em lâminas com líquido de imersão Hoyer para conservar os aspectos morfológicos. Para secagem do Hoyer, as lâminas foram postas em uma estufa por 48 horas a 50°C, e finalmente foram seladas com verniz.





**Figura 1:** Exemplar de *Potiberaba porakuara* capturado na caverna dos Três Lagos.

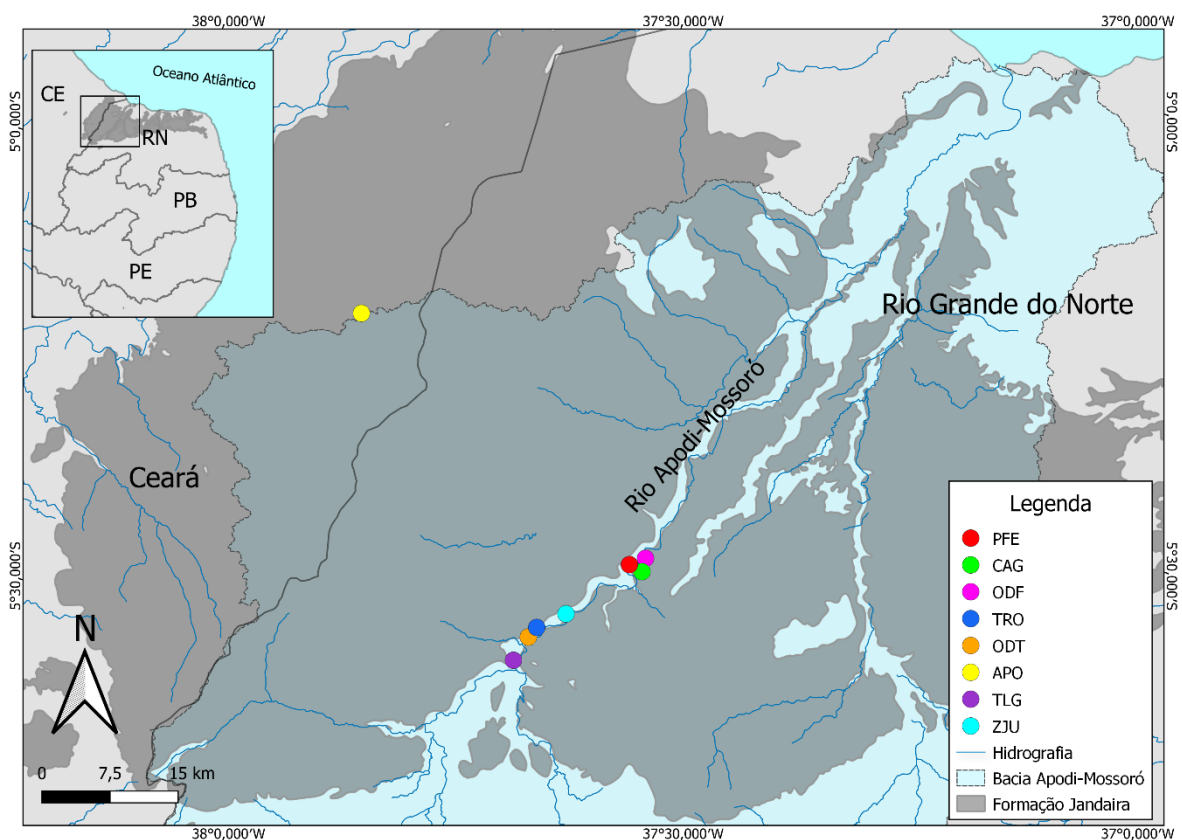
As variáveis ambientais foram coletadas utilizando uma sonda multiparâmetro Horiba U-50, juntamente com a caracterização dos ambientes como lênticos ou lóticos. Para identificar ações antrópicas, foram utilizadas as descrições de Ferreira e colaboradores (2010). Os dados abióticos passaram por tratamento e foram analisados por meio de técnicas multivariadas e exploratórias, incluindo Análise Discriminante Linear (LDA), Modelos Lineares Generalizados (GLM), Análise de Componentes Principais (PCA) e *heatmap*.

Também foi gerado um gráfico de abundância por classe de tamanho para cada estação, o que permitiu entender a distribuição dos tamanhos dos indivíduos e possivelmente detectar diferenças entre as estações chuvosa e seca. Para inferir o tamanho no qual as fêmeas atingem a maturidade sexual, uma análise de LC50 foi realizada. O LC50 indica o comprimento no qual 50% das fêmeas estão maduras sexualmente. A análise considerou presença de ovos e características morfológicas específicas de fêmeas maduras, como o desenvolvimento dos oostegitos, estrutura que funciona como bolsa incubadora, e maior densidade de cardas na região pleoral. Esse parâmetro é essencial para a conservação da espécie, pois auxilia na definição de tamanhos mínimos de captura e outras medidas de proteção, garantindo a reprodução adequada da população.

Foram também realizadas regressões lineares para examinar a correlação entre o tamanho dos indivíduos e o número de ovos em estações de seca e chuva. Assim, pode-se

entender a influência do tamanho sobre a fecundidade e identificar variações sazonais nessa relação. Além disso, uma Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada para avaliar as diferenças na estrutura populacional entre as estações chuvosa e seca. O objetivo foi determinar se as variações observadas entre as médias das estações são estatisticamente significativas.

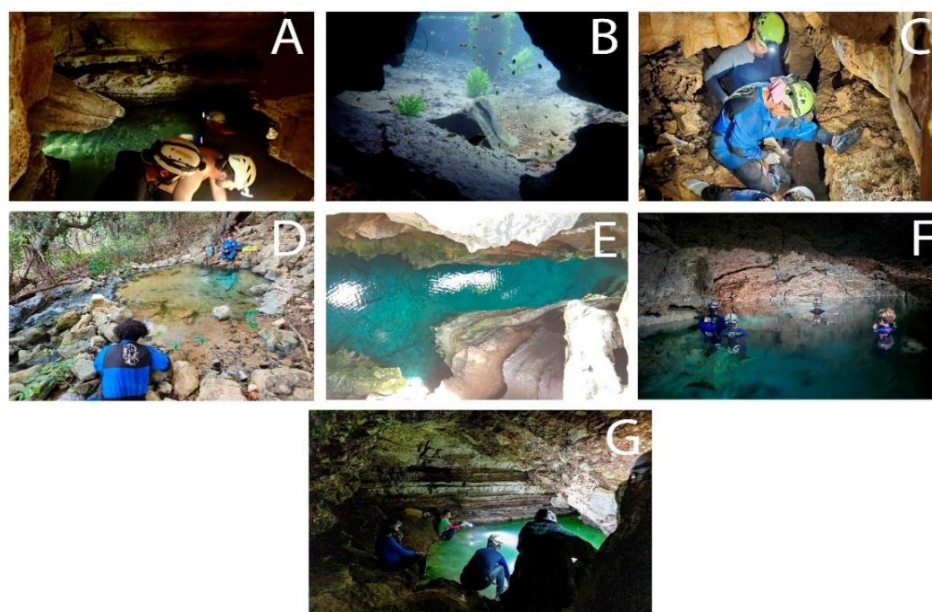
Todas as análises estatísticas acima foram realizadas no software Rstudio, versão 3.10.5.



**Figura 2:** Mapa das localidades de amostragem de *Potiberaba porakuara* nas cavernas calcárias da Formação Jandaíra nos estados do Rio Grande do Norte (RN) e Ceará (CE). Linhas azuis indicam hidrografia. A área demarcada em azul evidencia a Bacia Apodi-Mossoró, área cinza delimita a Formação Jandaíra, círculos representam locais de ocorrência de *Potiberaba porakuara*. **1.** Caverna do Poço feio (PFE), **2.** Caverna da Água (CAG), **3.** Olho d'água da Furna (ODF), **4.** Caverna dos Troglóbios (TRO), **5.** Olho d'água do Tetéu (ODT), **6.** Caverna da Aposta (APO), **7.** Caverna dos Três Lagos (TLG), **8.** Gruta Zé de Juvino (ZJU).

**Tabela 1:** Descrição das localidades e número amostral de *Potiberaba Porakuara* na Formação do calcário Jandaíra. As siglas PCA (Análise de componentes principais) e LDA (Análise Discriminante Linear) correspondem às análises morfológicas e os números amostrais utilizados em cada análise.

Localidades	Caverna do Poço feio	Caverna da Água	Olho d'água da Furna	Caverna dos Troglóbios	Olho d'água do Tetéu	Caverna da Aposta	Caverna dos Três Lagos	Gruta Zé de Juvino
<b>Siglas</b>	PFE	CAG	ODF	TRO	ODT	APO	TLG	ZJU
<b>Latitude</b>	-05° 29' 15"	-05° 29' 43"	-05° 28' 50"	-05° 33' 24"	-05° 34' 02"	-05° 12' 39"	-05° 35' 34"	-05° 32' 30"
<b>Longitude</b>	-37° 33' 33"	-37° 32' 43"	-37° 32' 29"	-37° 39' 40"	-37° 40' 13"	-37° 51' 14"	-37° 41' 12"	-37° 37' 44"
<b>Condição hidrodinâmica</b>	Lótico	Lêntico	Lótico	Lêntico	Lótico	Lêntico	Lêntico	Lêntico
<b>Ação antrópica</b>	Poluição por uso recreativo	Mineração	Mineração, extração vegetal e uso recreativo	Não identificada	Uso recreativo	Mineração	Visitação desordenada, agricultura familiar e captação de água subterrânea	Não identificada
<b>Indivíduos capturados</b>	107	5	176	11	17	44	542	5
<b>Estrutura populacional</b>	52	2	149	6	10	39	438	2
<b>PCA/LDA</b>	55	3	27	5	7	5	104	3



**Figura 3:** Localidades onde exemplares de *Potiberaba porakuara* foram capturados. **A-** Caverna do Poço feio (PFE), **B-** Olho d'água da Furna (ODF), **C-** Caverna dos Troglóbios (TRO), **D-** Olho d'água do Tetéu (ODT), **E-** Caverna da Aposta (APO), **F-** Caverna dos Três Lagos (TLG), **G-** Gruta Zé de Juvino (ZJU). Não foi possível inserir foto da localidade da Caverna da Água (CAG) devido à indisponibilidade da imagem.

## **Extração de dados morfométricos e análises exploratórias**

Com intuito de avaliar a eficácia do processo de fixação e realizar análises exploratórias, uma fração destes indivíduos foi utilizada para elaboração deste relatório. O fracionamento da amostra foi justificado com base em relatos prévios indicando que o método adotado anteriormente por Rocha (2021) levaria ao clareamento das estruturas, comprometendo a observação de características qualitativas e quantitativas. Assim, alguns dos parâmetros utilizados na fixação foram ajustados, comprovando a efetividade do mesmo.

Dessa forma, foram utilizadas 209 lâminas de *P. porakuara* contendo as estruturas dissecadas de indivíduos de todas as cavernas (Tabela 1). As estruturas foram mensuradas sob estereomicroscópio com altura padronizada entre a lente e as lâminas, utilizando o software BellCapture na função de medida. Ao total, foram mensuradas 295 variáveis, excluindo após o VIF (Fator de Inflação da Variável) todas que apresentaram valores  $\geq 3,0$ .

Além das variáveis bióticas, variáveis abióticas foram coletadas, sendo elas: Temperatura (°C), pH, ORP = Potencial de oxirredução, Condutividade, Turbidez, DO = Oxigênio dissolvido, TDS = Sólidos totais dissolvidos, Salinidade, PT = Fósforo total da água, TN = Nitrogênio total da água, TIC = Carbono inorgânico da água, TC = Carbono total da água, TOC = Carbono orgânico da água, OM = Matéria orgânica do sedimento.

Para avaliar quais variáveis discriminam os grupos, os dados passaram por uma Análise Discriminante Linear (LDA), seguido de uma Análise de Variação Canônica (CVA), de onde foi extraída uma matriz de confusão, buscando assim, validar ou não os agrupamentos observados inicialmente na PCA. Os softwares utilizados nas análises foram: Past versão 4.14 e Rstudio versão 3.10.5.

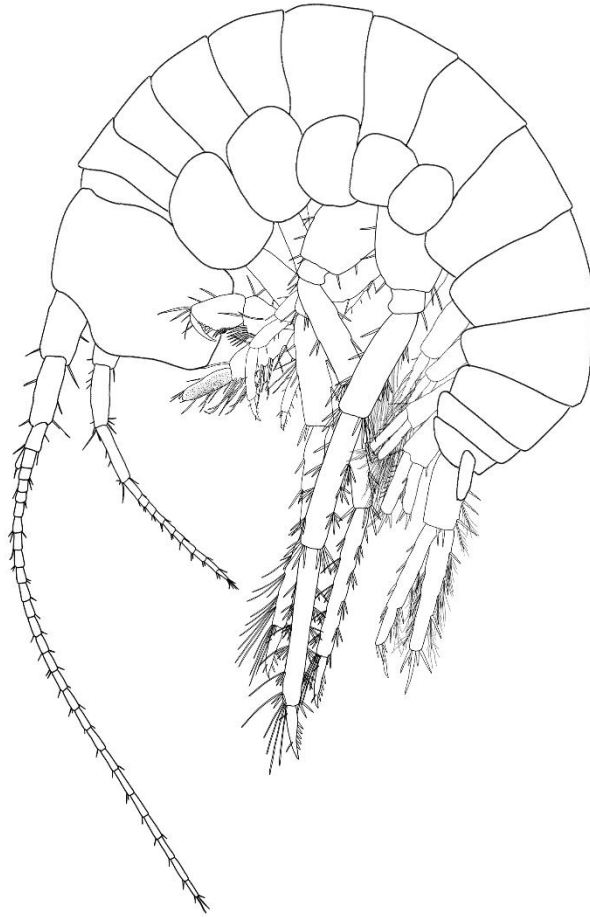
Para a visualização dos morfotipos, foram capturadas fotos de estruturas como o aparelho bucal, antenas, gnatópodes e urópodes sob microscópio, utilizando o software BEL Capture. Para a tratamento e ilustração dessas imagens, foram empregados os softwares Krita (versão 5.2.3) e Adobe Photoshop (versão 23.1.1), garantindo uma visualização clara dos elementos morfológicos observados.

As coletas de espécimes exclusivamente para este estudo ocorreram conforme a licença SISBIO 54334. Exemplares adicionais, depositados no Centro de Estudos em Biologia Subterrânea (CEBS/UFLA) também foram utilizados. Assim, as análises que embasaram este estudo utilizaram exemplares coletados entre 2013 e 2023.

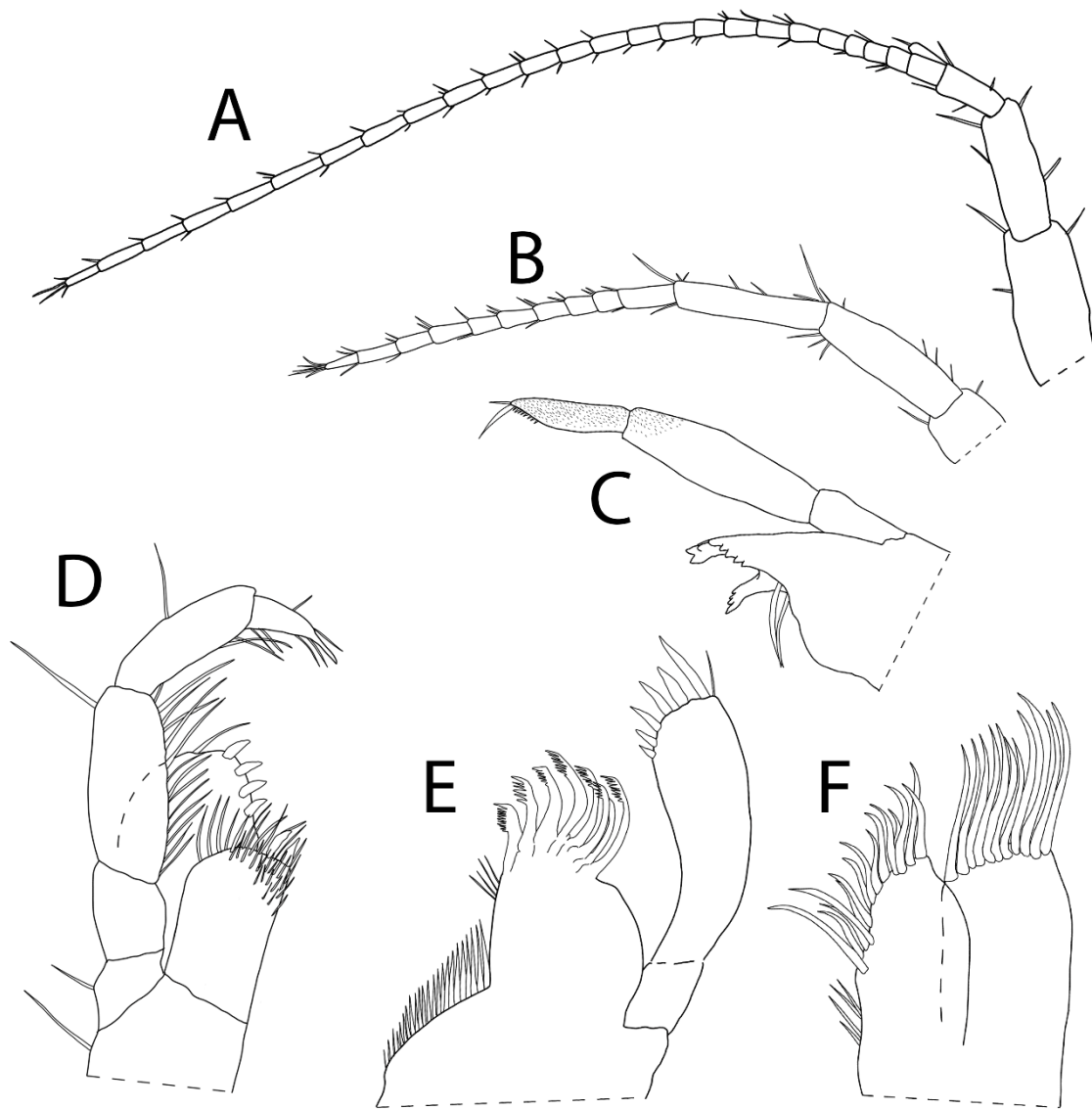
## Resultados

### Ilustrações dos morfotipos de *Potiberaba porakuara*

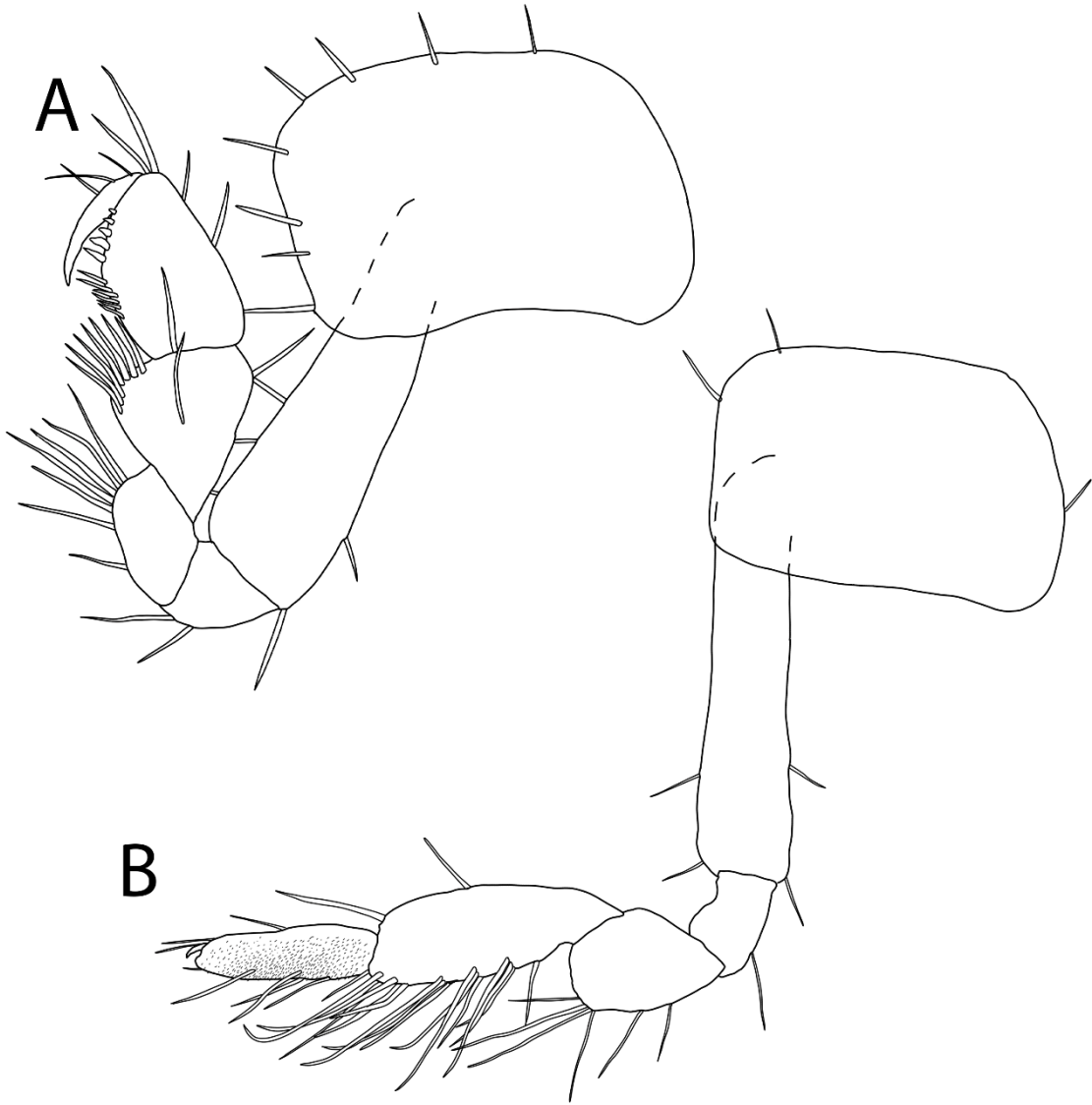
#### Caverna do Poço feio



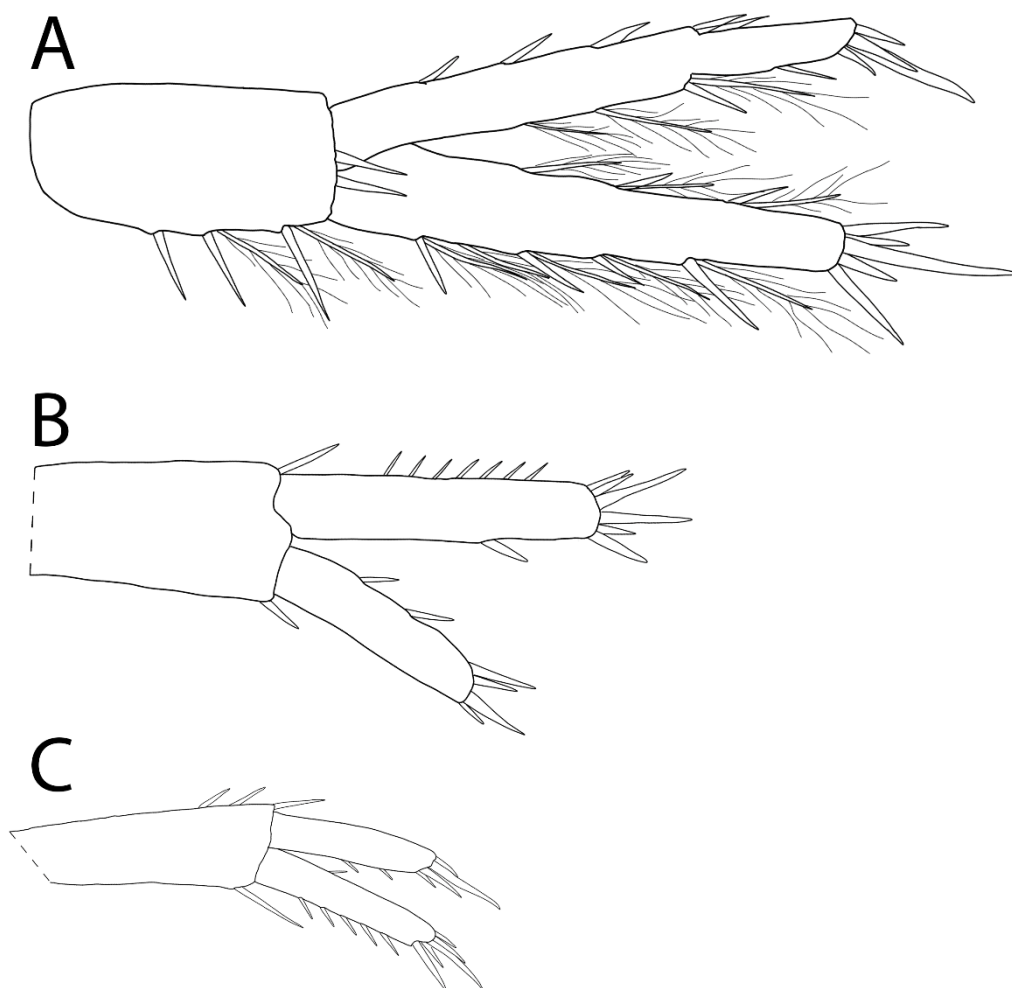
**Figura 4:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio.



**Figura 5:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Mandíbula, **D-** Maxilípede esquerdo, **E-** Maxilla I e **F-** Maxilla II.



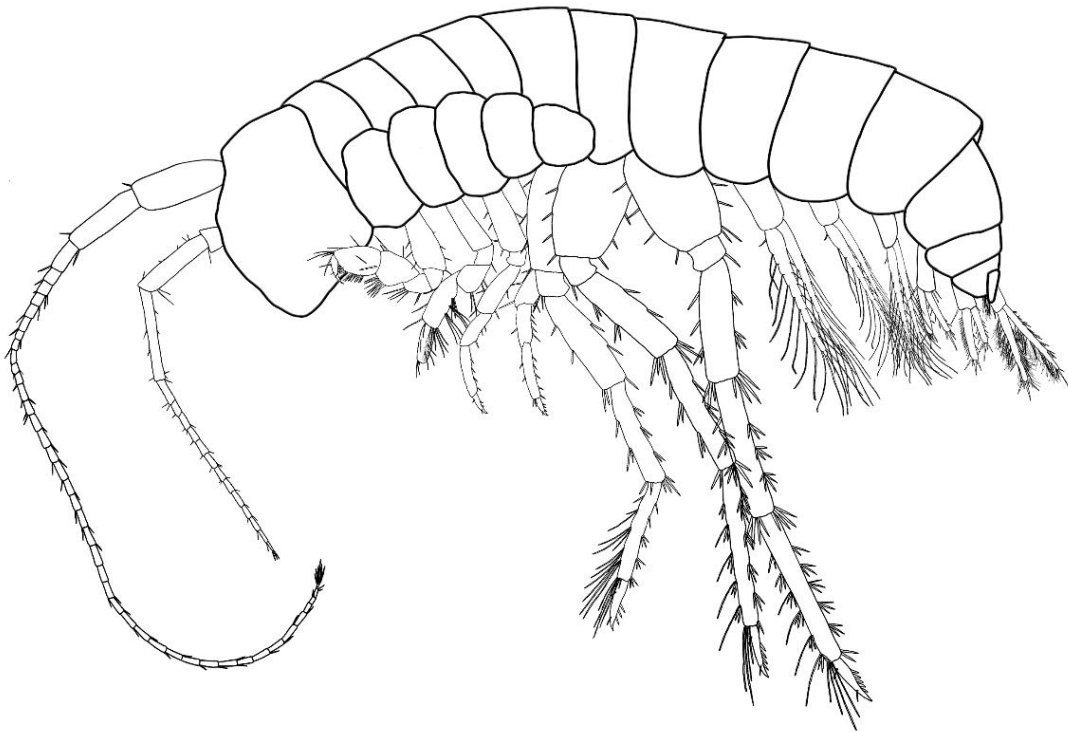
**Figura 6:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.



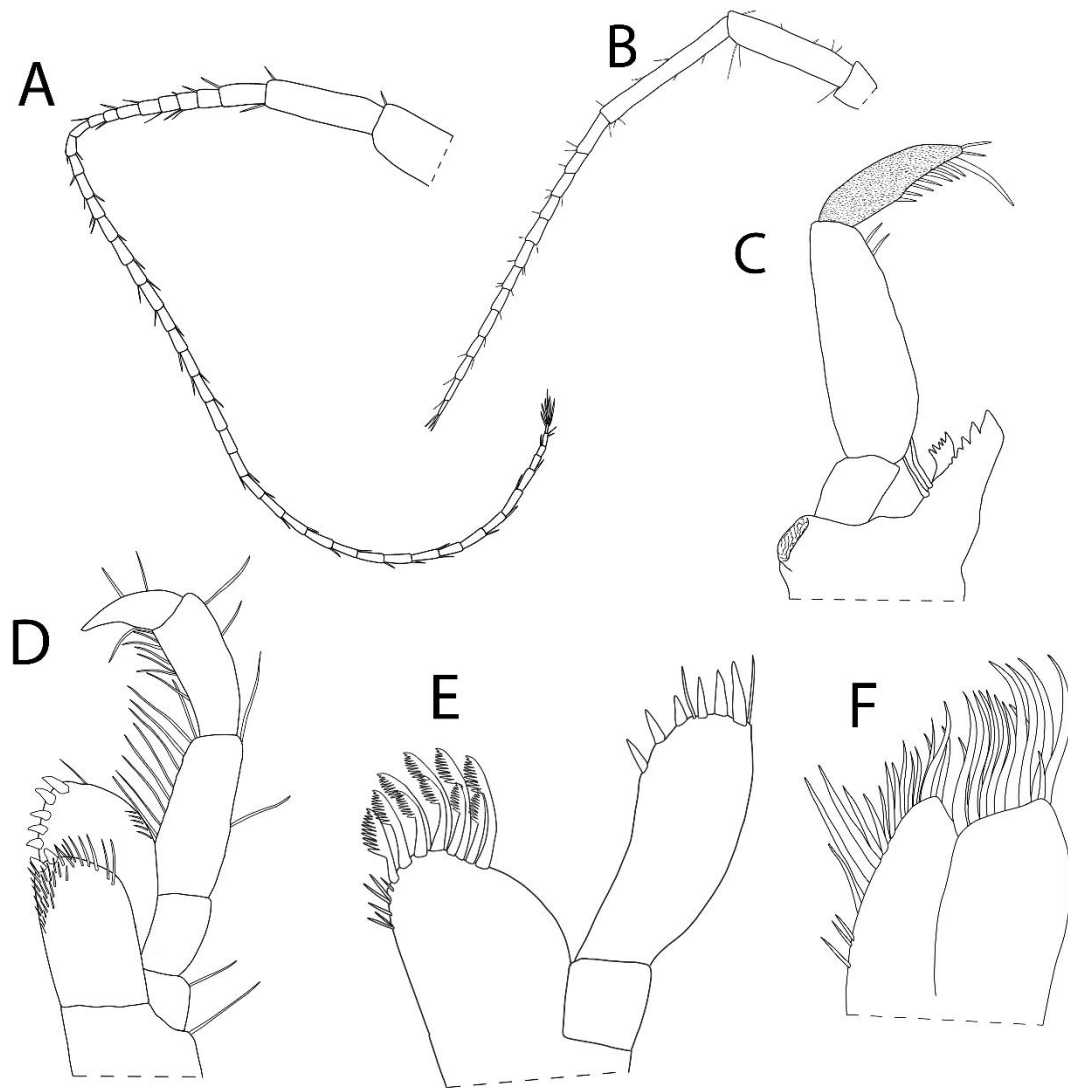
**Figura 7:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna do Poço feio. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.



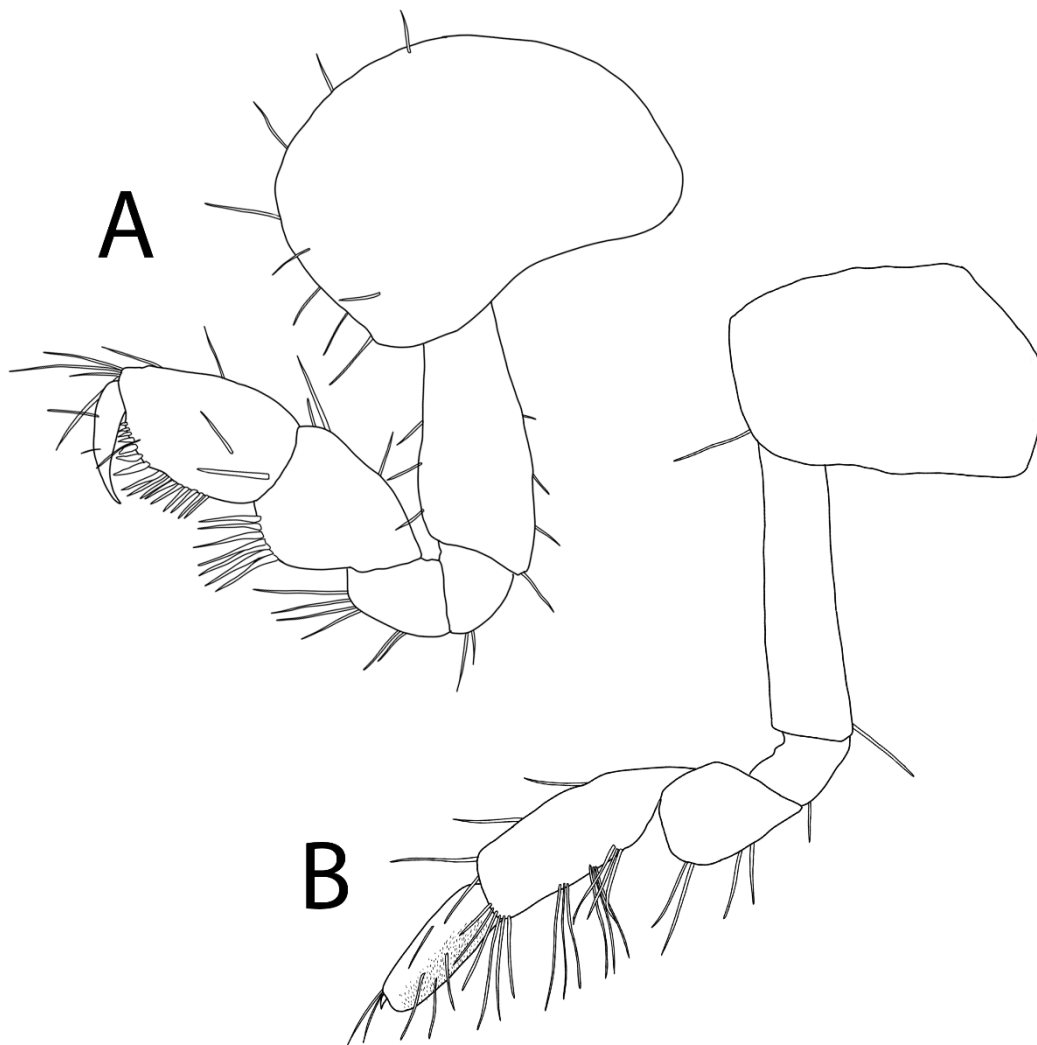
## Caverna da Água



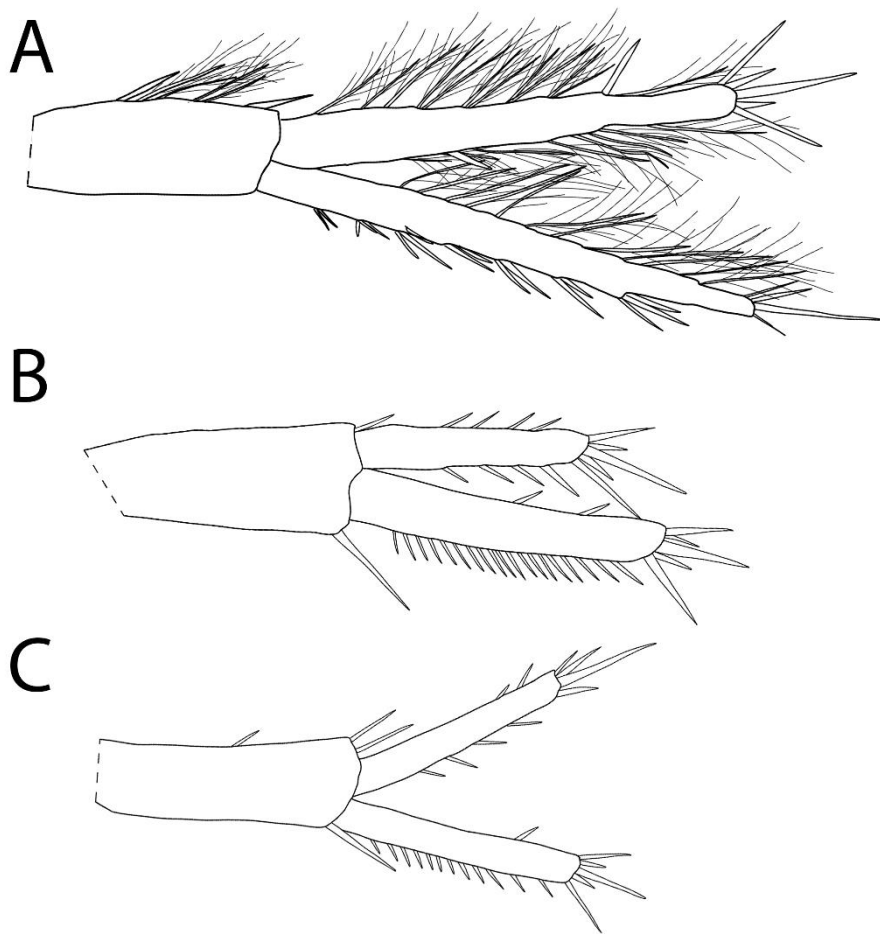
**Figura 8:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna da Água.



**Figura 9:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna da Água. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Mandíbula, **D-** Maxilípede direito, **E-** Maxilla I e **F-** Maxilla II.

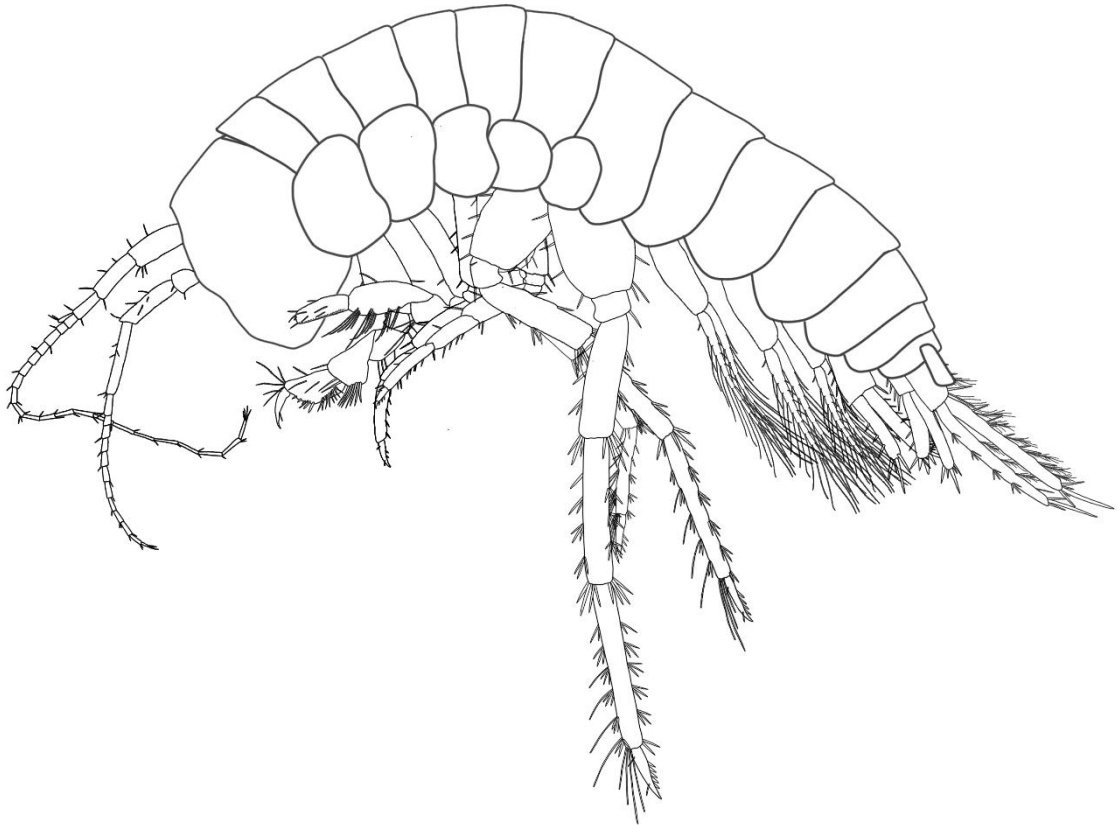


**Figura 10:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Caverna da Água. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

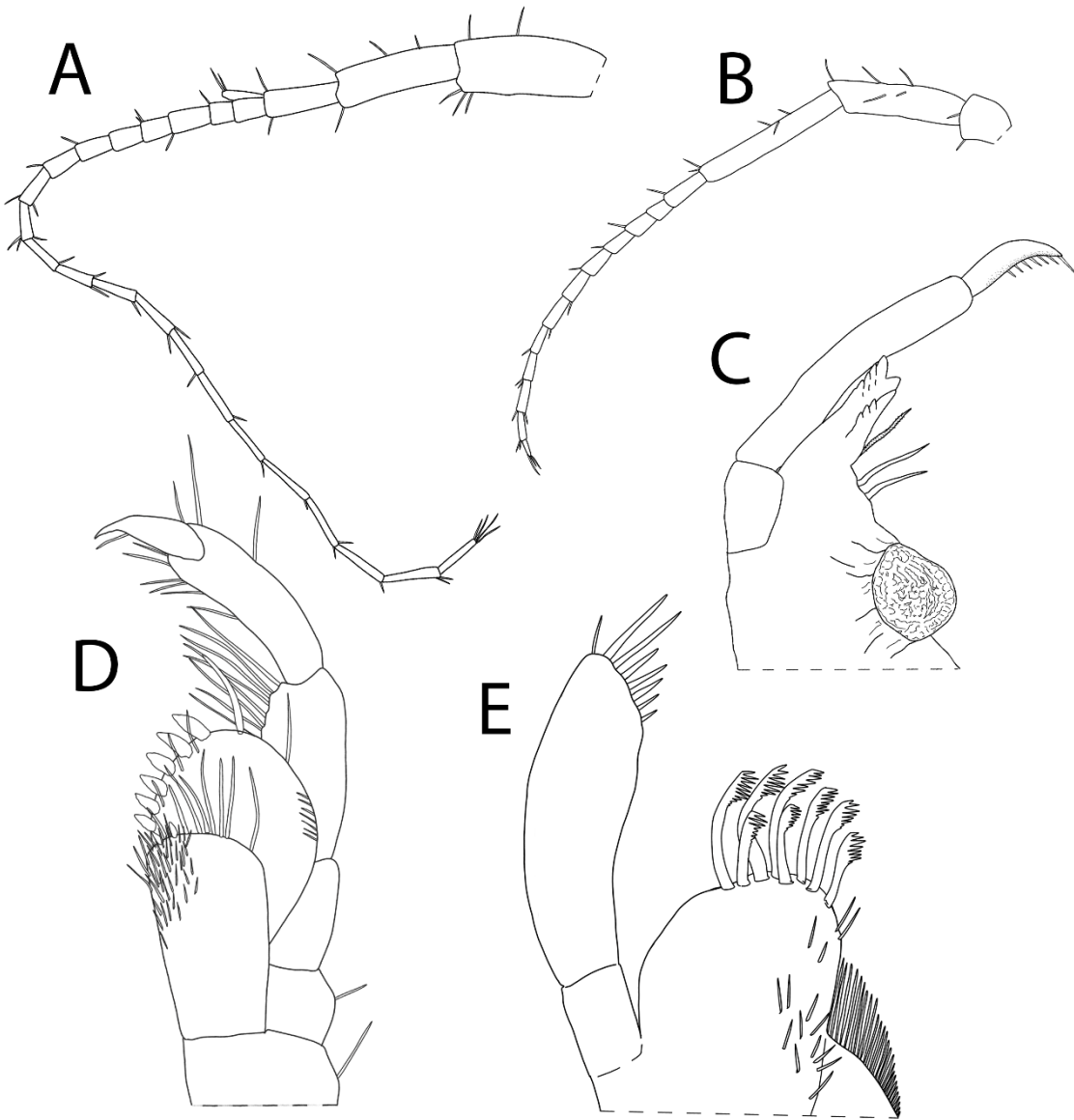


**Figura 11:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna da Água. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

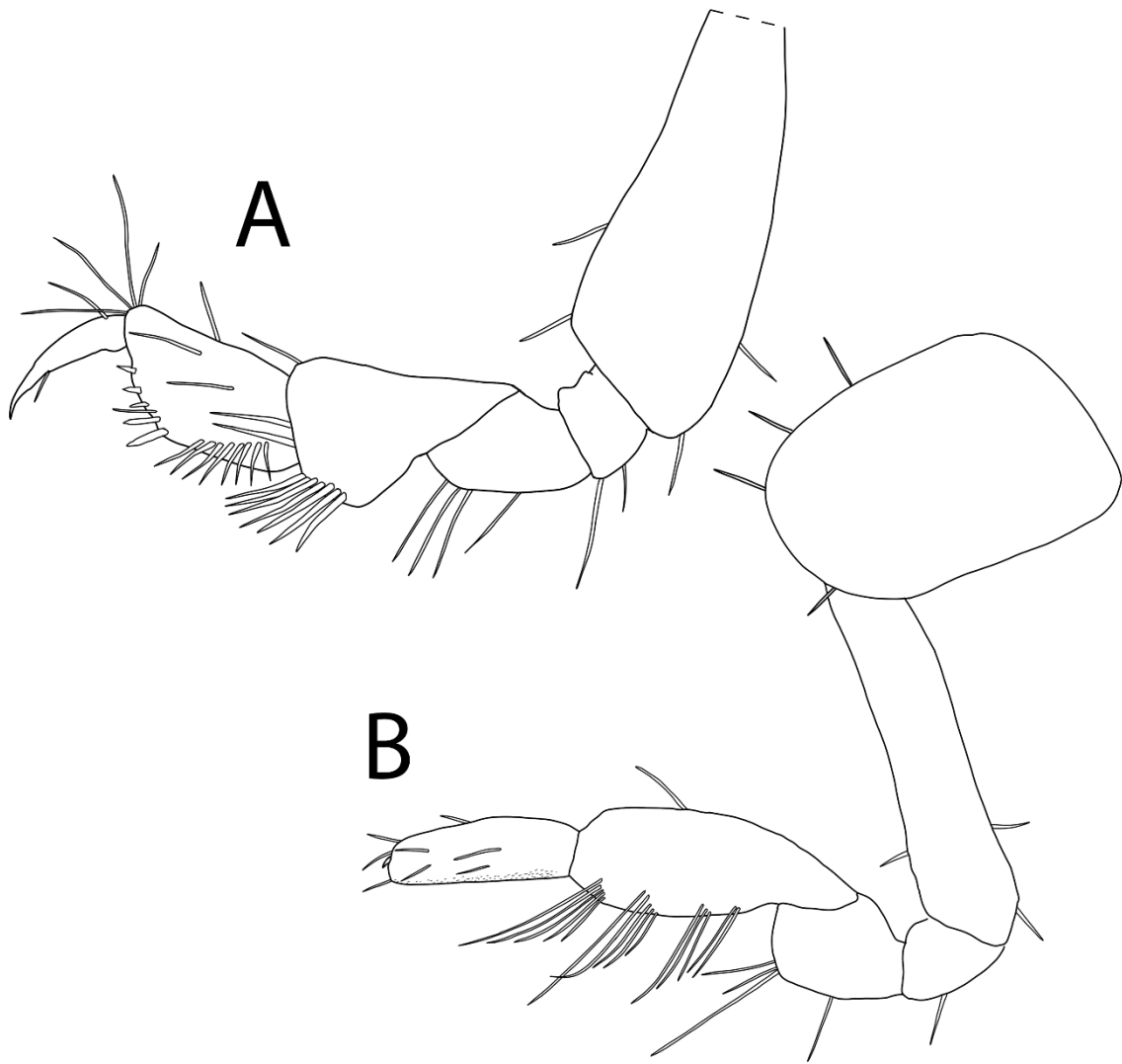
## Olho d'água da Furna



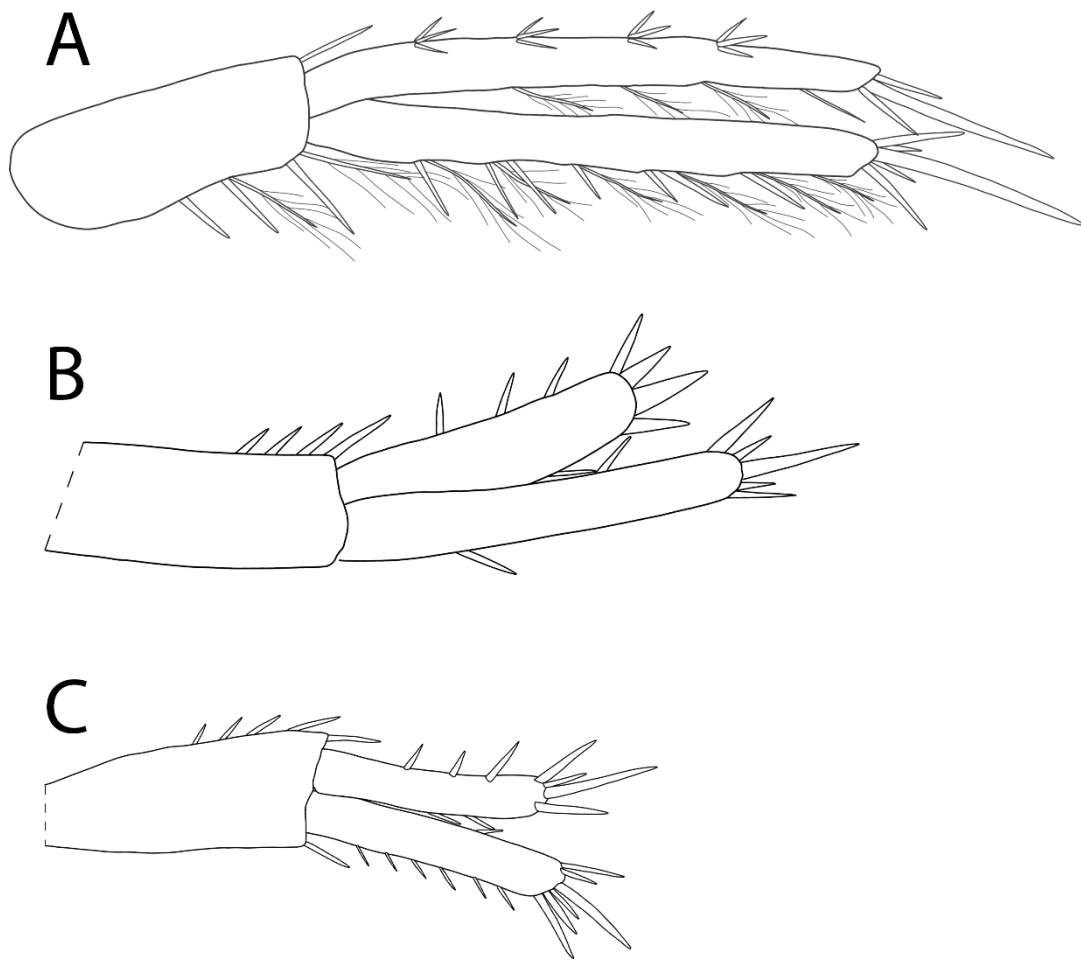
**Figura 12:** Ilustração de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna.



**Figura 13:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna. A- Maxilípede esquerdo e direito, B- Maxilla I, C- Mandíbula.



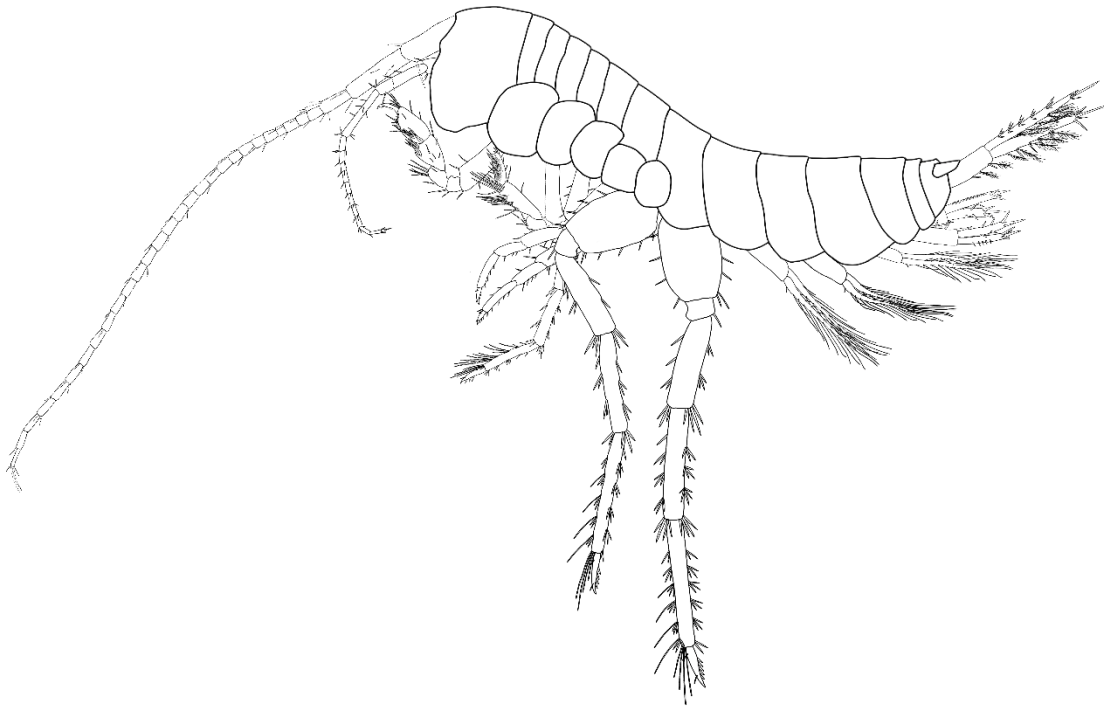
**Figura 14:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.



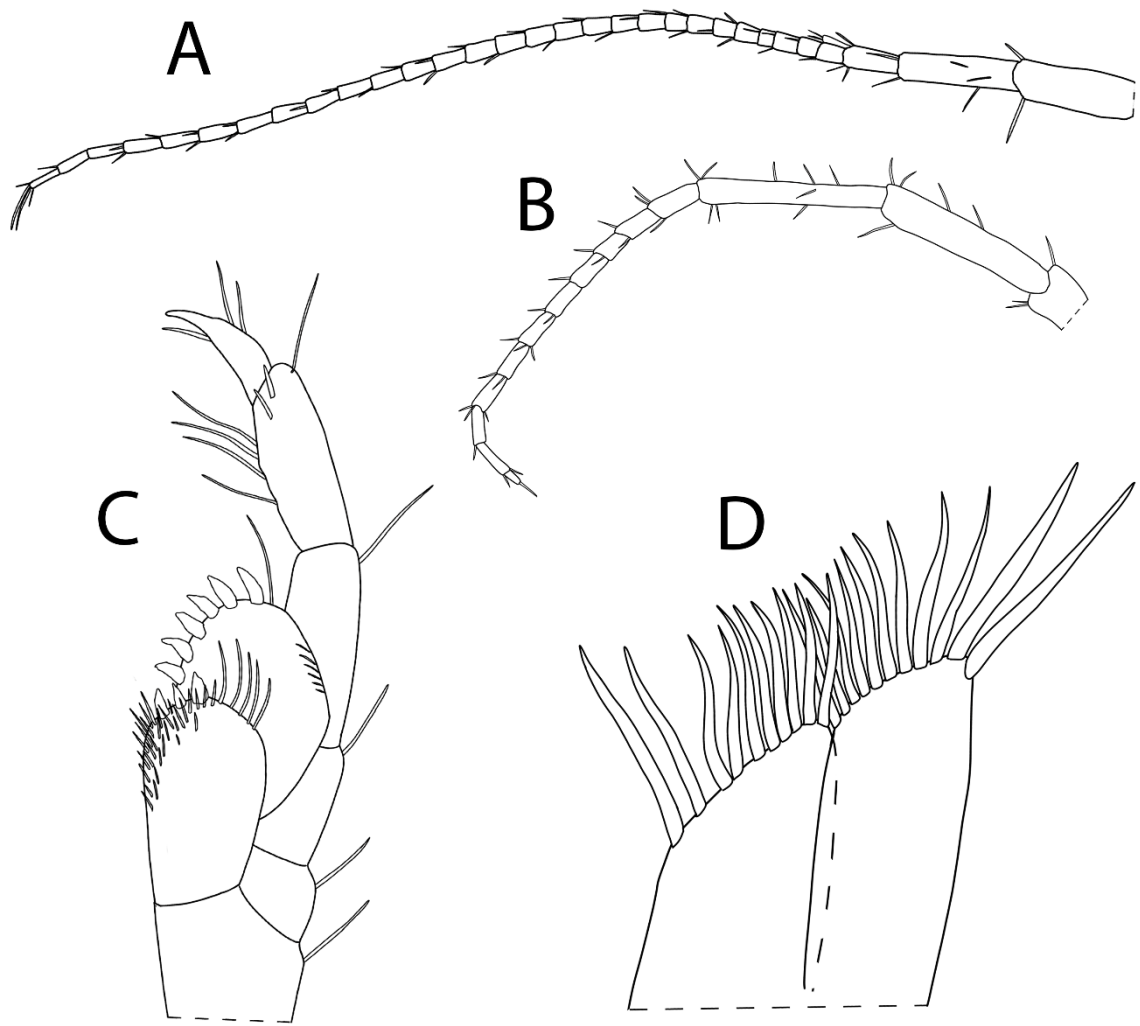
**Figura 15:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Olho d'água da Furna. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.



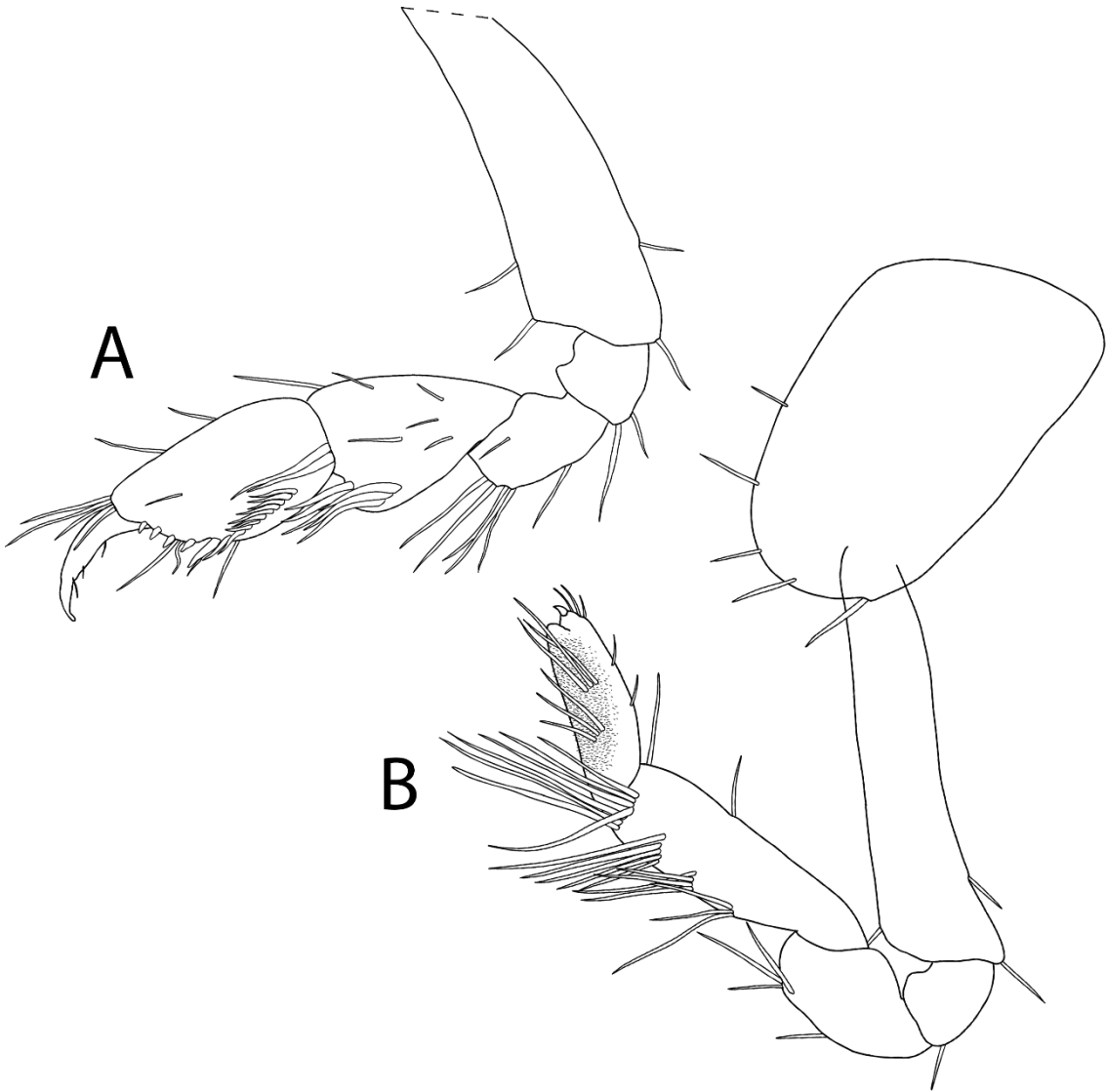
## Caverna dos Troglóbios



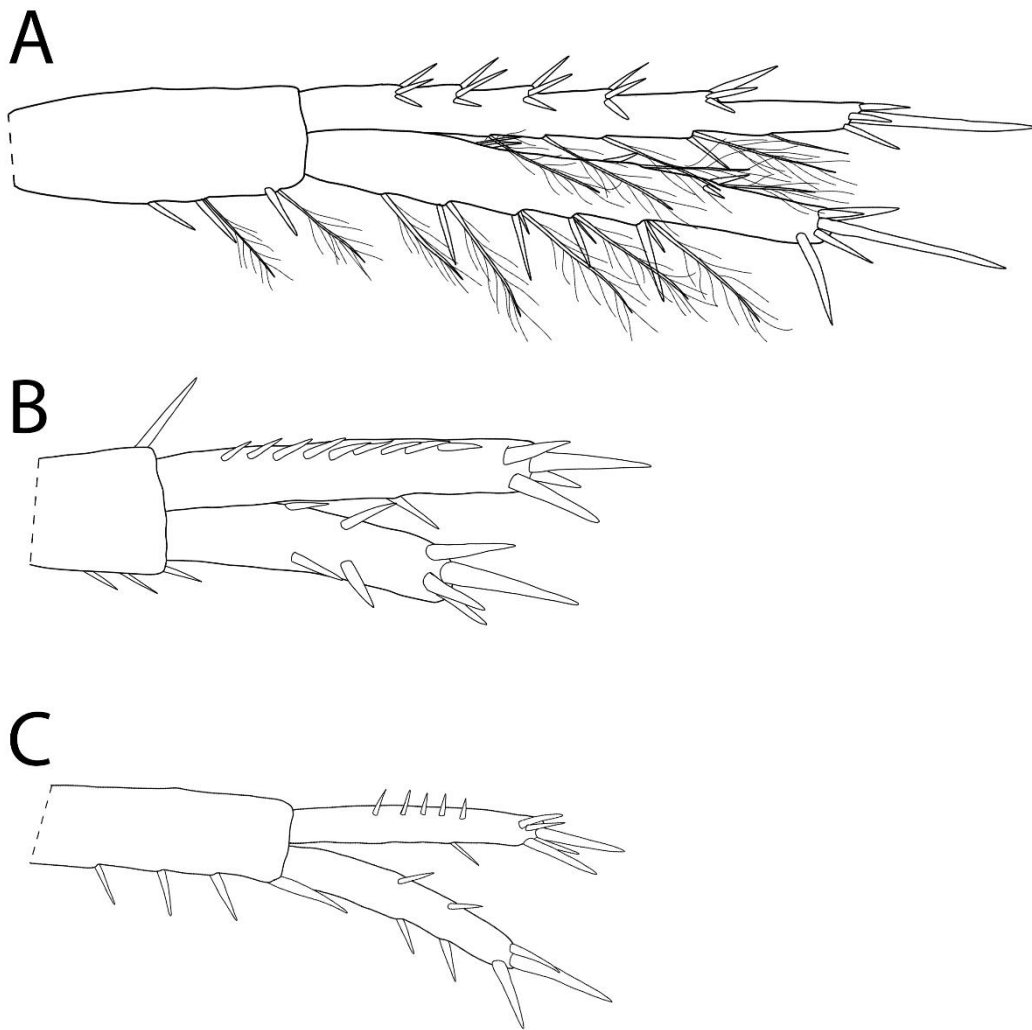
**Figura 16:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna dos Troglóbios.



**Figura 17:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna dos Troglóbios. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Maxilípede direito e **D-** Maxilla II.

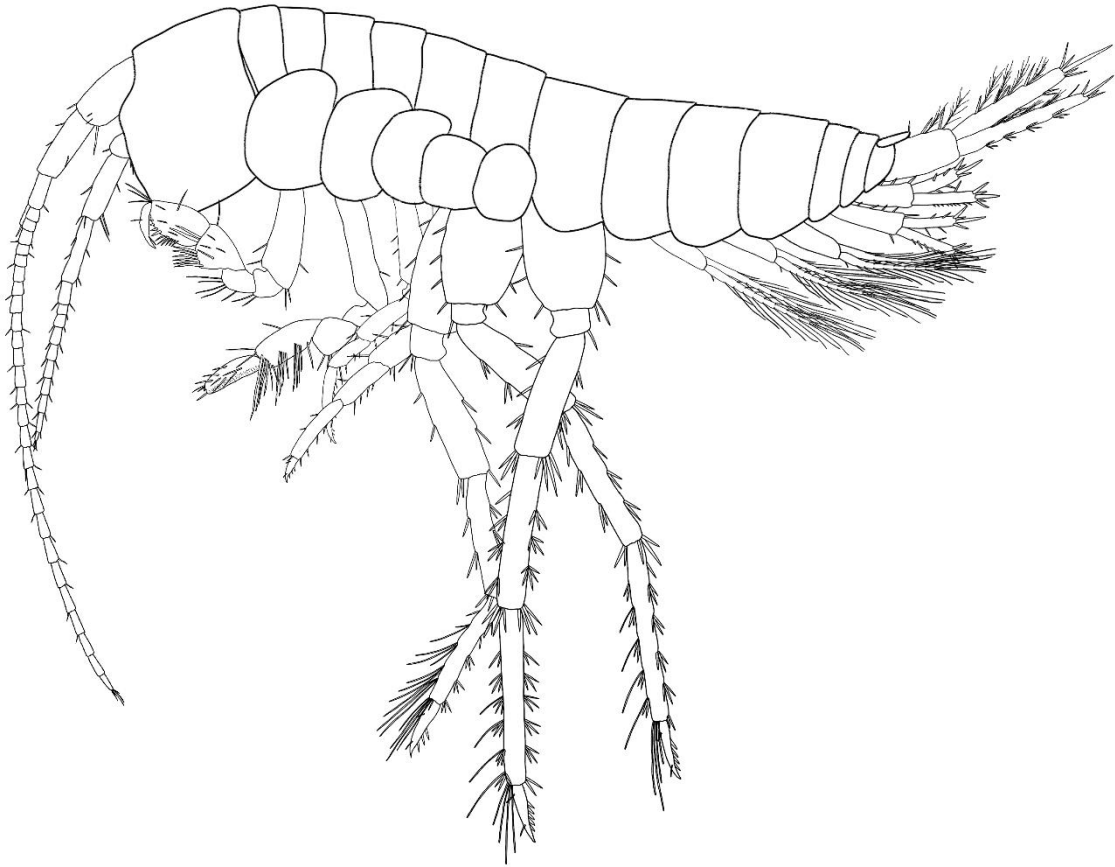


**Figura 18:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Cavernas dos Troglóbios. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

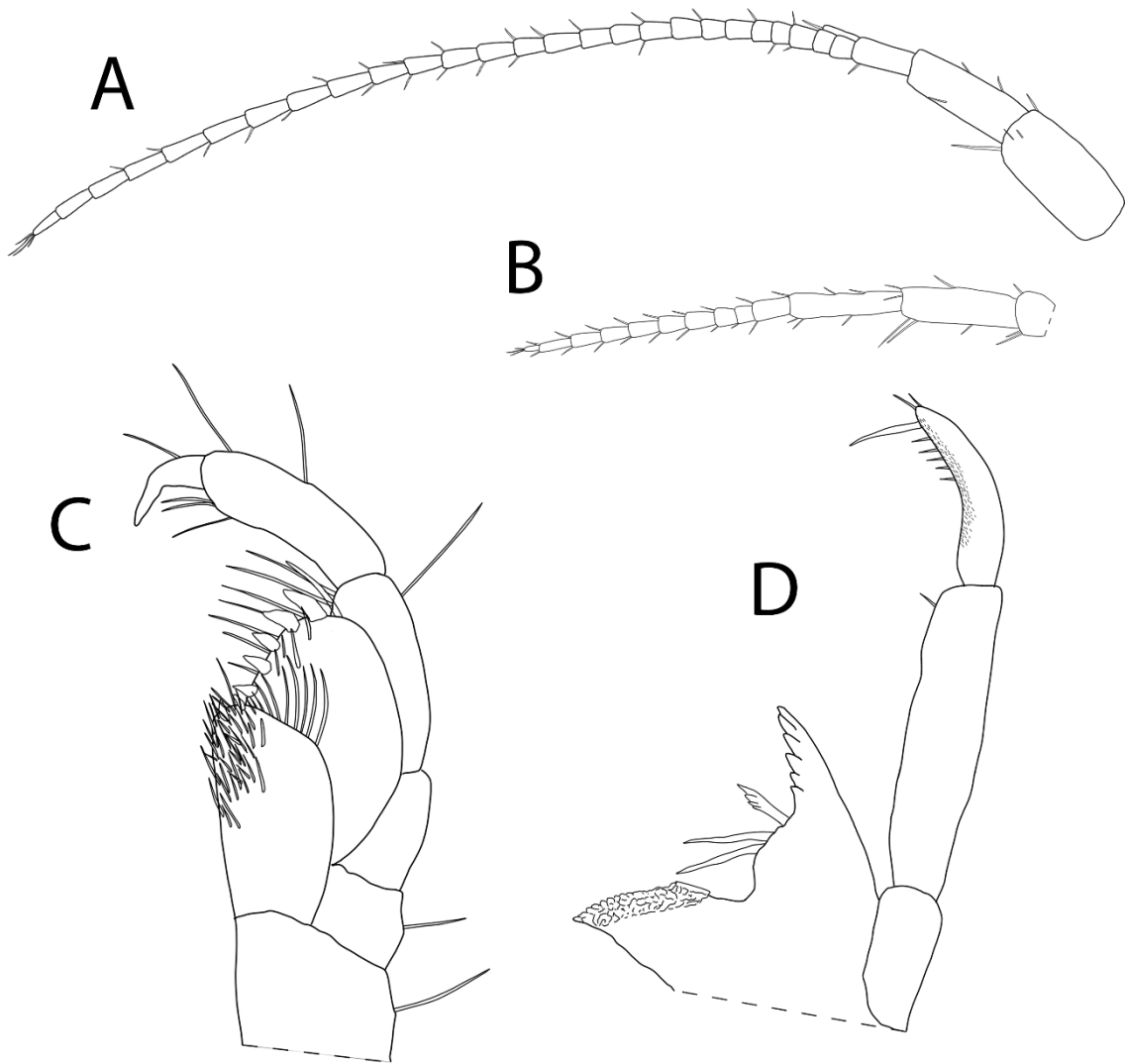


**Figura 19:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna dos Troglóbios. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

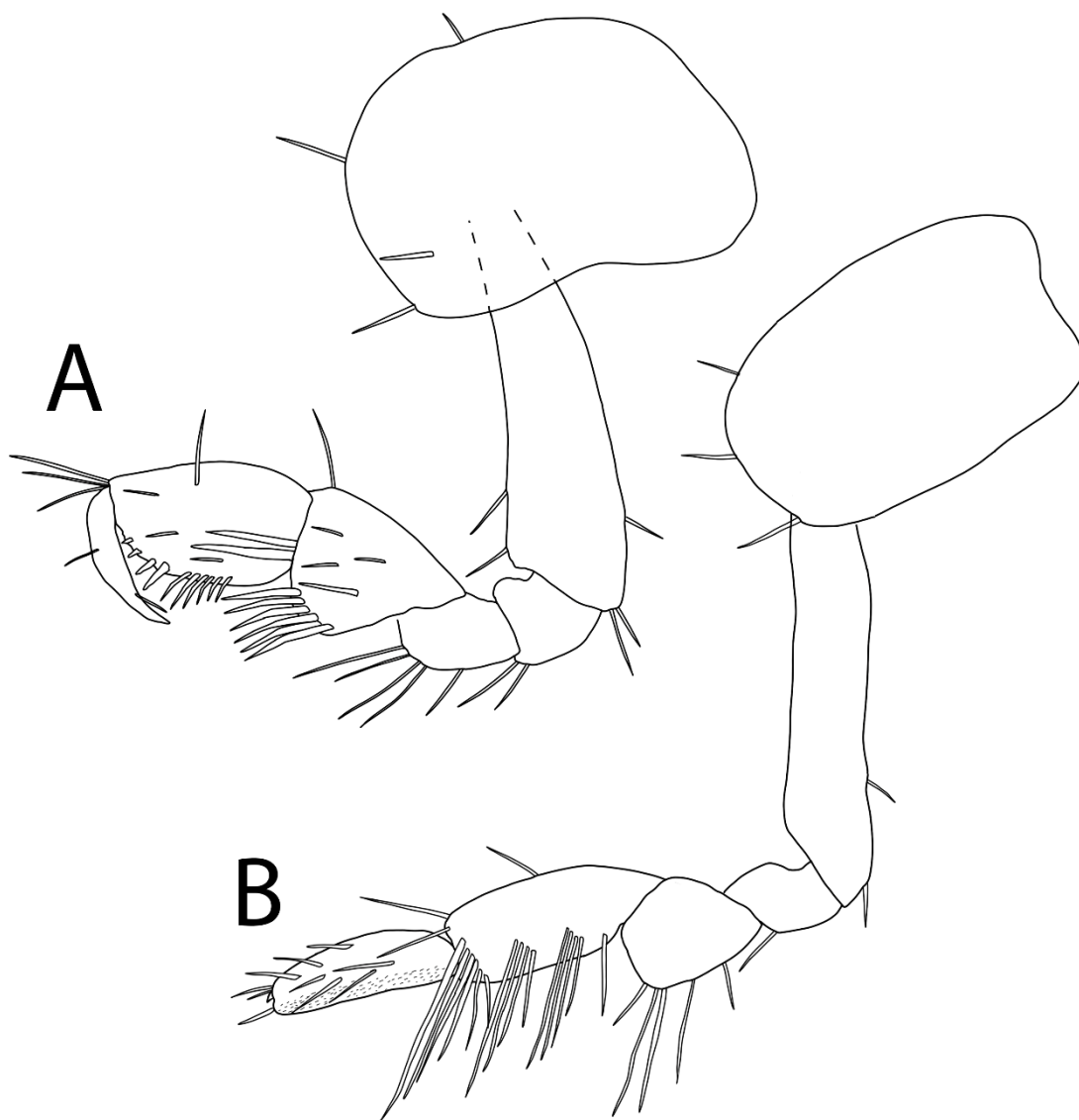
## Olho d'água do Tetéu



**Figura 20: Ilustração de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu.**



**Figura 21:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Maxilípede direita e **D-** Mandíbula.



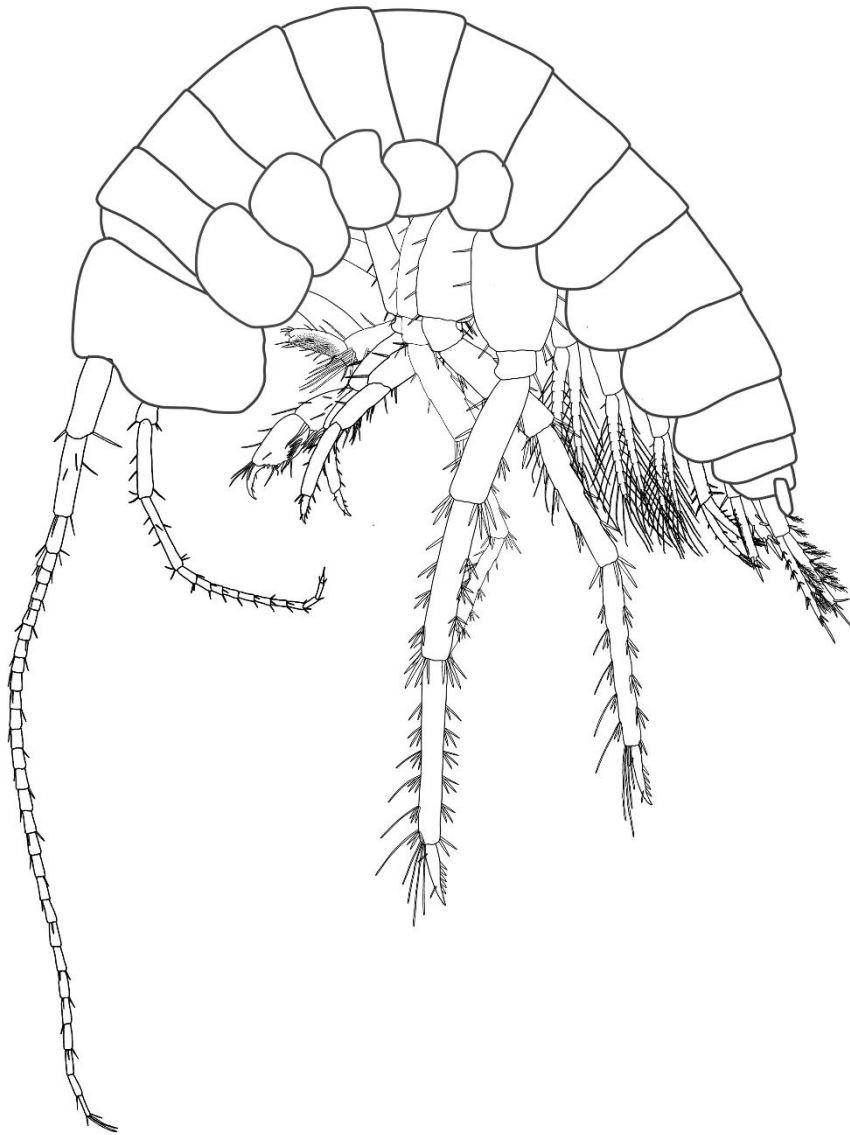
**Figura 22:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.



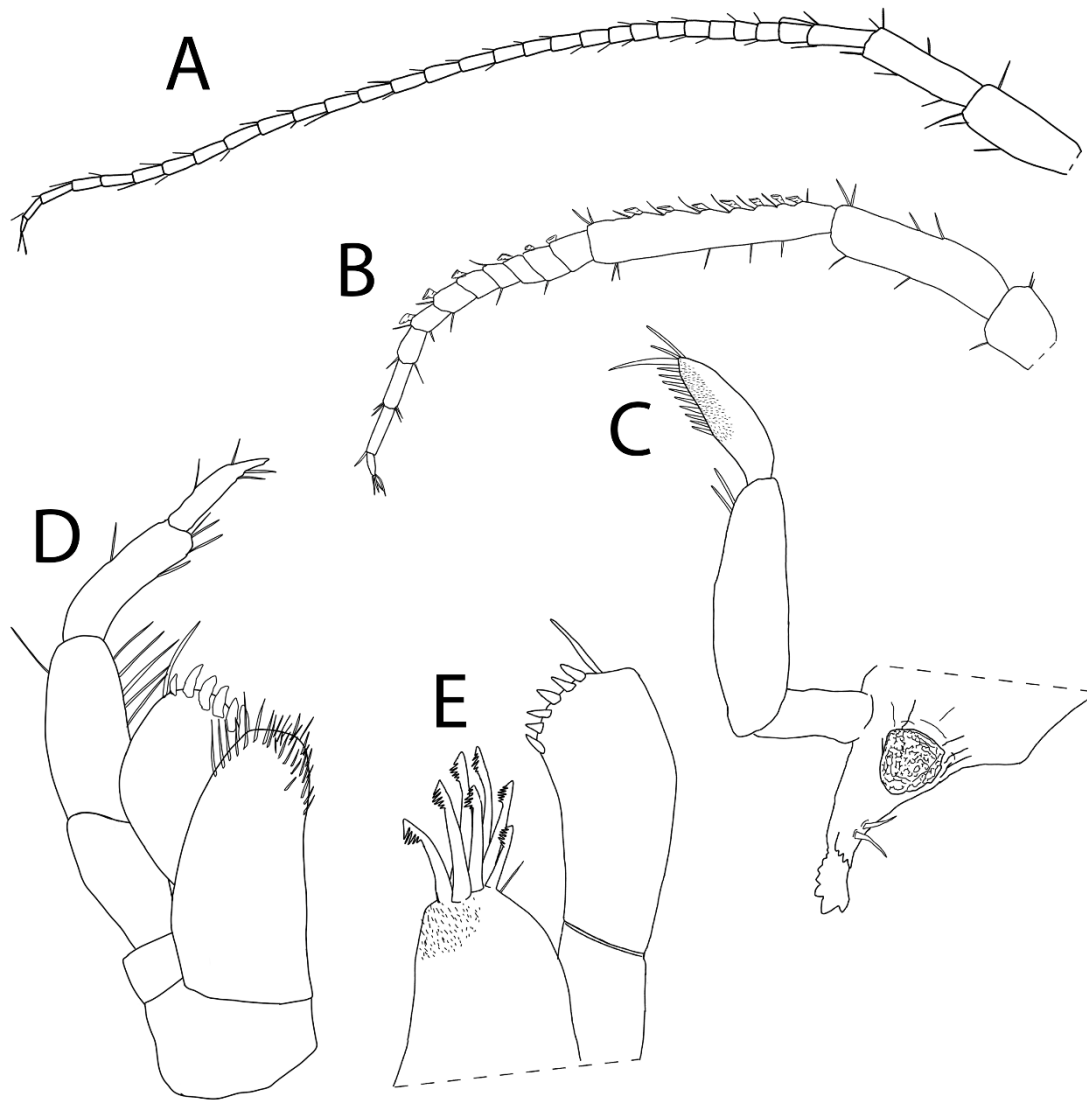
**Figura 23:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* do Olho d'água do Tetéu. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.



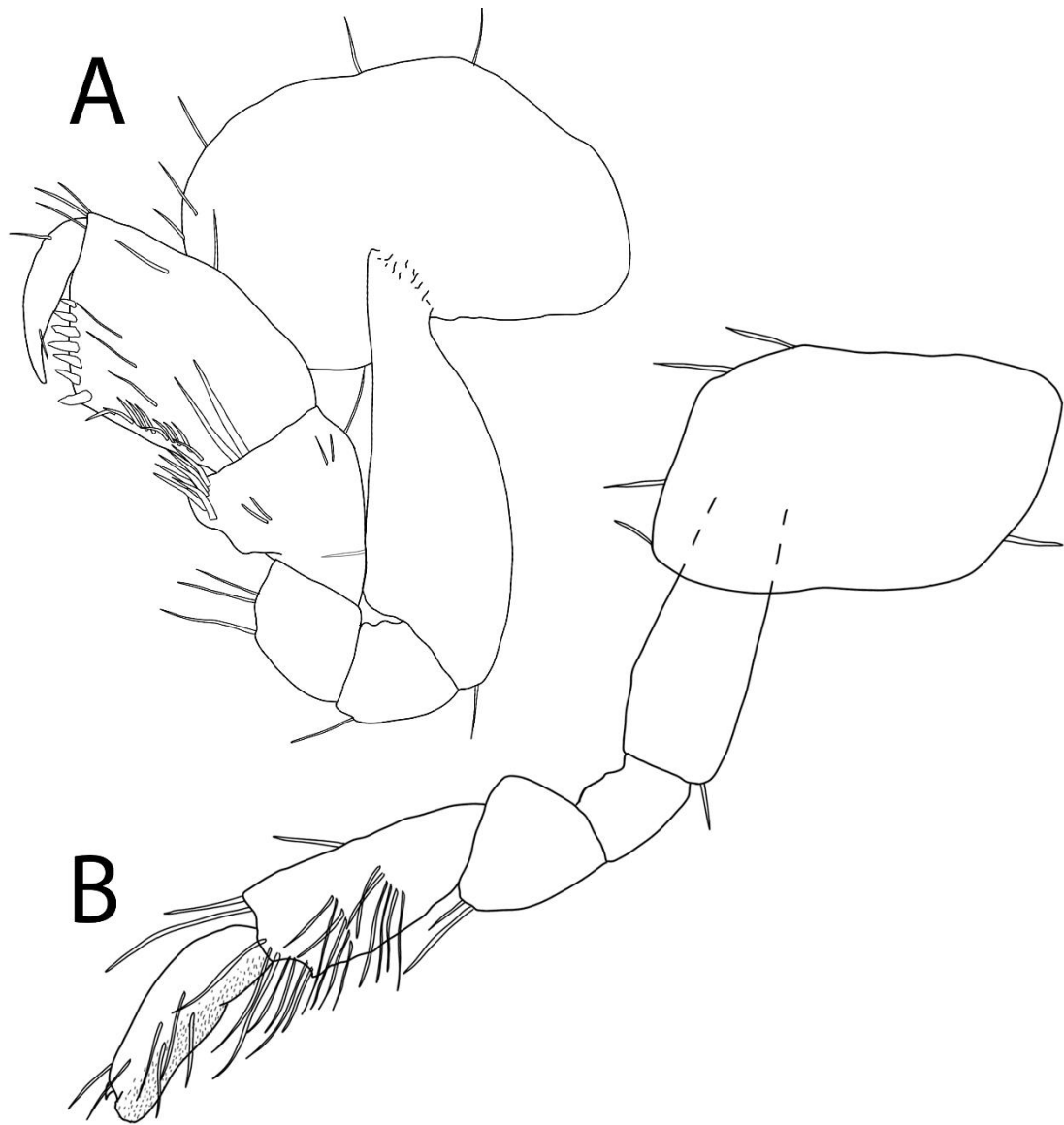
## Caverna da Aposta



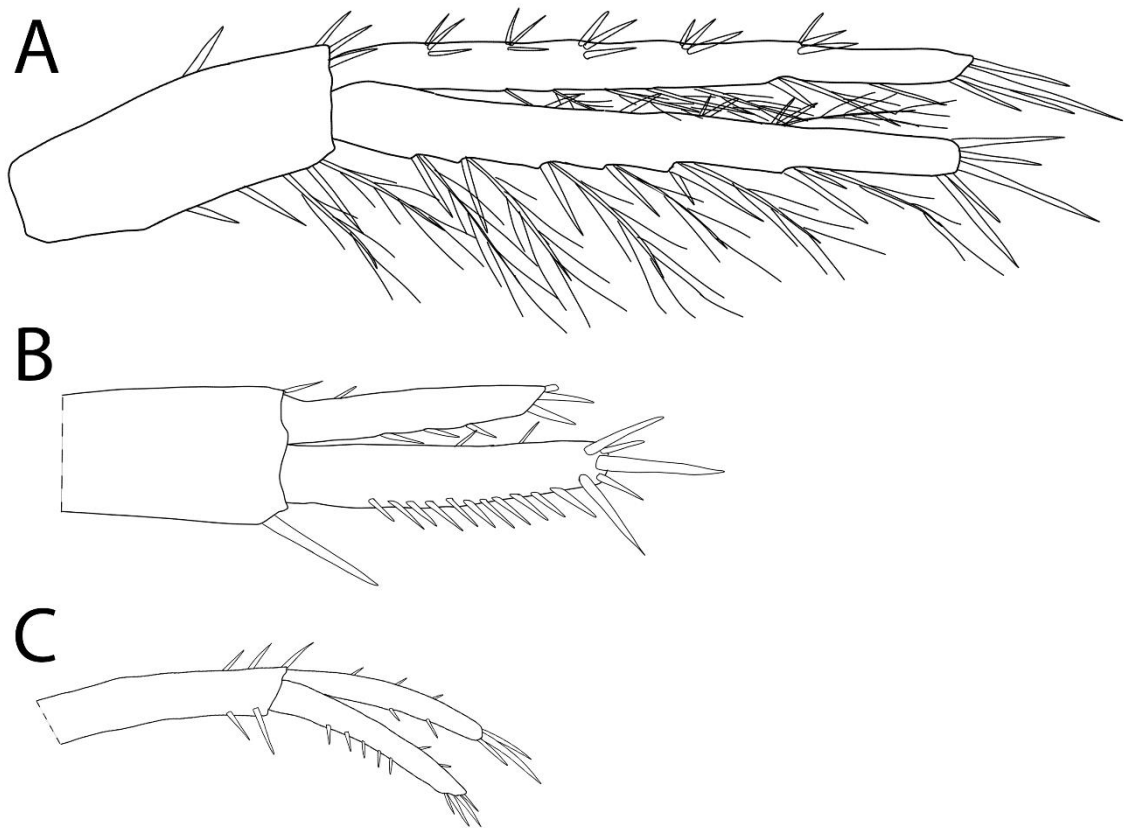
**Figura 24:** Ilustração de *P. porakuara* da Caverna da Aposta.



**Figura 25:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da Caverna da Aposta. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Mandíbula, **D-** Maxilípede esquerdo e **E-** Maxilla I.

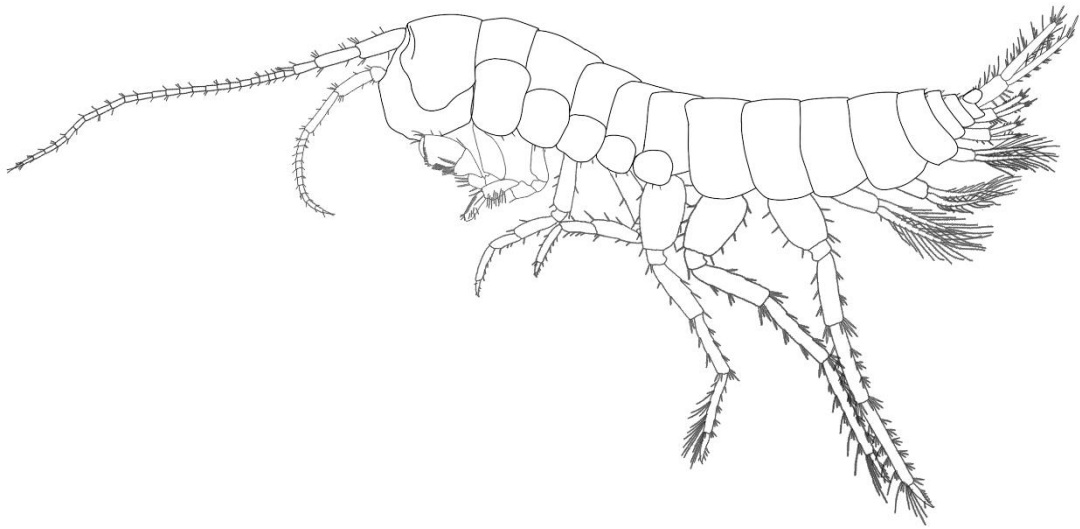


**Figura 26:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da Caverna da Aposta. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

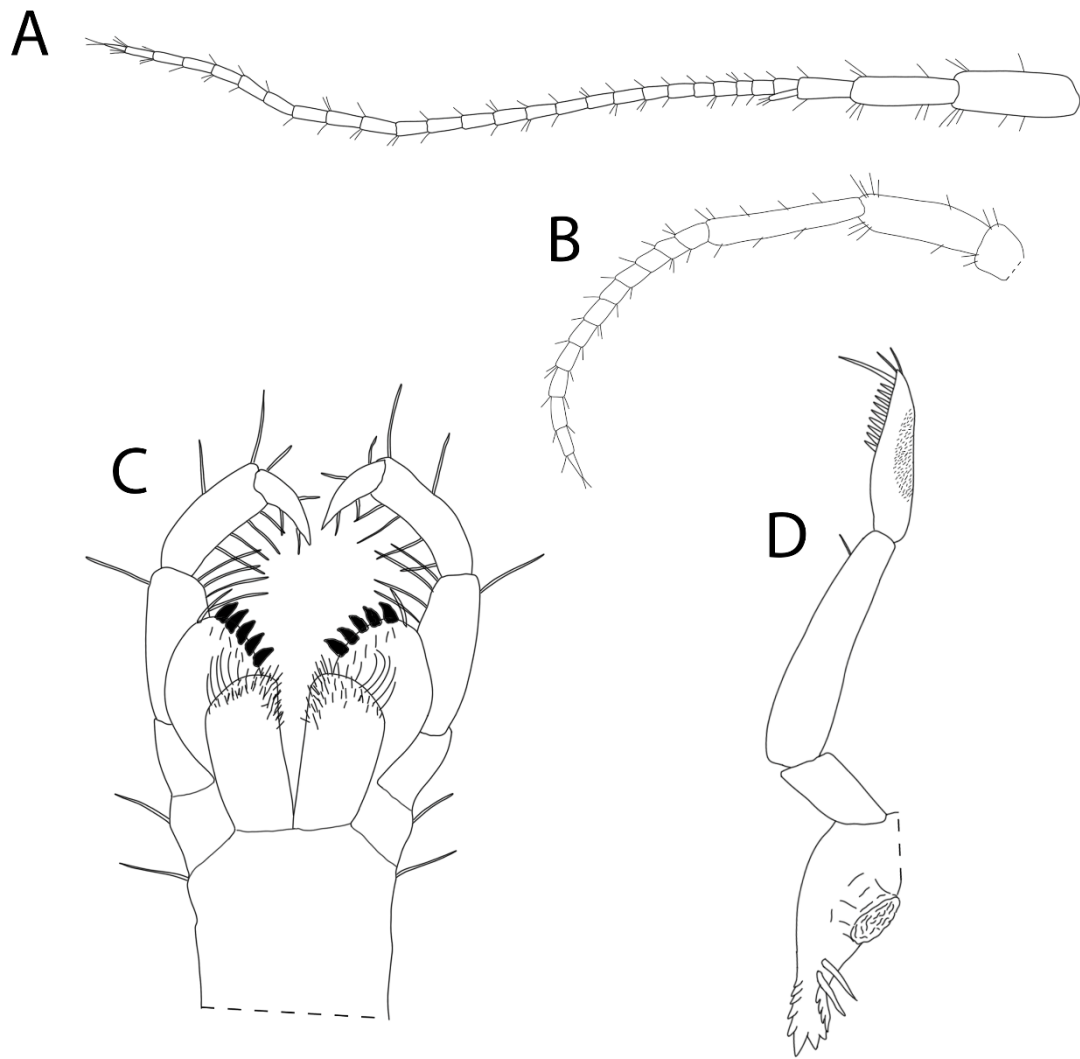


**Figura 27:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da Caverna da Aposta. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

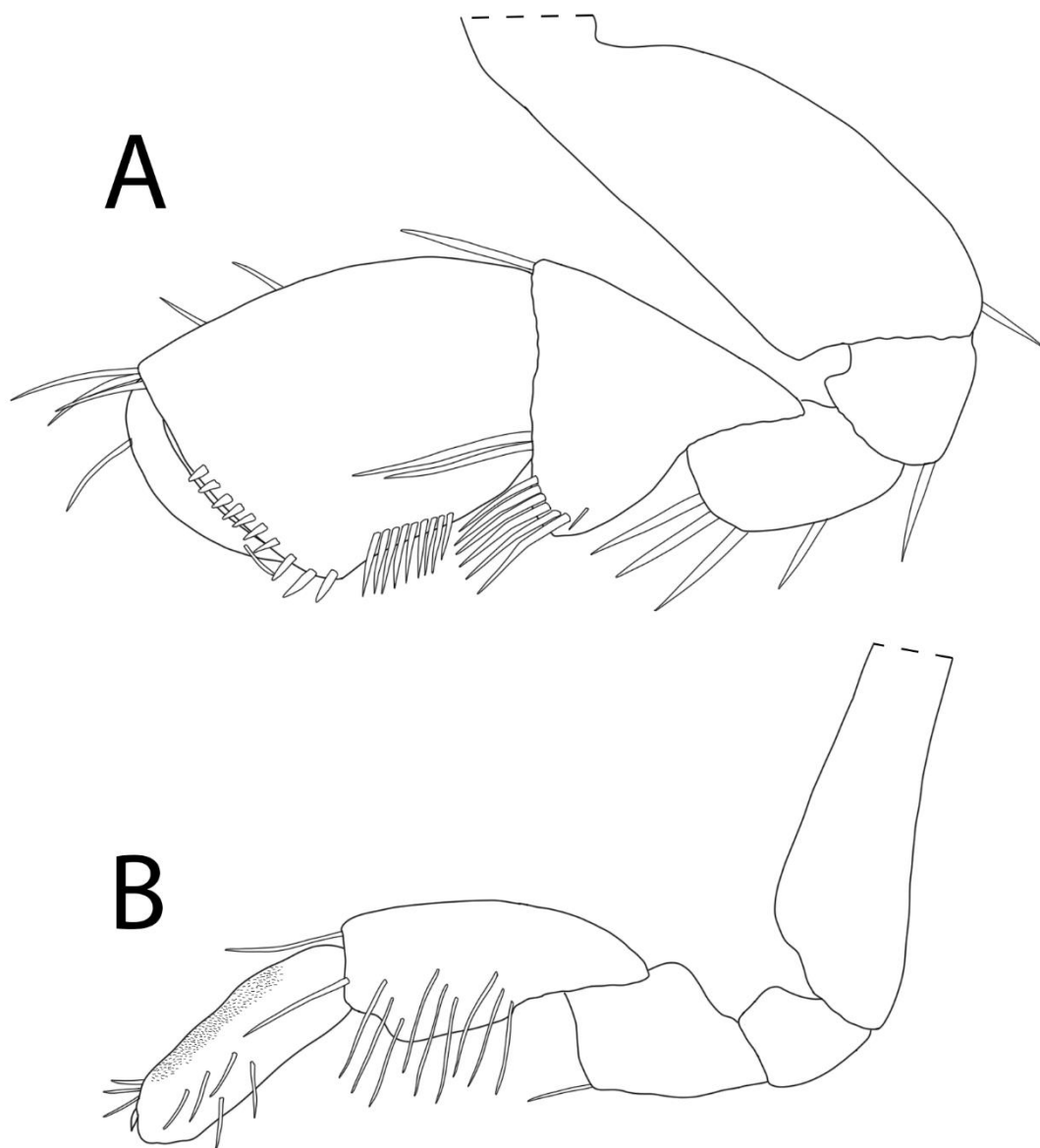
## Caverna dos Três lagos



**Figura 28:** Ilustração de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos.



**Figura 30:** Ilustrações das antenas e peças bucais de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos. **A-** Antena I, **B-** Antena II, **C-** Maxilípede esquerdo e direito e **D-** Mandíbula.



**Figura 31:** Ilustrações dos gnatópodes I e II de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos. **A-** Gnatópode I e **B-** Gnatópode II.

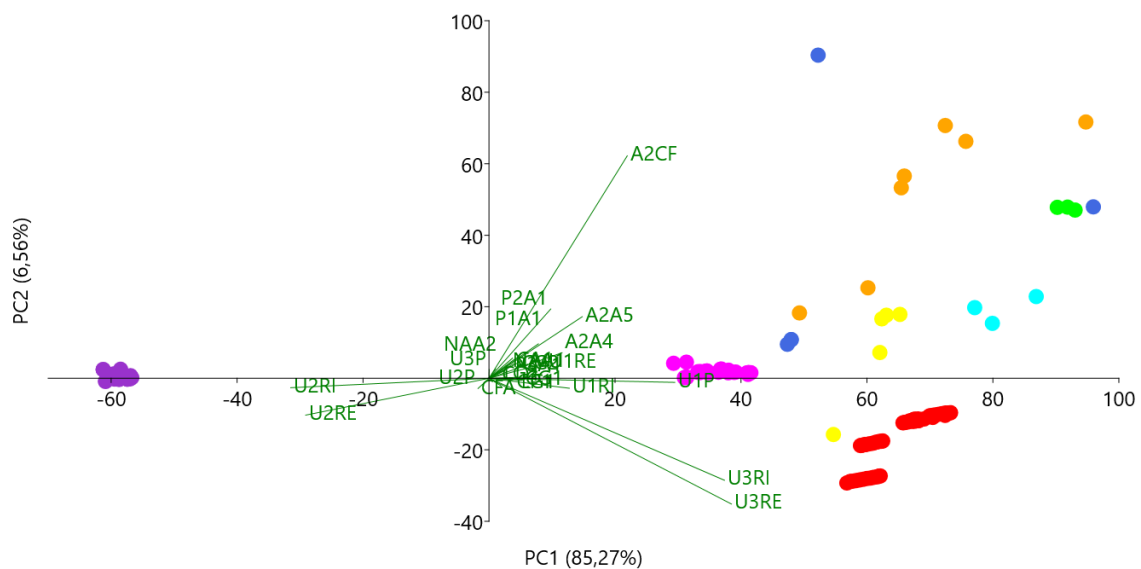


**Figura 32:** Ilustrações dos urópodes de *P. porakuara* da caverna dos Três lagos. **A-** Urópode I, **B-** Urópode II e **C-** Urópode III.

Foram extraídas 295 variáveis morfológicas dos espécimes selecionados para as análises exploratórias. Após o VIF (Fator de inflação da variável), 25 permaneceram para análise. São elas: P1A1 = Comprimento do pedúnculo I da antena I, P2A1 = Comprimento do pedúnculo II da antena I, P3A1 = Comprimento do pedúnculo III da antena I, CFA = Comprimento do flagelo acessório, CA1 = Comprimento da antena I, NAA1 = Número de artículos da antena I, NAA2 = Número de artículos da antena II, A2A4 = Comprimento do artículo IV da antena II, A2A5 = Comprimento do artículo V da antena II, A2CF = Comprimento total da antena II, CG1 = Comprimento do gnatópode I, LG1 = Largura do gnatópode I, CD1 = Comprimento do dácilo do gnatópode I, CP1 = Comprimento do própodo do gnatópode I, CG2 = Comprimento do gnatópode II, LG2 = Largura do gnatópode II, U1RI = Comprimento do ramo interno do urópode I, U1RE = Comprimento do ramo



externo do urópode I, U1P = Comprimento do pedúnculo do urópode I, U2RI = Comprimento do ramo interno do urópode II, U2RE = Comprimento do ramo externo do urópode II, U2P = Comprimento do pedúnculo do urópode II, U3RI = Comprimento do ramo interno do urópode III, U3RE = Comprimento do ramo externo do urópode III, U3P = Comprimento do pedúnculo do urópode III.

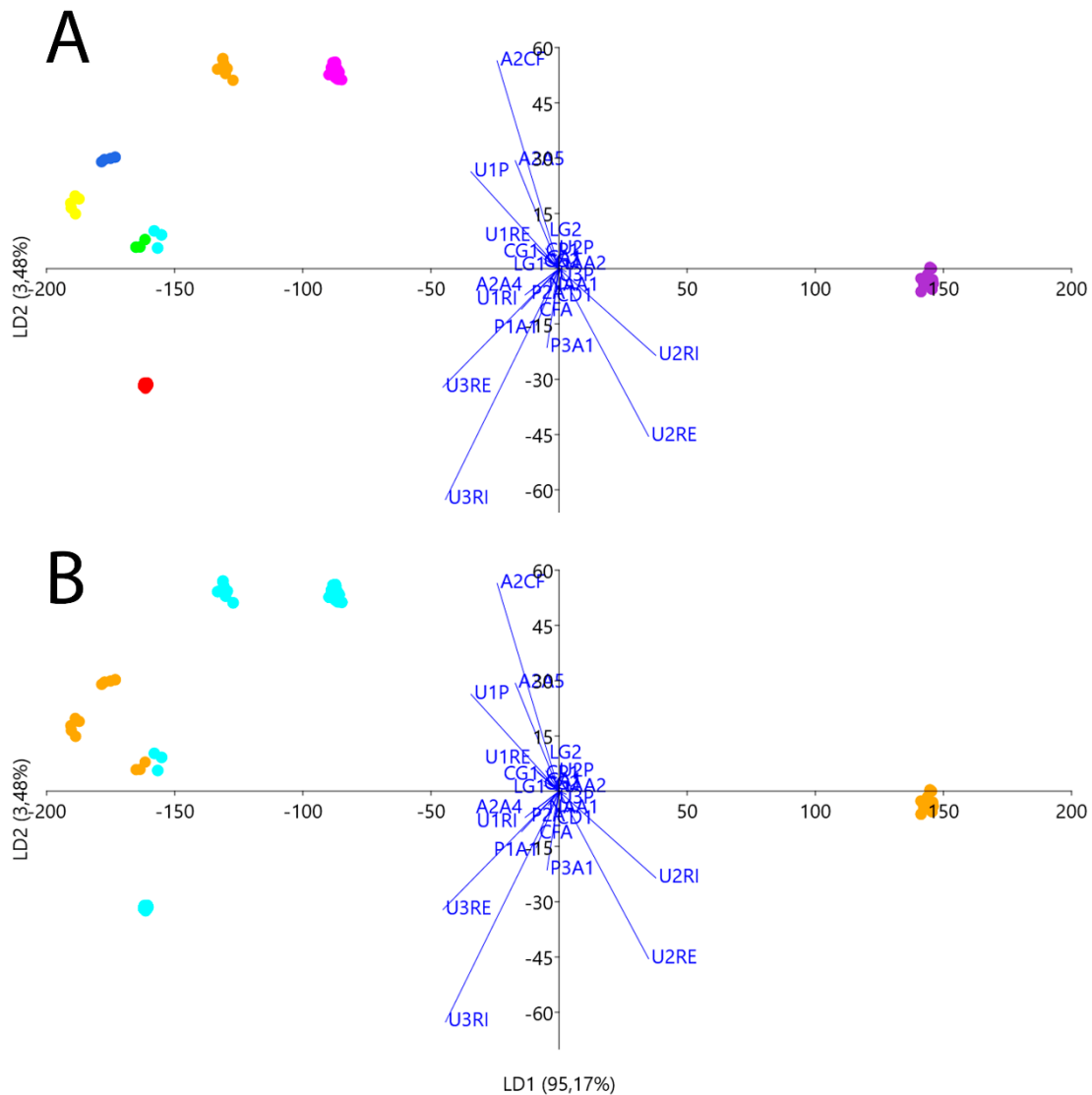


**Figura 33:** Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando dados morfométricos de oito localidades de *Potiberaba porakuara*. Cada localidade foi representada por uma cor, Caverna do Poço feio (Vermelho), Caverna da Água (Verde), Olho d'água da Furna (Rosa), Caverna dos Troglóbios (Azul), Olho d'água do Tetéu (Laranja), Caverna da Aposta (Amarelo), Caverna dos Três Lagos (Roxo), Gruta Zé de Juvino (Ciano).

Na PCA, a soma dos dois primeiros eixos (PC1+PC2) acumulou 91,83% da variação observada. Entretanto, há discrepância quanto aos valores de explicação de cada eixo, sendo eixo X: 85,27% e eixo Y: 6,56%. Os resultados obtidos indicam tendência de agrupamento para as localidades Olho d'água do Tetéu, Caverna dos Troglóbios, Gruta Zé de Juvino, Caverna da Água, Caverna da Aposta e Olho d'água da Furna, mostrando uma alta variação entre indivíduos de uma mesma localidade para Olho d'água do Tetéu, Caverna dos Troglóbios, Caverna da Aposta e Caverna do Poço feio. A análise também apontou tendência de separação morfológica entre as localidades Caverna dos Três Lagos e Caverna do Poço feio, essas se mostram distantes das demais localidades, sendo Caverna dos Três Lagos e Olho d'água da Furna localidades com pouca variação entre indivíduos de uma mesma localidade (Figura 33).

Para o eixo X, as variáveis que mais influenciaram positivamente foram: A2CF, U3RI e U3RE; as variáveis que mais influenciaram negativamente foram: U2RI e U2RE; as variáveis que menos influenciaram positivamente foram: P2A1, A2A5, P1A1, A2A4, U1RI e U1RE; a variável que menos influenciou negativamente foi: U2P, U3P e NAA2 (Figura 33).

Para o eixo Y, as variáveis que mais influenciaram positivamente foram: apenas A2CF; as variáveis que mais influenciaram negativamente foram: U3RI e U3RE; as variáveis que menos influenciaram positivamente foram: P2A1, A2A5, P1A1 A2A4 e NAA2; as variáveis que menos influenciaram negativamente foram: U2RI, U2RE e U1RI (Figura 33).



**Figura 34:** **A-** Análise Discriminante Linear (LDA) com oito localidades de *Potiberaba porakuara* utilizando as mesmas variáveis da PCA. Cada localidade foi representada por uma cor, Caverna do Poço feio (Vermelho), Caverna da Água (Verde), Olho d’água da Furna (Rosa), Caverna dos Troglóbios (Azul), Olho d’água do Tetéu (Laranja), Caverna da Aposta (Amarelo), Caverna dos Três Lagos (Roxo), Gruta Zé de Juvino (Ciano). **B-** Análise Discriminante Linear (LDA) com as oito localidades de *Potiberaba porakuara* divididas em lêntico (Laranja) e lótico (Ciano). As cavernas com ambientes lênticos são Caverna da Água, Caverna dos Troglóbios, Caverna da Aposta, Caverna dos Três Lagos e Gruta Zé de Juvino. Caverna do Poço feio, Olho d’água da Furna e Olho d’água do Tetéu apresentam ambientes lóticos.

Na LDA, a soma dos dois primeiros eixos (LD1+LD2) acumulou 98,65% da variação observada. Entretanto, há discrepância quanto aos valores de explicação de cada eixo, sendo eixo X: 95,17% e eixo Y: 3,48%. Os resultados obtidos indicam tendência de agrupamento para as localidades Olho d’água do Tetéu, Caverna dos Troglóbios, Gruta Zé de Juvino, Caverna da Água, Caverna da Aposta e Olho d’água da Furna. A análise também indica

tendências de separação morfológica das localidades Caverna do Poço feio e Caverna dos Três lagos em relação às demais localidades, mostrando que essas localidades possuem variação entre indivíduos. Ademais, todas as localidades mostrando uma baixa variação entre indivíduos de uma mesma localidade (Figura 34).

Para o eixo X, as variáveis que mais influenciaram positivamente foram: U2RI e U2RE; as variáveis que mais influenciaram negativamente foram: U3RE, U3RI, U1P, A2A5 e A2CF; as variáveis que menos influenciaram positivamente foram: apenas NAA2; a variável que menos influenciou negativamente foi: A2A4, U1RI, U1RE e P1A1 (Figura 34).

Para o eixo Y, as variáveis que mais influenciaram positivamente foram: A2CF, A2A5 e U1P; as variáveis que mais influenciaram negativamente foram: U2RE, U2RI, U3RI e U3RE; as variáveis que menos influenciaram positivamente foram: apenas U1RE; as variáveis que menos influenciaram negativamente foram: P3A1 e P1A1 (Figura 34).

**Tabela 2:** Matriz de confusão derivada da CVA (Análise de Variação Canônica), com as comparações morfológicas entre localidades. PFE (Caverna do Poço feio), CAG (Caverna da Água), ODF (Olho d'água da Furna), TRO (Caverna dos Troglóbios), ODT (Olho d'água do Tetéu), APO (Caverna da Aposto), TLG (Caverna dos Três Lagos), ZJU (Gruta Zé de Juvino).

	PFE	CAG	ODF	TRO	ODT	APO	TLG	ZJU
PFE	55	0	0	0	0	0	0	0
CAG	0	3	0	0	0	0	0	0
ODF	0	0	27	0	0	0	0	0
TRO	0	0	0	5	0	0	0	0
ODT	0	0	0	0	7	0	0	0
APO	0	0	0	0	0	5	0	0
TLG	0	0	0	0	0	0	104	0
ZJU	0	0	0	0	0	0	0	3

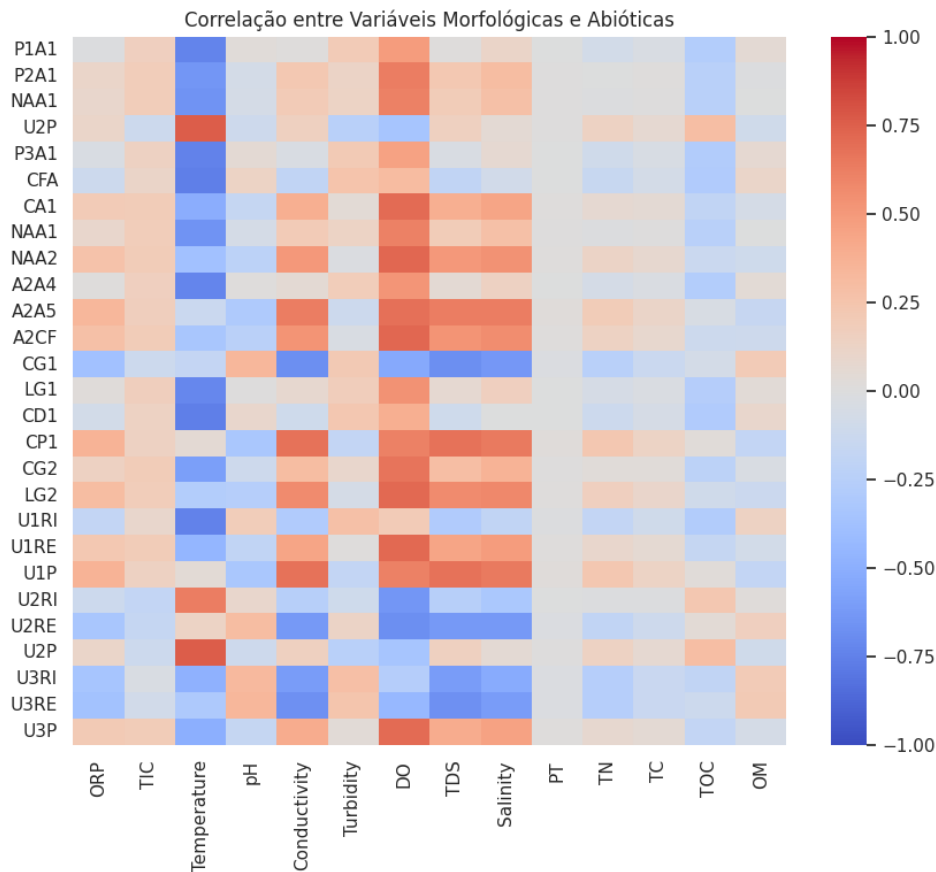
A análise da matriz de confusão aponta que, em todas as localidades, há uma clara predominância de variação entre localidades em detrimento da variação entre indivíduos de uma mesma localidade (Tabela 2).

**Tabela 3:** Média das variáveis morfológicas em milímetros por localidade. PFE (Caverna do Poço feio), CAG (Caverna da Água), ODF (Olho d'água da Furna), TRO (Caverna dos Troglóbios), ODT (Olho d'água do Tetéu), APO (Caverna da Aposta), TLG (Caverna dos Três Lagos), ZJU (Gruta Zé de Juvino).

	<b>PFE</b>	<b>CAG</b>	<b>ODF</b>	<b>TRO</b>	<b>ODT</b>	<b>APO</b>	<b>TLG</b>	<b>ZJU</b>
<b>P1A1</b>	58,3	71,1	46,0	66,1	63,1	54,2	46,6	67,4
<b>P2A1</b>	53,8	78,5	42,5	65,2	67,4	52,6	41,1	64,1
<b>P3A1</b>	27,8	34,1	14,6	32,1	31,5	25,1	20,5	30,3
<b>CFA</b>	16,2	13,5	10,9	10,7	16,0	13,6	12,3	20,0
<b>CA1</b>	15,1	16,1	13,6	14,1	20,6	17,3	9,8	28,9
<b>NAA1</b>	26,0	36,0	21,0	28,8	31,3	25,8	21,0	32,0
<b>NAA2</b>	11,0	14,0	11,0	12,2	12,4	12,0	10,0	15,0
<b>A2A4</b>	55,1	57,1	46,2	54,3	59,5	52,1	37,6	59,5
<b>A2A5</b>	55,8	70,9	59,8	65,9	68,0	61,5	38,0	70,1
<b>A2CF</b>	114,1	175,6	116,9	138,3	164,6	126,0	93,1	148,9
<b>CG1</b>	39,1	38,4	38,9	36,0	38,9	42,7	28,9	44,9
<b>LG1</b>	25,3	23,6	24,2	23,2	25,9	23,7	17,6	25,9
<b>CD1</b>	19,2	21,8	14,8	18,5	19,7	15,3	15,9	28,2
<b>CP1</b>	17,1	14,2	17,8	14,2	18,5	19,0	10,9	20,4
<b>CG2</b>	37,0	42,2	35,2	39,1	40,3	36,2	30,2	47,9
<b>LG2</b>	12,8	13,2	13,2	11,9	15,5	13,9	9,8	15,5
<b>U1RI</b>	55,6	62,1	47,1	45,7	53,7	45,3	35,1	58,2
<b>U1RE</b>	56,6	64,8	55,6	48,7	63,1	49,5	44,0	62,0
<b>U1P</b>	71,4	77,8	73,5	57,5	75,3	58,8	28,5	84,2
<b>U2RI</b>	46,7	41,8	51,7	30,2	39,6	34,4	92,2	59,1
<b>U2RE</b>	63,1	58,9	59,2	38,6	51,1	39,0	101,8	63,0
<b>U2P</b>	51,6	47,2	54,5	32,5	51,6	34,3	54,0	80,2
<b>U3RI</b>	110,1	102,2	75,2	90,1	80,5	92,7	45,4	106,7
<b>U3RE</b>	111,7	107,3	91,1	76,3	87,3	97,8	47,9	110,8
<b>U3P</b>	54,8	68,2	53,7	49,1	59,4	51,4	55,4	62,5

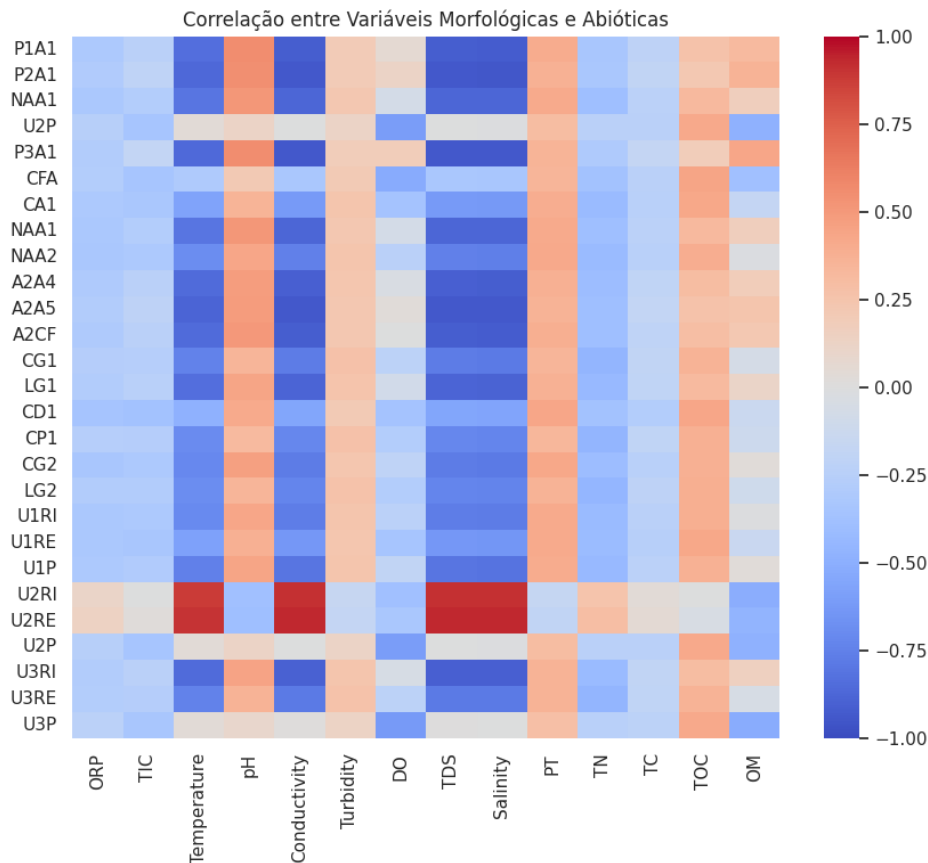
**Tabela 4:** Média das variáveis abióticas de cada localidade. PFE (Caverna do Poço feio), CAG (Caverna da Água), ODF (Olho d'água da Furna), TRO (Caverna dos Troglóbios), ODT (Olho d'água do Tetéu), APO (Caverna da Apostta), TLG (Caverna dos Três Lagos), ZJU (Gruta Zé de Juvino). Temperatura (°C), pH, ORP = Potencial de oxirredução, Condutividade, Turbidez, DO = Oxigênio dissolvido, TDS = Sólidos totais dissolvidos, Salinidade, PT = Fósforo total da água, TN = Nitrogênio total da água, TIC = Carbono inorgânico da água, TC = Carbono total da água, TOC = Carbono orgânico da água, OM = Matéria orgânica do sedimento.

	<b>PFE</b>	<b>CAG</b>	<b>ODF</b>	<b>TRO</b>	<b>ODT</b>	<b>APO</b>	<b>TLG</b>	<b>ZJU</b>
<b>Temperatura (°C)</b>	31,2	29,8	32,3	28,6	31,2	28,2	32,2	29,1
<b>pH</b>	7,1	7,3	6,8	7,3	6,7	6,2	6,6	7,2
<b>ORP</b>	157,5	200,0	203,3	186,0	221,6	235,0	205,3	166,5
<b>Condutividade</b>	0,6	0,9	0,9	0,5	1,1	0,6	1,4	0,6
<b>Turbidez</b>	76,6	4,8	0,0	11,7	27,3	13,7	4,4	16,4
<b>DO</b>	2,0	4,8	2,1	4,8	5,6	3,2	2,6	1,7
<b>TDS</b>	0,4	0,6	0,6	0,3	0,7	0,4	0,9	0,4
<b>Salinidade</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
<b>PT</b>	54,9	65,0	56,5	46,0	63,2	0,0	26,5	76,1
<b>TN</b>	8,7	11,6	11,3	12,7	11,7	5,7	18,4	9,5
<b>TIC</b>	28,9	22,2	34,0	33,2	38,7	43,8	39,8	24,7
<b>TC</b>	27,7	25,6	34,0	28,0	35,8	39,8	36,4	24,7
<b>TOC</b>	4,2	6,5	30,6	0,0	3,7	0,0	0,7	2,2
<b>OM</b>	5,2	0,0	3,8	9,8	4,2	0,0	1,7	1,8



**Figura 35:** Matriz de correlação associada a um *heatmap* entre fatores bióticos e variáveis morfológicas das localidades lótic de *P. porakuara*. As cores variam de vermelho a azul, representando correlações positivas e negativas, respectivamente, com valores próximos de 1 (em vermelho) indicando uma correlação positiva forte e valores próximos de -1 (em azul) indicando uma correlação negativa forte. As siglas nos eixos X e Y correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

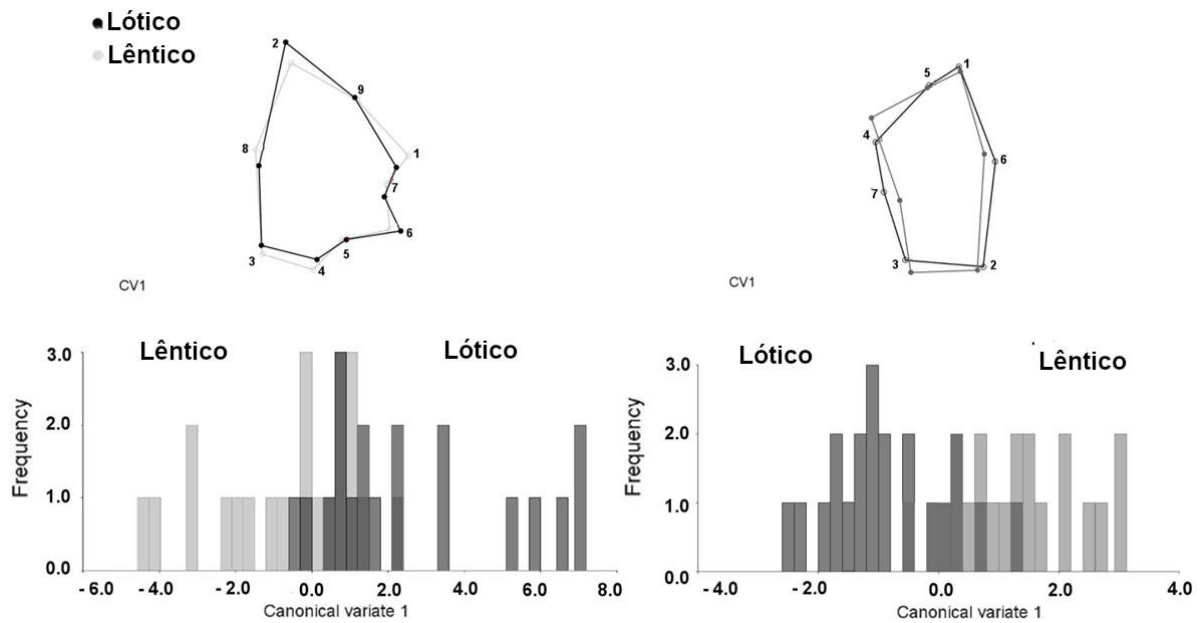
A matriz de correlação sugere diferentes níveis de correlação entre as variáveis morfológicas e abióticas das localidades lótic. As variáveis abióticas como temperatura, condutividade, oxigênio dissolvido, sólidos totais dissolvidos e salinidade destacam-se por indicar fortes correlações próximas de 1 ou -1 com a maioria das variáveis morfológicas, mas principalmente urópodes e número de artículos das antenas I e II. Também foi observado que o fósforo total da água apresentou correlações neutras com todas as variáveis morfológicas (Figura 35).



**Figura 36:** Matriz de correlação associada a um *heatmap* entre fatores bióticos e variáveis morfológicas das localidades lânticas de *P. porakuara*. As cores variam de vermelho a azul, representando correlações positivas e negativas, respectivamente, com valores próximos de 1 (em vermelho) indicando uma correlação positiva forte e valores próximos de -1 (em azul) indicando uma correlação negativa forte. As siglas nos eixos X e Y correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

A matriz de correlação apresenta diferentes níveis de correlação entre as variáveis morfológicas e abióticas das localidades lólicas. As variáveis abióticas como temperatura, condutividade, sólidos totais dissolvidos e salinidade destacam-se por indicar fortes correlações próximas de 1 ou -1 com todas as variáveis morfológicas, exceto pedúnculo do urópode II. As outras variáveis abióticas apontaram correlação moderada próximas de 0,50 ou -0,50 (Figura 35).





**Figura 37:** Comparação das formas médias das populações de *P. porakuara* em ambientes lânticos (cinza claro) e lóticos (cinza escuro). As estruturas analisadas incluem a região cefálica e o própodo do gnatópode II, utilizando valores de distância de Procrustes para avaliar as diferenças morfológicas entre os ambientes.

Ao comparar os gnatópodes de *P. porakuara* entre ambientes lânticos e lóticos, foram encontradas variações em todos os landmarks. As menores variações foram observadas nos landmarks 1, 2 e 5, localizados próximos à inserção do dactilo, enquanto as maiores variações ocorreram nos landmarks 3, 4, 6 e 7. Na região cefálica, os landmarks 3 e 5, situados próximos ao aparelho bucal, e o landmark 9, próximo à inserção da antena, apresentaram as menores variações. Já os landmarks 1 e 2 apresentaram grandes variações, o que sugere que a morfologia cefálica é distinta entre os ambientes lânticos e lóticos (Figura 37).

Além das comparações entre ambientes lânticos e lóticos, também foram realizadas análises comparativas entre as localidades das cavernas. Em todas as comparações dos gnatópodes e da região cefálica, não foram obtidos valores significativos de distância de Procrustes. Isso indica que, ao utilizar a hidrodinâmica como critério de classificação, as populações de *P. porakuara* podem ser agrupadas em dois morfótipos distintos para as estruturas analisadas, contrastando com os resultados das análises morfométricas anteriores (Figura 37).

Tabela 5: Valores de significância ( $p \leq 0,05$ ) resultantes a partir de Modelos Lineares Generalizados (GLM), mostrando valores de correlação entre variáveis morfológicas e abióticas das localidades lênticas. As siglas da tabela correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

	TEMPERATURA	PH	ORP	CONDUTIVIDADE	TURBIDEZ	DO	TDS	SALINIDADE	PT	TN	TIC	TC	TOC
<b>PIA1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,8
<b>P2A1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,04
<b>P3A1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>CFA</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,03	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>CA1</b>	0,0002	0,0001	0,0001	0,03	0,0001	0,0001	0,0001	0,9	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>NAA1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,2	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,1	0,0001	0,0001
<b>NAA2</b>	0,1	0,0001	0,0001	0,01	0,0001	0,0001	0,0001	0,1	0,0001	0,0001	0,0001	0,01	0,0001
<b>A2A4</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,02
<b>A2A5</b>	0,0001	0,002	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,2
<b>A2CF</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,02	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,4
<b>CG1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,007	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,1	0,2	0,0001
<b>LG1</b>	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,6	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,3	0,008	0,008
<b>CD1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,006	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>CP1</b>	0,002	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,004	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,06	0,6	0,0001
<b>CG2</b>	0,4	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0008	0,0001	0,0001	0,0001	0,01	0,0001
<b>LG2</b>	0,5	0,0001	0,0001	0,0005	0,0001	0,004	0,0001	0,01	0,0001	0,0001	0,02	0,4	0,0001

	TEMPERATURA	PH	ORP	CONDUTIVIDADE	TURBIDEZ	DO	TDS	SALINIDADE	PT	TN	TIC	TC	TOC
<b>U1RI</b>	0,7	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0002	0,07	0,0001
<b>U1RE</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,03	0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U1P</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,03	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,5	0,0001	0,0001
<b>U2RI</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U2RE</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U2P</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U3RI</b>	0,0001	0,05	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,01
<b>U3RE</b>	0,0001	0,004	0,0001	0,0001	0,0001	0,2	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,7	0,07	0,0001
<b>U3P</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,5	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0004	0,0001	0,0001	0,0001

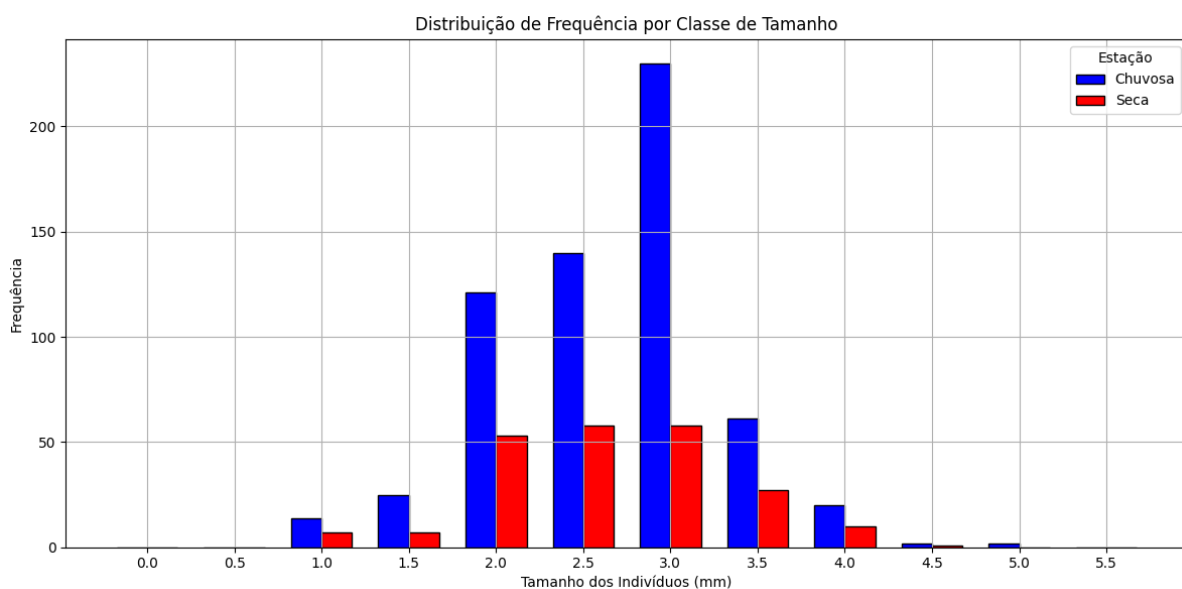
Tabela 6: Valores de significância ( $p \leq 0,05$ ) resultantes a partir de Modelos Lineares Generalizados (GLM), mostrando valores de correlação entre variáveis morfológicas e abióticas das localidades lóticis. As siglas da tabela correspondem às variáveis já descritas nas informações morfológicas e na tabela de dados ambientais.

	TEMPERATURA	PH	ORP	CONDUTIVIDADE	TURBIDEZ	DO	TDS	SALINIDADE	PT	TN	TIC	TC	TOC
<b>P1A1</b>	0,2	0,5	0,0001	0,04	0,0001	0,001	0,09	0,002	0,5	0,0001	0,0001	0,06	0,0001
<b>P2A1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0002	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>P3A1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,005	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>CFA</b>	0,2	0,8	0,0001	0,06	0,0001	0,0001	0,0001	0,0007	0,8	0,0001	0,0001	0,03	0,0001
<b>CA1</b>	0,0001	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,0001	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>NAA1</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>NAA2</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001	0,06	0,0001	0,1	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,99
<b>A2A4</b>	0,9	0,7	0,0001	0,5	0,0001	0,1	0,1	0,2	0,7	0,04	0,4	0,7	0,04
<b>A2A5</b>	0,3	0,2	0,0001	0,7	0,0001	0,6	0,6	0,5	0,1	0,1	0,0001	0,2	0,4
<b>A2CF</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>CG1</b>	0,0001	0,0001	0,5	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,02	0,009	0,0001	0,0001
<b>LG1</b>	0,001	0,0006	0,1	0,01	0,0001	0,05	0,0001	0,05	0,0005	0,6	0,001	0,003	0,1
<b>CD1</b>	0,9	0,5	0,0001	0,4	0,0001	0,05	0,004	0,08	0,5	0,0001	0,0001	0,5	0,004
<b>CP1</b>	0,01	0,006	0,1	0,05	0,06	0,07	0,01	0,08	0,005	0,4	0,08	0,01	0,1
<b>CG2</b>	0,004	0,0005	0,0001	0,1	0,0001	0,4	0,0001	0,4	0,0004	0,0009	0,0001	0,009	0,8
<b>LG2</b>	0,8	0,6	0,0001	0,4	0,0001	0,3	0,8	0,3	0,5	0,04	0,0001	0,8	0,2
<b>U1RI</b>	0,002	0,0004	0,09	0,02	0,0001	0,1	0,0001	0,1	0,0004	0,005	0,0001	0,009	0,5
<b>U1RE</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,03	0,0001	0,2	0,0001	0,2	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,9
<b>UIP</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,0001	0,0001	0,0001

	<b>TEMPERATURA</b>	<b>PH</b>	<b>ORP</b>	<b>CONDUTIVIDADE</b>	<b>TURBIDEZ</b>	<b>DO</b>	<b>TDS</b>	<b>SALINIDADE</b>	<b>PT</b>	<b>TN</b>	<b>TIC</b>	<b>TC</b>	<b>TOC</b>
<b>U2RI</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U2RE</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,01	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,05	0,0001	0,0001
<b>U2P</b>	0,0001	0,0001	0,6	0,0001	0,3	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,8	0,0001	0,0001
<b>U3RI</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U3RE</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,1	0,0001	0,0001	0,0001
<b>U3P</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,0001	0,002	0,0001	0,01	0,0001	0,0001	0,07

Os resultados da análise de GLM indicam que todas as variáveis morfológicas analisadas apresentaram correlações significativas com as variáveis abióticas. No ambiente lótico, destacam-se variáveis como pH, turbidez, condutividade, TDS, salinidade e os diferentes tipos de carbono (TIC, TC, TOC), que demonstraram maior influência sobre as estruturas morfológicas, especialmente sobre antenas e urópodes, com valores de  $p < 0,0001$  (Tabela 6).

No ambiente lêntico, as variáveis pH, ORP, condutividade, turbidez, PT, TDS, TN e salinidade tiveram forte influência sobre as estruturas morfológicas. De modo geral, todas as estruturas analisadas apresentaram correlações significativas com valores de  $p < 0,0001$ , indicando provavelmente há uma relação entre os fatores ambientais e a morfologia da espécie estudada (Tabela 5).

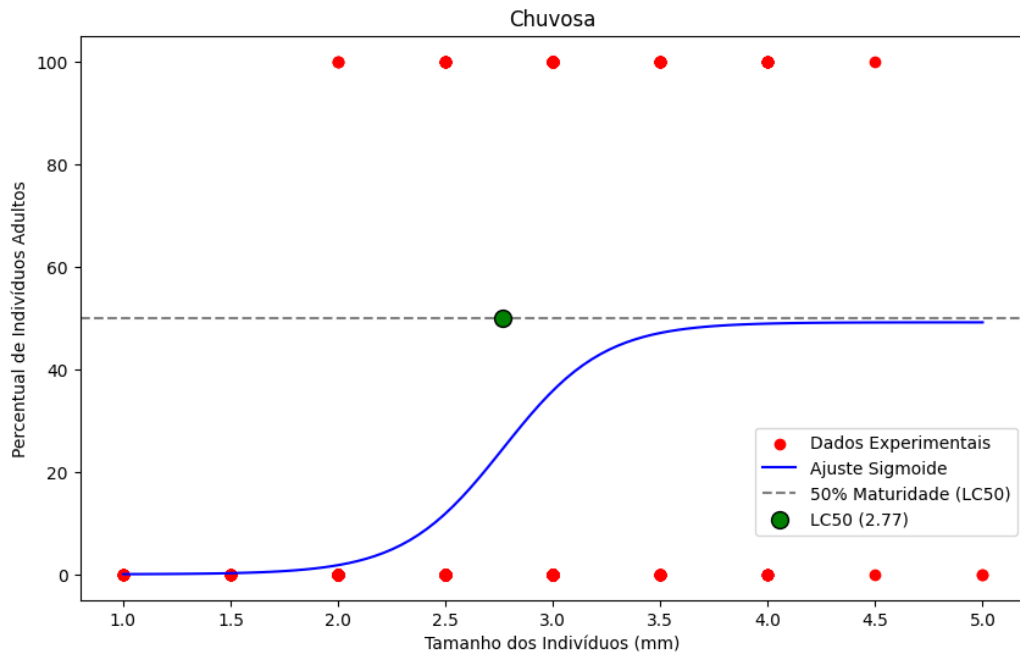


**Figura 38:** Gráfico de distribuição de abundância por classe de tamanho de *P. porakuara* nas estações chuvosa e seca. As barras azuis representam a abundância durante a estação chuvosa, enquanto as barras vermelhas indicam a abundância na estação seca.

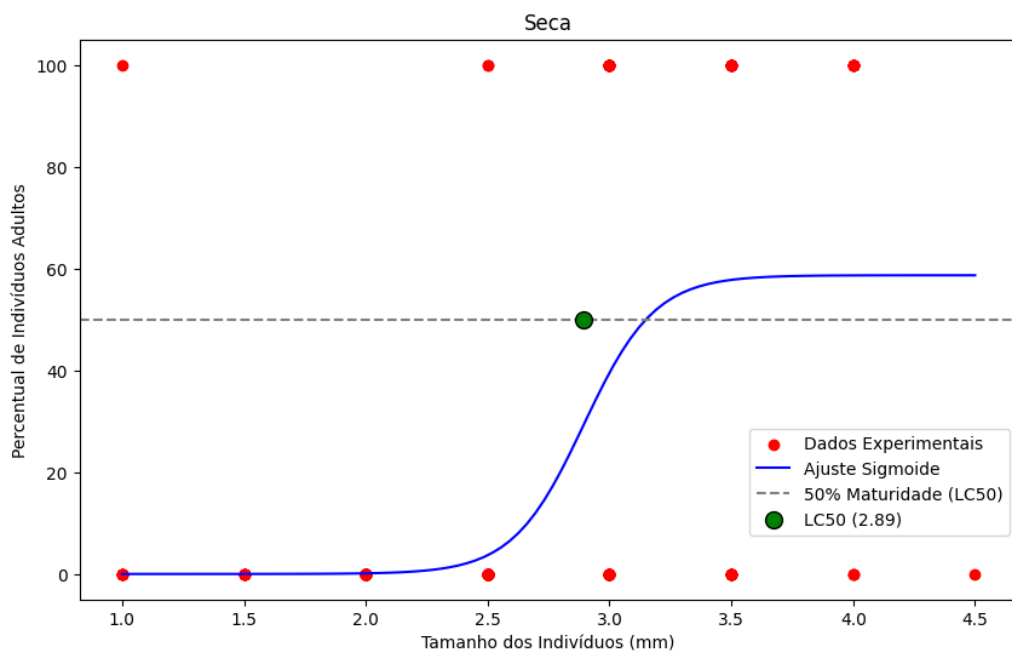
O gráfico de abundância de tamanhos (Figura 38) demonstra que, durante a estação chuvosa, a distribuição de tamanhos é mais ampla, com um ápice na classe de tamanho de 3,0 mm com mais de 200 indivíduos. Outras classes de tamanho a serem consideradas nessa estação incluem 2,0 mm e 2,5 mm, ambas com frequências elevadas.

Já a distribuição de tamanhos durante a estação seca é mais restrita, com um pico menor também na classe de 3,0 mm, com menos de 50 indivíduos. A frequência de

indivíduos nas demais classes de tamanho é menor em comparação com a estação chuvosa. Indivíduos com tamanhos maiores, acima de 4,0 mm, foram observados predominantemente na estação chuvosa, sugerindo que as condições ambientais mais favoráveis nessa estação promovem um crescimento mais robusto dos indivíduos.



**Figura 39:** Análise de LC50 para *P. porakuara* durante a estação chuvosa, destacando em verde o ponto em que 50% da população atinge a maturidade.

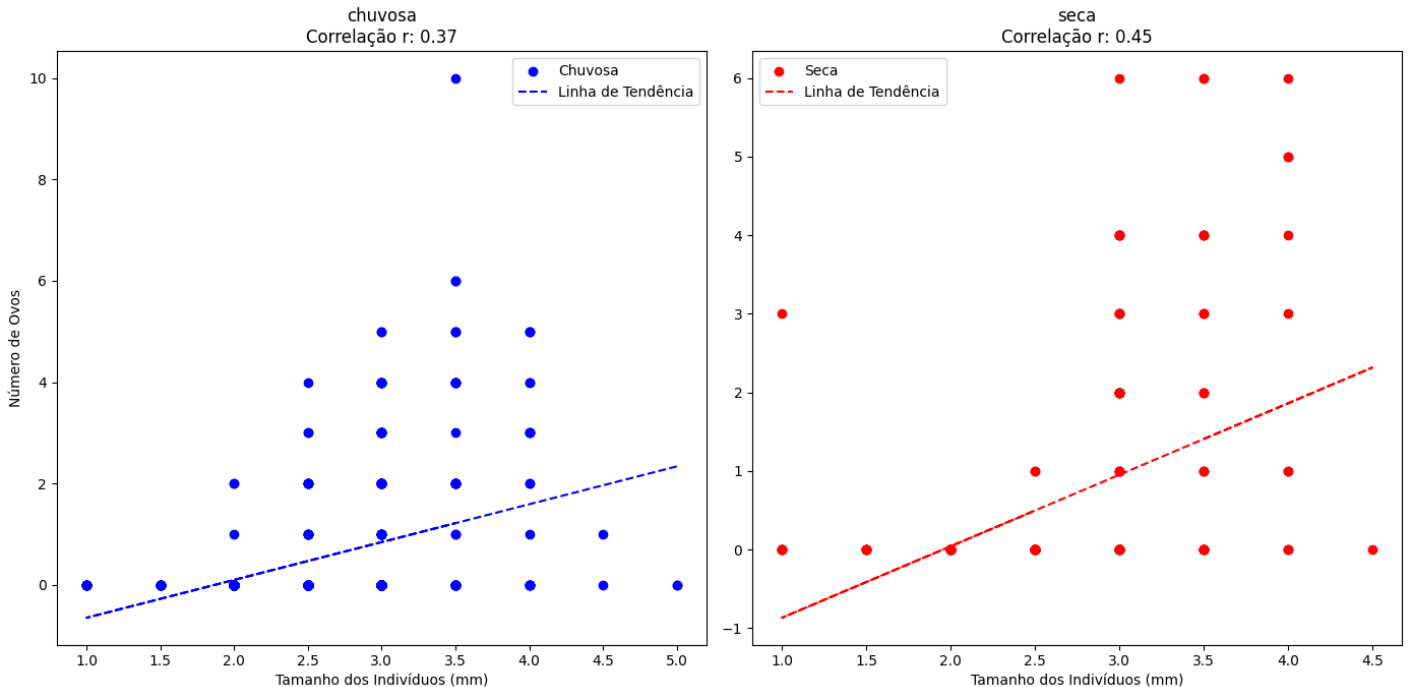


**Figura 40:** Análise de LC50 para *P. porakuara* durante a estação seca, destacando em verde o ponto em que 50% da população atinge a maturidade.

A análise do tamanho de maturidade das fêmeas, representada pelos gráficos de ajuste sigmoide para as estações chuvosa e seca (Figuras 39 e 40), revelou diferenças significativas. O LC50, definido como o tamanho no qual 50% das fêmeas atingem a maturidade sexual, foi determinado como 2,77 mm na estação chuvosa e 2,89 mm na estação seca.

No gráfico da estação chuvosa (Figura 39), observa-se que o percentual de indivíduos adultos aumenta acentuadamente a partir de aproximadamente 2,5 mm, atingindo 50% de maturidade a um tamanho de 2,77 mm. A curva de ajuste sigmoide (linha azul) corresponde aos dados experimentais (pontos vermelhos), indicando se tratar de um bom modelo na predição da maturidade sexual. A linha pontilhada horizontal, que representa o nível de 50% de maturidade, cruza a curva de ajuste no ponto correspondente ao LC50.

No gráfico da estação seca (Figura 40), de acordo com o LC50 o percentual de indivíduos adultos começa a aumentar acentuadamente em torno de 2,89 mm. De forma semelhante ao gráfico da estação chuvosa, a curva de ajuste sigmoide também mostra uma correspondência com os dados experimentais. A linha pontilhada horizontal, representando o nível de 50% de maturidade, cruza a curva de ajuste no ponto correspondente ao LC50.



**Figura 41:** Gráficos de regressão relacionando o número de ovos ao tamanho dos indivíduos de *P. porakuara*. As curvas em azul correspondem à estação chuvosa, enquanto as curvas em vermelho representam a estação seca.



Os gráficos de regressão mostram a relação entre o tamanho dos indivíduos e o número de ovos nas estações chuvosa e seca. Na estação chuvosa, observou-se uma correlação positiva moderada ( $r = 0,37$ ), indicando que, embora haja variação significativa, o número de ovos tende a aumentar conforme o tamanho dos indivíduos. Durante a estação seca, a correlação positiva é ligeiramente mais forte ( $r = 0,45$ ), sugerindo que o tamanho dos indivíduos exerce uma influência mais consistente sobre o número de ovos nessa estação. Essas diferenças podem refletir pressões ecológicas distintas e estratégias reprodutivas adaptativas entre as estações.

Quanto ao tamanho dos indivíduos, a ANOVA resultou em um valor de  $F$  de 1,3569 e um valor de  $p$  de 0,2444. Esses resultados indicam que não há diferença estatisticamente significativa no tamanho dos indivíduos entre as estações chuvosa e seca ( $p > 0,05$ ). Embora o valor de  $F$  sugira alguma variação nas médias dos tamanhos entre as estações, o valor elevado de  $p$  não sustenta a rejeição da hipótese nula, implicando que qualquer diferença observada pode ser atribuída ao acaso. Em relação à quantidade de ovos, a ANOVA produziu um valor de  $F$  de 0,0165 e um valor de  $p$  de 0,8979. Esses resultados também indicam a ausência de uma diferença estatisticamente significativa na quantidade de ovos entre as estações ( $p > 0,05$ ). O valor de  $F$  fortemente baixo, aliado ao alto valor de  $p$ , sugere que as médias da quantidade de ovos são praticamente idênticas entre as estações e que qualquer variação observada é provavelmente aleatória.

## Discussão e Conclusões

De modo preliminar, os resultados obtidos até aqui indicam que, além das variações genéticas propostas por Bento *et al.* (2024) e Rocha (2021), *P. porakuara* apresenta variações morfológicas entre indivíduos de uma mesma localidade e também entre indivíduos de localidades diferentes, em graus mais ou menos acentuados, dado que algumas cavernas constituem uma mesma população do ponto de vista genético.

A proximidade de algumas localidades analisadas no morfoespaço pode indicar semelhanças morfológicas entre elas, de acordo com os caracteres analisados. Esse possível padrão de convergência fenotípica, já observado em outras espécies de crustáceos troglóbios com distribuição ampla, pode ser explicado por similaridade ambiental experimentada por estes organismos (Balazs *et al.*, 2021). Desse modo, características similares podem ser selecionadas em diferentes localidades, tornando-as fenotipicamente parecidas, ainda que geograficamente distantes (Balazs *et al.*, 2021). Entretanto, assim como sugerido por Bento *et al.* (2024) e Rocha (2021), estas variações genéticas não são suficientes para que tais localidades sejam designadas como espécies distintas, apenas como localidades com variável capacidade plástica do ponto de vista fenotípico (Cupic *et al.*, 2023).

Os resultados indicam que as localidades Olho d'Água do Tetéu e Caverna dos Troglóbios apresentaram uma variação moderada. Por outro lado, as localidades Caverna dos Três Lagos e Olho d'Água da Furna indicaram baixa variação. Já a alta variação entre indivíduos de diferentes localidades foi observada principalmente nas localidades Caverna dos Três Lagos e Caverna do Poço Feio em detrimento das demais localidades. Esses resultados podem ser um reflexo da variação de plasticidade fenotípica encontrada entre as localidades, como anteriormente citado (Bilandzija *et al.*, 2020).

Na PCA e LDA são mostradas as variáveis que mais e menos influenciaram no processo, elas giram em torno de caracteres morfológicos sensoriais (antenas) e natatórios (urópodes). As antenas sendo um mecanismo quimiorreceptor, essenciais para orientação e detecção de alimento para ambientes como cavernas, lugares que podem formar uma complexidade de micro-habitats com ausência de luz, e urópodes sendo associados à natação, que pode estar relacionada à condição hidrodinâmica (lêntico e lótico) (Lunghi *et al.*, 2020; Nitzu *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2022; Bauer, 2023). Essa heterogeneidade ambiental encontrada nas localidades seleciona as características que favoreçam a sobrevivência da espécie (Bilandzija *et al.*, 2020). Dessa forma, é esperado de localidades

com alta variação morfológica representem um ambiente com condições instáveis. No mesmo sentido, as localidades cujos indivíduos apresentaram pouca variação mostram ter um ambiente mais estável (Ruszczuk, 2022).

Entretanto, a LDA baseada na morfometria tradicional indicou que a condição hidrodinâmica (lêntico ou lótico) não foi determinante para a variação observada. Em contraste, a GLM e a morfometria geométrica mostraram que fatores ambientais influenciam significativamente os caracteres morfológicos, especialmente aqueles relacionados à locomoção e aos mecanismos sensoriais (Ruszczuk, 2022).

As diferenças morfológicas encontradas nos gnatópodes por meio da morfometria geométrica indicam que, em ambientes lóticos, os indivíduos tendem a apresentar própodos mais alargados. Esta região, que abriga a musculatura conectada ao dactilo, atua como um mecanismo de adesão ao substrato, permitindo uma fixação mais eficiente em cavernas com correnteza, especialmente durante o período chuvoso, quando os rios podem se conectar às cavernas da Caatinga. Além disso, a variação na forma da região cefálica, com alongamento do landmark 1, sugere uma adaptação hidrodinâmica nesses ambientes, resultando em uma forma mais afunilada da cabeça, o que pode reduzir a resistência ao deslocamento na água. (Bittner *et al.*, 1978; El Haj & Whiteley, 2009; Ruszczuk, 2022).

Já os resultados das análises de estrutura populacional sugerem que a estação chuvosa oferece condições ambientais mais favoráveis ao crescimento dos indivíduos, resultando em maior abundância e diversidade de tamanhos. A maior disponibilidade de recursos, como alimento e abrigo, durante a estação chuvosa pode explicar a maior frequência de indivíduos e a ampla variação no tamanho observada (Bento *et al.*, 2016). Em alternativa, a estação seca parece impor limitações ambientais que restringem o crescimento e a sobrevivência, refletidas na menor frequência de indivíduos e na distribuição de tamanhos mais estreita. A escassez de recursos durante esse período pode resultar em uma população menos numerosa e menos diversificada (Hirose *et al.*, 2012; Marchessaux *et al.*, 2023).

A variação encontrada nos valores de LC50 entre as estações sugere que as condições ambientais mais adversas da estação seca retardam o crescimento, exigindo que os indivíduos cresçam mais antes de atingir a maturidade sexual. Entretanto, as condições mais favoráveis da estação chuvosa, como a maior disponibilidade de alimentos, podem permitir que as fêmeas atinjam a maturidade com um tamanho menor. Essa variação sazonal no

tamanho de maturidade pode ter implicações importantes para a dinâmica populacional e as estratégias de manejo da espécie (Hirose *et al.*, 2012; Marchessauex *et al.*, 2023).

Os resultados da ANOVA não encontraram evidências suficientes para afirmar que as condições sazonais influenciam significativamente o tamanho dos indivíduos ou a quantidade de ovos produzidos. Esse resultado sugere que, apesar das variações ambientais entre as estações chuvosa e seca, a espécie mantém uma relativa constância em termos de crescimento e fecundidade. Isso pode indicar uma adaptabilidade da espécie às diferentes condições sazonais ou que outros fatores, além da sazonalidade, desempenham um papel mais determinante na variabilidade do tamanho e na fecundidade (Avens *et al.*, 2017; Marchessauex *et al.*, 2023).

Ainda considerando as delimitações propostas por Bento *et al.* (2024) e Rocha (2021), as diferentes respostas encontradas de desenvolvimento morfológico diante de condições ambientais variadas destacam a possibilidade de haver variação morfológica sem necessariamente envolver diferenças genéticas (Zamudio *et al.*, 2016). Essa dinâmica pode estar atrelada a um processo de especiação alopátrica, caso contrário seria uma resposta fenotípica. No entanto, seria preciso avaliar se existe fluxo genético entre as localidades e se essa distância genética teria relação com a distância geográfica (Juan *et al.* 2010).

A relação entre heterogeneidade ambiental e plasticidade fenotípica em animais troglóbios é importante para entender como essas espécies conseguem superar desafios biológicos, como o baixo potencial de dispersão e a alta especificidade ambiental, especialmente em organismos estigobiontes, além de colonizar ambientes tão diversos em sistemas subterrâneos (Culver & Pipan, 2019). A plasticidade fenotípica observada em diversos grupos permite que os organismos ajustem suas características morfológicas, fisiológicas e comportamentais em resposta às variações ambientais, o que é importante em cavernas, onde os parâmetros podem variar significativamente entre micro-habitats (Howarth, 1983). Essas adaptações são essenciais para a sobrevivência em ambientes com escassez de nutrientes, água e oxigênio (Romero, 2009).

Em anfípodas subterrâneas, a relação entre hidrodinamismo e variação em urópodes e gnatópodes é um exemplo claro de adaptação morfológica (Fišer *et al.*, 2013). Em ambientes com correnteza, como nas cavernas Poço Feio e Olho d'Água da Furna, os anfípodas desenvolvem urópodes mais robustos, conferindo maior estabilidade e ancoragem. Já em ambientes com águas mais calmas, os gnatópodes podem ser mais especializados para

alimentação e locomoção (Fišer *et al.*, 2013). Essa variação é uma resposta direta às pressões seletivas, demonstrando a importância da plasticidade fenotípica para a sobrevivência em condições variadas (Relyea, 2001).

*P. porakuara* exemplifica como a variação fenotípica e o compartilhamento genético podem reduzir o risco de perda de diversidade (Futuyma, 2017). A ampla variação fenotípica dentro da espécie pode sugerir um pool genético robusto, capaz de gerar indivíduos com diferentes capacidades adaptativas (Freeman, 2013). A elevada diversidade fenotípica e genética é essencial para a resiliência e capacidade de colonização das populações de *P. porakuara* em diferentes cavernas na área de estudo (Frankham, 2010).

Apesar da falta de estruturação genética observada em muitas populações cavernícolas, como em *P. porakuara*, a alta diversidade fenotípica sugere que esses organismos possuem mecanismos adaptativos que lhes permitem explorar uma variedade de nichos dentro das cavernas (Gibert, 2002). A flexibilidade fenotípica facilita a ocupação de ambientes cavernícolas com diferentes características físicas e químicas, promovendo a resiliência e a colonização de novas áreas (Trontelj, 2009).

Em resumo, a combinação de plasticidade fenotípica e diversidade genética confere às espécies troglóbias uma vantagem significativa na colonização e sobrevivência em ambientes cavernícolas dinâmicos e variados (Culver & Pipan, 2019). Essa capacidade adaptativa é crucial para enfrentar os desafios impostos pelas condições extremas das cavernas, garantindo a manutenção da biodiversidade subterrânea ao longo do tempo (Gibert, 2002).

## **Recomendações para o manejo**

Conhecer o tamanho de maturidade sexual é crucial para estabelecer medidas de conservação, como tamanhos mínimos de captura, que assegurem a reprodução adequada da população. As diferenças sazonais no LC50 destacam a necessidade de considerar variações ambientais ao formular políticas de manejo. Proteger os habitats durante a estação seca, garantindo a disponibilidade de recursos necessários para o crescimento, pode ser vital para a sustentabilidade da população.

As diferenças sazonais na estrutura populacional enfatizam a importância de considerar as variações ambientais no desenvolvimento de estratégias de manejo e conservação. Como proteger os habitats e garantir a disponibilidade de recursos durante a estação seca, que pode ser crucial para a sustentabilidade da população. Esses resultados fornecem ideias valiosas sobre como as condições sazonais influenciam a estrutura populacional e a dinâmica de crescimento da espécie, auxiliando na formulação de políticas de conservação mais eficazes.

A ausência de diferenças no tamanho dos indivíduos e na quantidade de ovos entre as estações ressalta a importância de considerar múltiplos fatores ao se formular estratégias de manejo e conservação. Embora a sazonalidade não tenha mostrado um impacto significativo nesses parâmetros específicos, é possível que outros aspectos do ciclo de vida ou do ambiente tenham um papel crucial na dinâmica populacional da espécie. Portanto, um enfoque abrangente e multifacetado é essencial para a gestão eficaz e a conservação das localidades estudadas.

Por isso, são recomendadas ações que regem o policiamento e supervisão de ações antrópicas em regiões cavernícolas, principalmente quanto à mineração e poluição, a fim de minimizar eventuais danos ao patrimônio espeleológico. Além disso, fazem-se necessárias ações que promovam a educação e ciência sobre esses ambientes, trazendo o conhecimento para a população e despertando um senso de conservação em prol do bem-estar comunitário entre a humanidade e a natureza.

## **Agradecimentos**

Agradeço ao ICMBio e ao CIEE, pela bolsa de estudos concedida por esses meses, à Universidade Federal do Rio Grande do Norte e ao Centro de Biociências. Sou grato ao Professor Doutor Sergio Maia por permitir uso de equipamento e ferramentas necessárias para o estudo. Agradeço aos integrantes do Laboratório de Ictiologia Sistemática e Evolutiva (LISE) por me ensinarem tanto. Agradeço a Diego Bento e Matheus Arthur por me orientarem e terem paciência comigo. Agradeço também ao grupo de coleta de campo: Diego Bento, Matheus Arthur, Lindsey, Iatagan, Yuri, Carol e Rodrigo Ferreira.

## Citações e referências bibliográficas

AVENS, L. *et al.* Variability in age and size at maturation, reproductive longevity, and long-term growth dynamics for Kemp's ridley sea turtles in the Gulf of Mexico. **PLOS ONE**, [S.I.], v. 12, n. 3. mar. 2017.

BALÁZS, G. *et al.* Parallel morphological evolution and habitat-dependent sexual dimorphism in cave-vs. surface populations of the *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda: Asellidae) species complex. **Ecology and Evolution**, [S.I.], v. 11, n. 21, p. 15389-15403. out. 2021.

BAUER, R. T. **Structure and Function**. Springer eBooks, [S.I.], p. 19–67, jan. 2023.

BENTO, D. M.; FERREIRA, R. L.; PROUS, X.; SOUZA-SILVA, M.; BELLINI, B. C.; VASCONCELLOS, A. Seasonal variations in cave invertebrate communities in the semiarid Caatinga, Brazil. **Journal of Cave and Karst Studies**. [S.I.], v. 78, n. 2, p. 61-71, 2016.

BENTO, D. M. **Filogeografia de artrópodes troglóbios do Oeste da formação Jandaíra, Nordeste do Brasil: evolução e conectividade biológica em ambientes subterrâneos como base para ações de conservação**. 2021. 160 p. Tese (Doutorado em Sistemática e Evolução) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021.

BENTO, D.M.; SOUZA-SILVA, M.; VASCONCELLOS, A.; BELLINI, B.C., PROUS, X.; FERREIRA, R.L. Subterranean “oasis” in the Brazilian semiarid region: neglected sources of biodiversity. **Biodiversity and Conservation**, [S.I.], v. 30, n. 3. nov. 2021.

BENTO, D.M.; FERREIRA, R. L.; VASCONCELOS, S.; LIMA, J. L. R.; OLIVEIRA, G.; SILVA, T. C.; LIMA, S. M. Q. Before it's too late: priority areas for conservation of



cryptic and threatened species of troglobitic arthropods in the Brazilian semi-arid. *Biodiversity and Conservation*, [S.I.], v. 26, n. 1, 2024.

BILANDŽIJA, H. *et al.* Phenotypic plasticity as a mechanism of cave colonization and adaptation. *Elife*, [S.I.], v. 9, p. e51830. abr. 2020.

BITTNER, G. D.; TRAUT, D. L. Growth of crustacean muscles and muscle fibers. *Journal of Comparative Physiology*. [S.I.], v. 124, n. 3, p. 277–285, jan. 1978.

CECAV - CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS. Anuário estatístico do patrimônio espeleológico brasileiro. Brasília, 2023.

ČUPIĆ, M. *et al.* The first cavefish in the Dinaric Karst? Cave colonization made possible by phenotypic plasticity in *Telestes karsticus*. *Zoological research*, [S.I.], v. 44, n. 4, p. 821. jul. 2023.

CULVER, D. C.; PIPAN, T. **The Biology of Caves and Other Subterranean Habitats**. Oxford University Press, 2019.

DELIC, T.; STOCH, F.; BORKO, Š.; FLOT, J.F.; FISER, C. How did subterranean amphipods cross the Adriatic Sea? Phylogenetic evidence for dispersal–vicariance interplay mediated by marine regression–transgression cycles. *Journal of Biogeography*, [S.I.], v. 47, n. 9, p. 1875–1887. jun. 2020.

EL HAJ, A.J.; WHITELEY, N. M. Molecular Regulation of Muscle Growth in Crustacea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 77, n. 1, p. 95–106, fev. 1997.

FERREIRA, R. L.; PROUS, X.; BERNARDI, L. F. O.; SILVA, M. S. Fauna subterrânea do Estado do Rio Grande do Norte: caracterização e impactos. **Revista Brasileira de Espeleologia**, [S.I], v. 1, n. 1, p. 25-51. jun. 2010.

FISER, C.; LUSTRIK, R.; TURJAK, M. Morphological adaptations of subterranean amphipods to different hydrological conditions. **Journal of Crustacean Biology**, [S.I], v. 1, n. 33, p. 45-56. 2013.

FISER C.; ZAGMAISTER M.; FERREIRA R. L. Two new Amphipod families recorded in South America shed light on an old biogeographical enigma. **Syst and Bio**, [S.I], v. 2, n. 11, p. 117-139. jun. 2013.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to Conservation Genetics**. Cambridge University Press, 2010.

FREEMAN, S.; HERRON, J. C. **Evolutionary Analysis**. [S.I]: Pearson, 2013.

FUTUYMA, D. J.; KIRKPATRICK, M. **Evolution**. [S.I]: Sinauer Associates, 2017.

GILBERT, J.; DEHARVENG, L. Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity. **BioScience**, [S.I], v. 6, n. 52, p. 473-481. 2002.

HELLMANN, L. L.; FERREIRA, R. L. Two new sympatric troglobitic freshwater flatworms (Platyhelminthes: Dugesiidae) from a hotspot of subterranean biodiversity in the Neotropics. **Zootaxa**, [S.I], v. 3, n. 4438, p. 561. jun. 2018.

HIROSE, G. L.; *et al.* Comparison of body size, relative growth and size at onset sexual maturity of *Uca uruguayensis* (Crustacea: Decapoda: Ocypodidae) from different latitudes in the south-western Atlantic. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, [S.I] v. 93, n. 3, p. 781–788, maio. 2013.

HOWARTH, F. G. Ecology of cave arthropods. *Annual Review of Entomology*, [S.I], v. 1, n. 28, p. 365-389. 1983.

JONES, R.; CULVER D. C.; KANE, T. C. Are parallel morphologies of cave organisms the result of similar selection pressures?. *Evolution*, [S.I], v. 4, n. 46, p. 353-365. Abr. 1992.

JUAN, C.; GUZIK, M.T.; JAUME, D.; COOPER, S.J. Evolution in caves: Darwin's 'wrecks of ancient life' in the molecular era. *Mol Ecol*. [S.I], v. 19, n. 18, p. 3865-80. set. 2010.

LIMA, N. R. W. L. *et al.* Plasticidade fenotípica. *Revista de Ciência Elementar*, [S.I], v. 5, n. 2, jun. 2017.

LUNGI, E.; MANENTI, R. Cave Communities: From the Surface Border to the Deep Darkness. *Diversity*, [S.I], v. 12, n. 5, p. 167. abr. 2020.

MARCHESSAUX, G.; GJONI, V.; SARÀ, G. Environmental drivers of size-based population structure, sexual maturity and fecundity: A study of the invasive blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) in the Mediterranean Sea. *PLOS ONE*. [S.I], v. 18, n. 8, p. e0289611–e0289611. ago. 2023.

NITZU, E. Microhabitats - integrative environmental factors for species communities of Coleoptera in the karst landscape. *Biologia*, [S.I], v. 76, n. 6, p. 1775–1783, fev. 2021.

POULSON, T. L.; WHITE W. B. The cave environment. *Science*, [S.I], v. 3897, n. 165, p. 971-981, set. 1969.

PROTAS, M.; JEFFERY, W. R. Evolution and development in cave animals: from fish to crustaceans. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, [S, I], v. 1, n. 6, p. 823-845. nov. 2012.

RELYEA, R. A. The lasting effects of adaptive plasticity: Predator-induced tadpoles become long-legged frogs. **Ecology**, [S.I], v. 7, n. 82, p. 1947-1955. 2001.

ROCHA, M. A. L. **Taxonomia iterativa de crustáceos troglóbios do gênero Potiberaba Fišer, Zagmajster & Ferreira 2013 (Crustacea: Amphipoda) na Caatinga**. 2021. 66 p. Dissertação (Mestrado em Sistemática e Evolução) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021.

RODAS, L. R. *et al.* Standing genetic variation as a potential mechanism of novel cave phenotype evolution in the freshwater isopod, *Asellus aquaticus*. **Evolution & Development**, [S.I], v. 25, n. 2, p. 137-152. mar. 2023.

ROMERO, A. CAVES AS BIOLOGICAL SPACES. **Polymath: An Interdisciplinary Arts and Sciences Journal**, [S.I], v. 2, n. 3, jan. 2012.

ROMERO, A. **Cave Biology: Life in Darkness**. Cambridge University Press, 2009.

RUSZCZYK, M. **Crustacean Behavior and Morphology in Low and Intermediate Reynolds Number Environments**. Dissertação (Doutorado em Filosofia com especialização em Ciência e Engenharia Oceânica) – Georgia Institute of Technology. Georgia. 2022.

SANTOS, N. M. C. **Novas espécies de Trogolophysa Mills (Arthropoda: Collembola) de um complexo de cavernas em Minas Gerais, Brasil**. 2020. 95 p. Dissertação (Mestrado em Sistemática e Evolução) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.

TRONTELJ, P. Adaptation and natural selection in caves. In: WHITE, William B.; CULVER, David C.; PIPAN, Tanja. *Encyclopedia of Caves*. Cambridge: American Press, 2019. P. 40-46.

TRONTELJ, P.; FISER, C. Perspectives on the distribution of genetic diversity in subterranean aquatic fauna. *Biodiversity and Conservation*, [S.I.], v. 2, n. 18, p. 303-316. 2009.

WHITE W. B.; CULVER D. C. **Encyclopedia of caves**. [S.I]: Academic Press, 2011.

ZAMUDIO, K. R.; BELL, R. C.; MASONA, N. A. Phenotypes in phylogeography: Species' traits, environmental variation, and vertebrate diversification. *PNAS*, [S.I.], v. 113, n. 29, p. 8041-8048, jul. 2016.

ZHOU, Z. *et al.* Comparative transcriptomics analyses of chemosensory genes of antenna in male red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [S.I.], v. 10, set. 2022.