



35^o
Bonito - MS

ANAIS do 35^o Congresso Brasileiro de Espeleologia
19 - 22 de julho de 2019 - ISSN 2178-2113 (online)



O artigo a seguir é parte integrando dos Anais do 35^o Congresso Brasileiro de Espeleologia disponível gratuitamente em www.cavernas.org.br.

Sugerimos a seguinte citação para este artigo:

BENTO, D.M. et al. Um oásis no semiárido nordestino: o Lajedo do Rosário, em Felipe Guerra/RN, como um novo hotspot de biodiversidade subterrânea. In: ZAMPAULO, R. A. (org.) CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 35, 2019. Bonito. *Anais...* Campinas: SBE, 2019. p.560-575. Disponível em: <http://www.cavernas.org.br/anais35cbe/35cbe_560-575.pdf>. Acesso em: *data do acesso*.

Esta é uma publicação da Sociedade Brasileira de Espeleologia.
Consulte outras obras disponíveis em www.cavernas.org.br

UM OÁSIS NO SEMIÁRIDO NORDESTINO: O LAJEDO DO ROSÁRIO, EM FELIPE GUERRA/RN, COMO UM NOVO HOTSPOT DE BIODIVERSIDADE SUBTERRÂNEA

AN OASIS IN THE NORTHEAST OF BRAZIL: THE ROSARIO OUTCROP, IN FELIPE GUERRA/RN, AS A NEW UNDERGROUND BIODIVERSITY HOTSPOT

Diego de Medeiros BENTO (1, 2); Sérgio Maia Queiroz LIMA (2); Marconi SOUZA-SILVA (3); Rodrigo Lopes FERREIRA (3)

- (1) Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas – CECAV/ICMBio.
- (2) Programa de Pós-Graduação em Sistemática e Evolução – UFRN.
- (3) Centro de Estudos em Biologia Subterrânea – CEBS/UFLA.

Contatos: diego.bento@icmbio.gov.br.

Resumo

Cavernas são caracterizadas como ambientes oligotróficos, extremos e incapazes de abrigar uma fauna diversificada, mas sabe-se atualmente que áreas cársticas podem exibir considerável diversidade subterrânea. Atualmente são reconhecidos 38 *hotspots* de biodiversidade subterrânea, somente dois no Brasil. O Oeste Potiguar se destaca pela riqueza de troglóbios, com grande concentração em um afloramento calcário, o lajedo do Rosário em Felipe Guerra. A distribuição de alguns troglóbios, particularmente *Kinnapotiguara troglobia*, em diferentes cavernas no afloramento pode indicar conectividade biológica e continuidade do habitat subterrâneo. Este estudo objetiva apresentar a diversidade da fauna troglóbica do lajedo do Rosário e, com base na distribuição de haplótipos do gene COI de *K. troglobia* comprovar, utilizando análises filogeográficas, a hipótese de que é um habitat subterrâneo contínuo e um hotspot de biodiversidade subterrânea. Foram registradas 23 espécies troglóbicas em 9 cavernas no afloramento. Sequências parciais do COI com 608 pb foram obtidas de 83 indivíduos e identificamos 9 haplótipos separados por várias mutações únicas de cada caverna, à exceção de um haplótipo compartilhado entre 3 cavernas no lajedo do Rosário. As distâncias genéticas variaram de 0 (cavernas no lajedo do Rosário) a 15%, indicando alta estruturação populacional decorrente de longo isolamento, podendo se tratar de um complexo de espécies. Os valores de Φ_{ST} apontam o isolamento de populações (ou linhagens) em cada caverna, exceto no lajedo do Rosário. Testes de variância molecular (AMOVA e SAMOVA) indicaram que a variação genética é explicada pela distribuição das cavernas nos lajedos. Os resultados indicam fluxo de indivíduos/genético de *K. troglobia* entre cavernas e o lajedo do Rosário pode ser considerado um *hotspot* de biodiversidade subterrânea. Estes resultados, aliados à crescente pressão em função de atividades antrópicas, denotam a necessidade urgente de criação de uma UC na área.

Palavras-Chave: filogeografia; troglóbios; Caatinga; Código de Barras de DNA; *Kinnapotiguara troglobia*.

Abstract

Caves are characterized as oligotrophic environments, extreme and incapable of harboring a diverse fauna, but it is now known that karst areas may exhibit considerable underground diversity. Currently, 38 hotspots of underground biodiversity are recognized, only two in Brazil. The West Potiguar stands out for the richness of troglobites, with great concentration in a limestone outcrop, the lajedo do Rosário in Felipe Guerra. The distribution of some troglobites, particularly Kinnapotiguara troglobia, in different caves in the outcrop may indicate biological connectivity and continuity of the subterranean habitat. This study aims to present the diversity of the troglobite fauna of the lajedo do Rosário, based on the distribution of haplotypes of the COI gene of K. troglobia, to prove, using phylogeographic analyzes, the hypothesis that it is a continuous underground habitat and a hotspot of underground biodiversity. 23 troglobite species were recorded in 9 caves in the outcrop. Partial COI sequences with 608 bp were obtained from 83 individuals and we identified 9 haplotypes separated by several single mutations from each cave, except for one haplotype shared between 3 caves in the lajedo do Rosário. Genetic distances ranged from 0 (caves in the lajedo do Rosário) to 15%, indicating a high population structure due to long isolation, which may be a complex of species. The values of Φ_{ST} indicate the isolation of populations (or lineages) in each cave, except in the lajedo do Rosário. Tests of molecular variance (AMOVA and SAMOVA) indicated that the genetic variation is explained by the distribution of the caves in the outcrops. The results indicate individual /

genetic flow of K. troglobia between caves and the lajedo do Rosário can be considered a hotspot of subterranean biodiversity. These results, together with the increasing pressure due to anthropic activities, indicate the urgent need to create a Conservation Unit in the area.

Keywords: *phylogeography; troglobites; Caatinga; DNA barcoding; Kinnapotiguara troglobia.*

1. INTRODUÇÃO

Os ambientes subterrâneos são sistemas sujeitos a intercâmbios nas condições atmosféricas, recursos alimentares e fauna, com os sistemas adjacentes superficiais (Culver 1982), diferindo singularmente destes pela tendência a uma elevada estabilidade na temperatura e umidade e ausência permanente de luz nos locais mais profundos e distantes da superfície (Culver 1982, Culver & Pipan 2009). A produção restringe-se a recursos autóctones secundários e, raramente, quimiossíntese e crescimento de raízes que atingem os sistemas subterrâneos (Howarth 1983, Ferreira et al. 2007, Schneider et al. 2011, Souza-Silva et al. 2012). Assim, as cavernas são comumente ambientes oligotróficos, já que as vias de importação geralmente não são eficientes e tendem a não transportar grandes quantidades de recursos regularmente, de forma que os organismos que vivem no meio hipógeo devem apresentar adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais, geralmente ligadas às limitações físicas e à disponibilidade de recursos alimentares (Culver 1982, Holsinger & Culver 1988, Culver & Pipan 2009).

Em função destas limitações, os ecossistemas subterrâneos por muito tempo foram considerados ambientes extremos e incapazes de abrigar uma fauna diversificada (Gilbert & Deharveng 2002, Simon et al. 2007), mas sabe-se atualmente que sistemas cársticos podem abrigar uma ampla diversidade de habitats e uma rica fauna de vertebrados e invertebrados, atraindo atenção ainda devido à sua singularidade biológica, endemismos e importância evolutiva (Culver & Pipan 2009, Chertoprud et al. 2016, Glanville et al. 2016). Os organismos encontrados no meio subterrâneo podem ser considerados acidentais, usar as cavernas somente durante parte do dia (troglóxenos) ou completar seu ciclo de vida dentro ou fora das cavernas (troglófilos). Entretanto, algumas espécies não ocorrem em habitats epígeos, apresentando especializações para a vida exclusiva em cavernas (troglóbios) (Culver 2001, Christiansen 2005, Culver & Pipan 2009).

No intuito de indicar áreas de grande relevância bioespeleológica, Culver e Sket (2000) introduziram o conceito de *hotspots* de biodiversidade subterrânea – cavernas ou sistemas

de cavernas com 20 ou mais espécies troglóbias – e identificaram 20 localidades que atenderam ao critério. Posteriormente, Culver e Pipan (2009) identificaram outros 16 hotspots, no entanto nenhum havia sido identificado na região neotropical até Souza-Silva & Ferreira (2016) inserirem a Toca do Gonçalo (Bahia) e o Sistema Areias (São Paulo) na seleta lista. Diversos outros hotspots podem existir no Brasil tendo em vista que os habitats subterrâneos tropicais não são tão bem estudados como os temperados e a maioria dos esforços de amostragem encontram-se concentrados em poucas regiões do país (Souza-Silva & Ferreira 2016, Souza-Silva et al. 2015, Souza et al. 2017, Trajano & Bichuette 2010).

A grande heterogeneidade ambiental do bioma Caatinga e a singularidade de alguns de seus ambientes permitem prever uma rica fauna de invertebrados, com muitas espécies endêmicas (Bento 2011). Entretanto, a escassez de estudos tem mantido a incerteza da real diversidade para o bioma e, apesar de alguns trabalhos com foco em invertebrados terem sido conduzidos em ecossistemas de superfície (Araújo et al. 2010, Leal et al. 2010, Vasconcellos et al. 2010), a fauna subterrânea e as condições e recursos que determinam esta biodiversidade ainda permanecem quase que totalmente negligenciadas (Ferreira et al. 2010). Trata-se, portanto, de importante lacuna de conhecimento tendo em vista que a Caatinga representa uma das maiores savanas do mundo, abrangendo cerca de 735.000 km² da região Nordeste do Brasil (Prado 2003). É o único bioma exclusivamente brasileiro, o que significa que grande parte do patrimônio biológico dessa região não é encontrada em outro lugar do mundo, exceto no nordeste do Brasil (Silva et al. 2004).

Estudos recentes, no entanto, têm apontado grande relevância bioespeleológica de algumas áreas cársticas na Caatinga, como as regiões de Campo Formoso (Souza-Silva & Ferreira 2016), Chapada Diamantina (Gallão & Bichuette 2015) e Serra do Ramalho (Trajano et al. 2016), na Bahia, e o Oeste do Rio Grande do Norte (Ferreira et al. 2010, Bento 2011, Bento et al. 2016).

O Oeste Potiguar se destaca pela riqueza de espécies troglóbias, incluindo as únicas consideradas relictos oceânicos no país, resultado de uma combinação única no Brasil com a presença de um aquífero cárstico em uma região atualmente

semiárida marcada por mudanças climáticas no Quaternário e por transgressões e regressões oceânicas no Paleoceno e Mioceno (Bento 2011, Bezerra et al. 2003, Cruz et al. 2009, Ferreira et al. 2010, Rosseti et al. 2013, Wang et al. 2004).

Parte considerável desta riqueza encontra-se em um único afloramento calcário, o lajedo do Rosário no município de Felipe Guerra. Este afloramento possui a maior concentração de cavernas da região (73) e pelo menos cinco espécies troglóbias ocorrem em duas ou mais cavernas em áreas distintas no afloramento – o que pode indicar a existência de conectividade subterrânea, fato que possibilitaria considerar o lajedo do Rosário como um sistema de cavernas, um habitat subterrâneo contínuo.

Dentre as espécies troglóbias do lajedo do Rosário está *Kinnapotiguara troglobia* Hoch & Ferreira, 2013 (Hemiptera: Fulgoromorpha: Kinnaridae), com ocorrência registrada até o momento em cinco cavernas distribuídas por toda a extensão do afloramento. A espécie é registrada em outras dez cavernas nos municípios vizinhos de Felipe Guerra e Governador Dix-Sept Rosado, em uma área relativamente grande de 130 km². Tal distribuição poderia ser explicada pela possível existência de conectividade entre as cavernas da região, que seria mantida por um sistema de micro e mesocavernas, de certa forma semelhante ao MSS (meio subterrâneo superficial), permitindo a dispersão subterrânea e mantendo o fluxo gênico entre as populações como observado para várias espécies troglóbias em diferentes regiões do mundo (Hoch & Ferreira 2013, Juberthie et al. 1980, Juberthie 2000, Racovitza 1983).

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo apresentar a diversidade da fauna troglóbia do lajedo do Rosário, em Felipe Guerra/RN. Além disto, com base na distribuição das populações de *K. troglobia*, objetiva comprovar, utilizando ferramentas moleculares e análises filogeográficas, a hipótese de que o lajedo do Rosário é funcionalmente um habitat subterrâneo contínuo e deve ser considerado um hotspot de biodiversidade subterrânea.

2. METODOLOGIA

Área de Estudo

O Lajedo do Rosário está localizado na margem esquerda do rio Apodi-Mossoró, nas proximidades do Distrito de Passagem Funda e a 9 km a nordeste da sede do Município de Felipe Guerra. O afloramento tem em torno de 1,5 km de

extensão (no sentido NE-SW) e 500 m (no sentido N-S) de largura, ocupando uma área de apenas 0,7 km² (Carneiro et al. 2015). É um afloramento calcário do Grupo Apodi/Formação Jandaíra, que é a mais extensa área de afloramento de carbonatos fanerozóicos do Brasil, cujas rochas constituem uma rampa carbonática que aflora em praticamente toda a porção emersa da Bacia Potiguar incluindo a porção norte do Rio Grande do Norte e Nordeste do Ceará. Esta rampa foi submetida, durante e após sua deposição, a diversos episódios de soergimento provocando exposição subaérea e erosão que resultaram em intensa carstificação e dissolução (Bertani et al. 1990; Bezerra et al. 2007).

Levantamento da fauna troglóbia

O levantamento da fauna troglóbia do lajedo do Rosário foi realizado a partir da literatura publicada (Ferreira et al. 2010, Bento 2011, Hoch & Ferreira 2013, Ázara & Ferreira 2014, Leal-Zanchet et al. 2014, Bento et al. 2016). Os dados das cavernas onde houve inventário bioespeleológicos estão na Tabela 1.

Tabela 1: Relação das cavernas no lajedo do Rosário com inventários bioespeleológicos.

| Nome da caverna | Sigla | Coordenadas | |
|------------------------|-------|----------------|----------------|
| | | Latitude (S) | Longitude (W) |
| Gruta dos Troglóbios | TRO | 05° 33' 24.27" | 37° 39' 40.57" |
| Gruta dos Crotos | CRO | 05° 33' 38.77" | 37° 39' 31.54" |
| Caverna Abissal | ABI | 05° 33' 51.06" | 37° 39' 57.29" |
| Gruta da Carrapateira | CAR | 05° 33' 38.22" | 37° 39' 50.32" |
| Gruta da Catedral | CAT | 05° 33' 50.49" | 37° 39' 57.37" |
| Caverna Complexo Suíço | CCS | 05° 33' 42.50" | 37° 39' 38.70" |
| Gruta do Chocalho | CHO | 05° 33' 36.77" | 37° 39' 39.36" |
| Gruta da Descoberta | DBT | 05° 33' 47.68" | 37° 39' 55.50" |
| Gruta Geraldo Gusso | GEG | 05° 33' 40.64" | 37° 39' 50.45" |

Coleta de espécimes de *K. troglobia*

Indivíduos de *K. troglobia* foram coletados manualmente em 11 das 15 cavernas com ocorrência da espécie, fixados em etanol absoluto (99,5% P.A) e armazenados sob refrigeração (-20° C). Os dados das cavernas com ocorrência registrada da espécie, bem como das cavernas de onde foram amostrados indivíduos para este estudo, estão na Tabela 2.

Tabela 2: Relação das cavernas com ocorrência de *Kinnapotiguara troglobia*. As linhas destacadas indicam as cavernas com indivíduos amostrados para este estudo.

| Nome da caverna | Sigla | Afloramento | Município | Coordenadas | |
|-------------------------------|-------|-------------|----------------------|----------------|----------------|
| | | | | Latitude (S) | Longitude (W) |
| Gruta dos Troglóbios | TRO | Rosário | Felipe Guerra | 05° 33' 24.27" | 37° 39' 40.57" |
| Gruta dos Crotes | CRO | Rosário | Felipe Guerra | 05° 33' 38.77" | 37° 39' 31.54" |
| Caverna Complexo Suíço | CCS | Rosário | Felipe Guerra | 05° 33' 42.50" | 37° 39' 38.70" |
| Gruta da Descoberta | DBT | Rosário | Felipe Guerra | 05° 33' 47.68" | 37° 39' 55.50" |
| Gruta Geraldo Gusso | GEG | Rosário | Felipe Guerra | 05° 33' 40.64" | 37° 39' 50.45" |
| Lapa I/Engano | LIE | Lapa | Felipe Guerra | 05° 33' 41.89" | 37° 41' 42.25" |
| Caverna dos dois | CDS | Alfredo | Felipe Guerra | 05° 34' 06.51" | 37° 40' 50.42" |
| Gruta da Rumana | RUM | Rumana | Felipe Guerra | 05° 33' 54.25" | 37° 39' 07.13" |
| Buraco Redondo | BRD | Meio | Felipe Guerra | 05° 34' 42.98" | 37° 39' 04.99" |
| Caverna da Seta | SET | Arapuá | Felipe Guerra | 05° 32' 40.23" | 37° 38' 03.10" |
| Caverna do Arapuá | ARA | Arapuá | Felipe Guerra | 05° 31' 48.25" | 37° 36' 58.47" |
| Caverna da Bota | BOT | Arapuá | Felipe Guerra | 05° 31' 30.85" | 37° 37' 05.29" |
| Gruta Boca de Peixe | BPX | Bonito | Gov. Dix-Sept Rosado | 05° 29' 04.45" | 37° 33' 29.62" |
| Gruta do Poço Feio | PFE | Bonito | Gov. Dix-Sept Rosado | 05° 29' 15.51" | 37° 33' 33.40" |
| Caverna do Marimbo do Caboclo | MAC | Angicos | Gov. Dix-Sept Rosado | 05° 29' 44.11" | 37° 32' 42.24" |

Extração, amplificação e sequenciamento de DNA

O DNA total foi extraído de tecidos de indivíduos de *K. troglobia* preservados em etanol absoluto utilizando o kit DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen). Foram obtidas sequências parciais do gene Citocromo C Oxidase subunidade I (COI), amplificadas por reação em cadeia da polimerase (PCR) com os primers descritos por Folmer et al. (1994). Todos os produtos de PCR foram primeiramente visualizados em gel de agarose 1,2% e posteriormente utilizados em uma reação de PCR de sequenciamento utilizando o Kit "Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction" (Applied Biosystems). Após a amplificação, os produtos da PCR foram novamente purificados por precipitação em EDTA/Acetato de sódio/etanol e analisados em um sequenciador de DNA automático, modelo ABI 3730-Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Análises dos dados

Após a edição dos eletroferogramas, as sequências de consenso foram alinhadas usando ClustalW (Thompson et al. 1994), implementado no programa Mega 7.0 (Kumar et al. 2016), e seguido por inspeção visual para ajustes finais. Distâncias genéticas foram estimadas com o modelo de substituição K2P, usando o MEGA 7.0.

A partir de análise de distribuição de haplótipos realizada com o programa DNAsp v.5 (Librado & Rozas 2009) foi construída uma rede de haplótipos por meio do software PopArt (Leigh and Bryant 2015) utilizando TCS Network.

Dados de dinâmica populacional (estruturação populacional e fluxo gênico) de *K. troglobia* em

cada caverna foram estimados por meio dos testes de neutralidade D de Tajima (Tajima, 1989), Fs de Fu (Fu, 1997), diversidade nucleotídica (π) e haplotípica (h), além do índice de fixação (Φ_{ST}), calculados com o software Arlequin 3.5 (Excoffier e Lischer, 2010).

Também com uso do Arlequin 3.5, a análise de variância molecular (AMOVA) foi utilizada para avaliar quanto da variação genética em *K. troglobia* poderia ser explicada pela distribuição das cavernas nos afloramentos calcários (Tabela 2). A análise espacial de variância molecular (SAMOVA) (Dupanloup, Schneider, & Excoffier, 2002) foi usada para incorporar informação geográfica à AMOVA, a fim de explorar possíveis padrões de particionamento genético não reconhecidos em toda a área analisada, buscando determinar o número de linhagens.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fauna troglóbia do lajedo do Rosário

Um total de 23 morfoespécies troglóbias / estigóbias encontra-se registrado na literatura para nove cavernas amostradas no Lajedo do Rosário, pertencentes aos seguintes taxa: Araneae (3), Opiliones (1), Pseudoscorpiones (1), Diplopoda (1), Chilopoda (3), Isopoda (4), Amphipoda (2), Copepoda (1), Ostracoda (1), Collembola (2), Coleoptera (1), Hemiptera (1), Oligochaeta (1) e Tricladida (1).

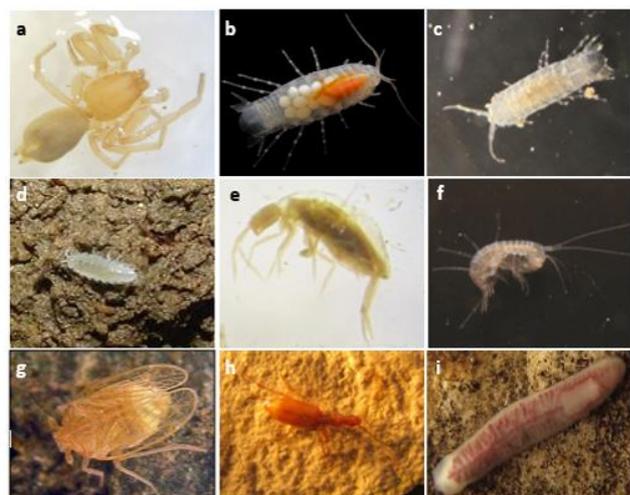


Figura 1: Algumas espécies troglóbias que ocorrem no lajedo do Rosário: Araneae sp.n. (a), Cirolanidae sp1.n. (b), Cirolanidae sp2.n. (c), Styloniscidae sp.n.(d), *Cyphoderus* sp.n. (e), *Potiberaba porakuara* (f), *Kinnapotiguara troglobia* (g), Carabidae sp.n. (h) e *Hausera hauseri* (i).

Os invertebrados terrestres são maioria, com 14 morfoespécies, e há nove morfoespécies estigóbias (incluindo cinco que são consideradas relictos oceânicos) (Tabela 3; Figura 1). Apenas quatro espécies estão formalmente descritas: *Kinnapotiguara troglobia* (Hemiptera: Fulgoromorpha), novo gênero e o segundo registro de um Kinnaridae troglóbico no Brasil (Hoch & Ferreira 2013); *Potiberaba porakuara* (Amphipoda: Mesogammaridae), novo gênero e primeiro registro da família na América do Sul (Fisër et al. 2013); *Hausera hauseri* (Platyhelminthes: Tricladida),

novo gênero e primeiro registro da subordem Cavernicola na América do Sul (Leal-Zanchet et al. 2014) e *Newportia potiguar* (Scolopendromorpha: Scolopocryptopidae) (Ázara & Ferreira 2014). Assim, o lajedo do Rosário concentra mais de 1/3 das 62 morfoespécies troglomórficas registradas até o momento para toda a formação Jandaíra (Ferreira et al. 2010, Bento 2011), além das duas cavernas com o maior número de troglóbios – a gruta dos Troglóbios (11 espécies) e a caverna dos Crotes (8).

Tabela 3: Distribuição da fauna troglóbica do lajedo do Rosário nas diferentes cavernas e habitats amostrados. T: Terrestre; A: Aquático; E: Epicarste. Siglas das cavernas conforme Tabela 1.

| TAXA | ESPÉCIE/ MORFOESPÉCIE | HABITAT | CAVERNAS | | | | | | | | | |
|------------------|---------------------------------|---------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| | | | CRO | ABI | CAR | CAT | CCS | CHO | DBT | TRO | GEG | |
| Araneae | Araneae sp.n. | T | X | | | | | X | X | | | |
| | Prodidomidae sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| | <i>Metagonia</i> sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| Opiliones | Gonyleptidae sp.n. | T | | X | | | | | | | | |
| Pseudoscorpiones | Chthoniidae sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| Diplopoda | Polydesmida sp.n. | T | | X | | | | | | | | |
| Chilopoda | Geophilomorpha sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| | Lithobiomorpha sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| | <i>Newportia potiguar</i> | T | | | | X | | | | | | X |
| Isopoda | Cirolanidae sp1.n. | A | | | | | | | | | | X |
| | Cirolanidae sp2.n. | A/E | X | | | | | | | | | |
| | Styloniscidae sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| Amphipoda | Calabozoidea sp.n. | A/E | X | | | | | | | | | |
| | <i>Potiberaba porakuara</i> | A | | | | | | | | | | X |
| | <i>Potiberaba</i> sp.n. | A/E | X | | | | | | | | | |
| Copepoda | Copepoda sp.n. | A | | | | | | | | | | X |
| Ostracoda | Ostracoda sp.n. | A/E | | X | | | | | | | | |
| Collembola | <i>Arrhopalites</i> sp.n. | T | X | X | | | | | | | | |
| | <i>Cyphodenus</i> sp.n. | T | | | X | | | | X | | | |
| Coleoptera | Carabidae sp.n. | T | | | | | | | | | | X |
| Hemiptera | <i>Kinnapotiguara troglobia</i> | T | X | | | | | X | | X | X | X |
| Oligochaeta | Oligochaeta sp.n. | A/E | X | | | | | | | | | |
| Tricladida | <i>Hausera hauseri</i> | A/E | X | | | | | | | | | |

O número elevado de novas espécies troglóbicas descobertas recentemente em cavernas brasileiras e seu alto grau de troglomorfismo indicam que os eventos de mudanças climáticas na região Neotropical, mesmo que não tão severos como em regiões temperadas, podem ter levado ao isolamento de linhagens subterrâneas (Souza-Silva & Ferreira 2016). De fato, as flutuações paleoclimáticas às quais as áreas cársticas do semiárido no Nordeste foram expostas durante o Quaternário (Wang et al. 2004) são apontadas como uma das principais razões para as grandes concentrações de troglóbios em regiões na Bahia como Serra do Ramalho, São Desidério, Chapada Diamantina e Campo Formoso (Gallão & Bichuete 2015, Souza-Silva & Ferreira 2016, Trajano 1995,

2001, Trajano & Bichuete 2010, Trajano et al. 2016), o que também é válido para o lajedo do Rosário e toda a Formação Jandaíra.

A presença de aquíferos e outras coleções de águas subterrâneas é frequentemente apontada como um importante fator para a alta diversidade de troglóbios (Culver & Sket 2000, Culver & Pipan 2009, 2013), e no Brasil não é diferente: Souza-Silva et al. (2015) aponta que as duas áreas com maior riqueza de troglóbios na Mata Atlântica, o quadrilátero ferrífero (Minas Gerais) e o grupo Açungui (São Paulo e Paraná) são importantes aquíferos, e o mesmo ocorre na área cárstica da Serra da Bodoquena, no Sudoeste do Brasil, uma região com grande diversidade de troglóbios e

estigóbios (Cordeiro et al. 2014, Trajano & Moracchioli 2002, Trajano et al. 2016).

Desta forma, as grandes concentrações de troglóbios geralmente estão associadas à presença de corpos d'água e/ou córregos e rios subterrâneos (Souza-Silva & Ferreira 2016, Souza-Silva et al. 2017, Trajano et al. 2016), cuja presença é ainda mais determinante nas regiões semiáridas, onde estão a maioria dos troglóbios altamente especializados encontrados no Brasil (Souza-Silva & Ferreira 2016, Trajano et al. 2016). Tais coleções aumentam a umidade e importam matéria orgânica (Souza-Silva et al. 2012) e, além de permitir a colonização e manutenção de estigóbios, podem proporcionar maior riqueza de troglóbios terrestres (Simões et al. 2015).

Além de possuir as características acima citadas, as cavernas no lajedo do Rosário não estão sujeitas a inundações (Bento et al. 2016). Tais eventos podem causar distúrbios no aporte de nutrientes e no fluxo de indivíduos que entram e saem das cavernas, aumentando o fluxo gênico e dificultando a especiação (Simões et al. 2015, Souza-Silva et al. 2011), de forma que cavernas sujeitas a inundações extremas geralmente não apresentam muitas espécies troglóbias (Elliott 2004). Assim, o lajedo do Rosário deve ter conservado um ambiente com alta estabilidade ambiental e de aporte de nutrientes, mantidos tanto pela presença de corpos d'água subterrâneos como por agentes físicos e biológicos (como os morcegos,

por exemplo), favorável à evolução e manutenção da riqueza de troglóbios atualmente registrada.

Mas o que torna a formação Jandaíra única no Brasil é o histórico de transgressões e regressões oceânicas, com vastos registros geológicos, paleontológicos e uma comunidade de estigóbios relictos oceânicos como testemunhos (Ferreira et al. 2010, Fisler et al. 2013, Leal-Zanchet et al. 2014, Souza et al. 2018). Souza-Silva & Ferreira (2016) citam a importância de mecanismos de isolamento alternativos a eventos paleoclimáticos (tais como transgressões/regressões oceânicas) na evolução de muitas linhagens subterrâneas no Brasil.

Além disso, a fauna aquática relictada, além da anquialina, tem contribuição importante para a elevada riqueza de troglóbios em alguns países da América Tropical como Guatemala, Belize e México (Deharveng & Bedos 2000). De fato, os relictos oceânicos representam 62% (13 de 21 espécies) da fauna de estigóbios da formação Jandaíra (Bento 2011), e 56% (cinco das nove espécies) no lajedo do Rosário (Figura 2).

Assim, a riqueza e a singularidade biológica da fauna subterrânea no lajedo do Rosário, com destaque para a quantidade e concentração de troglóbios e presença de relictos, provavelmente resulta de uma combinação de fatores geológicos, hidrogeológicos, topográficos e paleoclimáticos única no Brasil, configurando-se como um verdadeiro oásis de biodiversidade subterrânea no semiárido brasileiro.

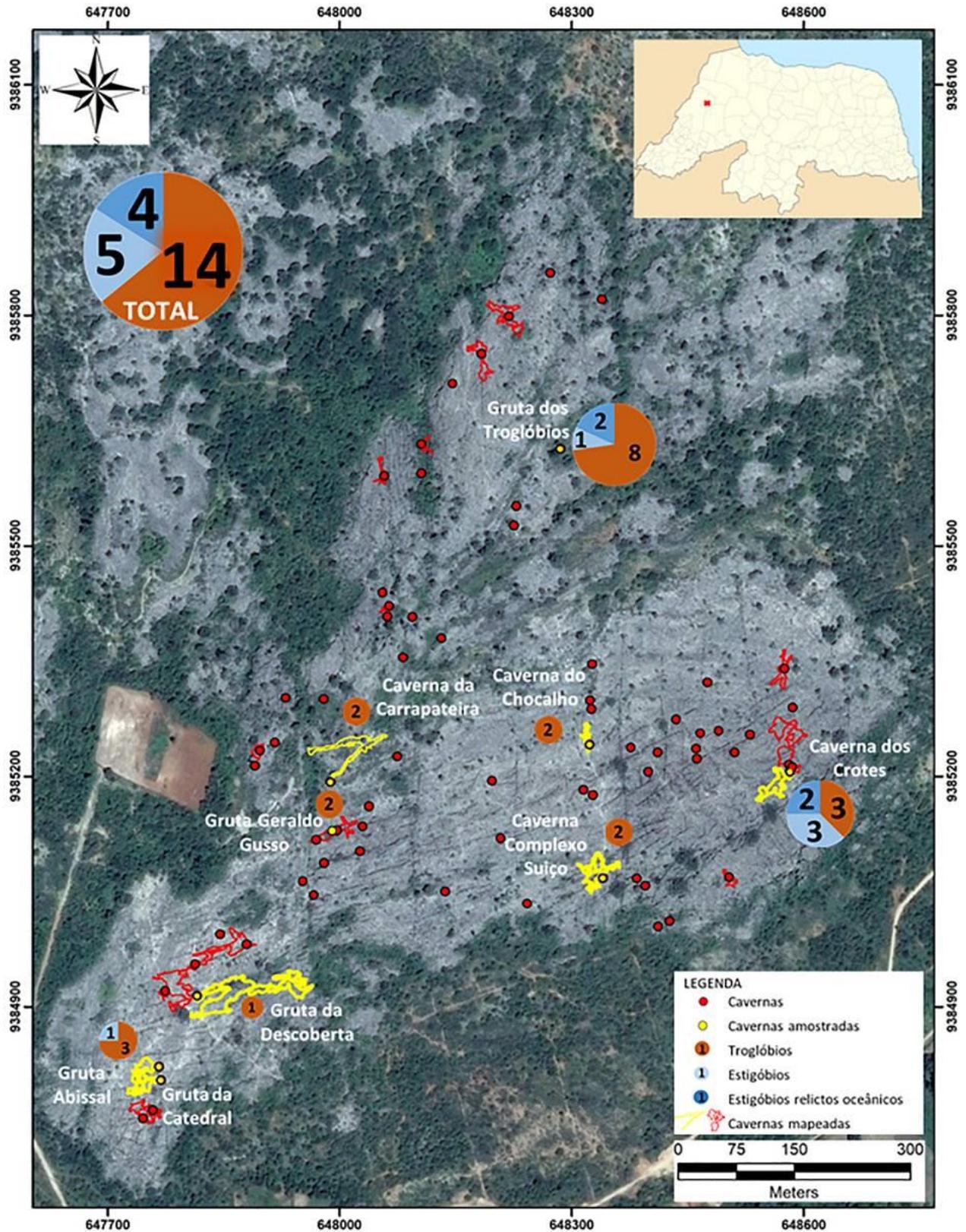


Figura 2: Distribuição da fauna troglóbica e das cavernas no lajedo do Rosário.

Lajedo do Rosário: Habitat subterrâneo contínuo

O Lajedo do Rosário tem 1,5 km de extensão e 500 m de largura, ocupando uma área de apenas 0,7 km² (Carneiro et al. 2015) onde há 73 cavernas cadastradas (CECAV/CANIE 2019), das quais apenas 25 estão mapeadas. Há ainda uma enorme concentração de outras cavidades geradas pela dissolução cárstica como 241 dolinas, 98 uvalas (dolinas colmatadas), 219 sumidouros e 724 condutos horizontais (vales cársticos, alguns chegando a mais de 150 metros), sendo que todas estas estruturas cársticas têm correlação geométrica e espacial com fraturas interconectadas, as feições estruturais mais comuns no lajedo (Carneiro et al. 2015). Isso aliado ao fato de que pelo menos cinco espécies troglóbias ocorrem em mais de uma caverna, sendo que *K. troglobia* ocorre em pelo menos cinco, distribuídas praticamente ao longo de todo o afloramento (Tabela 3), leva a crer que o lajedo do Rosário é um modelo análogo a um agrupamento de cavernas interconectadas por juntas e fraturas e constitui um habitat subterrâneo contínuo. Tal hipótese foi corroborada com o uso de análises filogeográficas.

Foram obtidas sequências parciais do gene Citocromo Oxidase Subunidade I com 608 pares de bases de 83 indivíduos de *K. troglobia*, coletados em 11 cavernas. Foram identificados nove haplótipos, geralmente separados por vários passos mutacionais e únicos de cada caverna, com exceção do haplótipo 3 - compartilhado entre três cavernas no lajedo do Rosário. As distâncias genéticas variaram de 0 (cavernas no lajedo do Rosário) a 15% (Figura 3), e os valores de Φ_{ST} apontam o isolamento de populações (linhagens) em cada caverna (com exceção, mais uma vez, para as três cavernas amostradas no lajedo do Rosário) (Tabela 4). Tais resultados apontam uma estruturação populacional extrema e que, preliminarmente, *K. troglobia* pode ser na verdade um complexo com pelo menos seis espécies – uma em cada afloramento calcário, e que o rio Apodi-Mossoró funciona como uma barreira, hipóteses a serem testadas com o aprofundamento dos estudos. A ausência de sítios polimórficos entre as sequências de indivíduos de uma mesma caverna (e a consequente ausência de diversidade haplotípica e nucleotídica) tornam desnecessários os dados de diversidade genética e testes de neutralidade.

Tabela 4: Valores de Φ_{ST} para as sequências COI (abaixo da diagonal) e distância linear (em km, acima da diagonal) entre as localidades de *Kinnapotiguara. troglobia* nas cavernas amostradas. Siglas das cavernas conforme Tabela 2. * $p < 0.05$.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------|--------|--------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
| 1. LIE | - | 1.75 | 3.28 | 4.04 | 3.78 | 7.00 | 9.40 | 9.43 | 4.79 | 17.12 | 17.39 |
| 2. CDS | 1.000* | - | 1.78 | 2.60 | 2.51 | 5.79 | 8.31 | 8.42 | 3.20 | 16.15 | 16.43 |
| 3. DBT | 1.000* | 1.000* | - | 0.82 | 0.85 | 4.04 | 6.57 | 6.72 | 1.51 | 14.43 | 14.72 |
| 4. CRO | 1.000* | 1.000* | 0.000 | - | 0.51 | 3.23 | 5.78 | 5.94 | 0.88 | 13.64 | 13.93 |
| 5. TRO | 1.000* | 1.000* | 0.000 | 0.000 | - | 3.29 | 5.80 | 5.91 | 1.38 | 13.64 | 13.93 |
| 6. SET | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | - | 2.55 | 2.78 | 3.01 | 10.41 | 10.71 |
| 7. ARA | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | - | 0.57 | 5.54 | 7.86 | 8.16 |
| 8. BOT | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | - | 5.78 | 7.73 | 8.01 |
| 9. RUM | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | - | 13.37 | 13.68 |
| 10. PFE | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | - | 0.37 |
| 11. BPX | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | 1.000* | - |

Apesar da forte estruturação das populações, os valores significativos da AMOVA ($\Phi_{CT} = 0.927$, $p < 0.05$) sustentam a hipótese, a priori, de que o agrupamento das cavernas em afloramentos é responsável pela variação genética observada (explica 92,66% da variação) (Tabela 5).

De forma semelhante, o melhor cenário indicado pela SAMOVA (maior Φ_{CT} e valor de p mais significativo) aponta que o particionamento em oito populações explica 99,35% da variação genética ($\Phi_{CT} = 0.994$, $p=0$; Tabela 6). Tal arranjo manteve o agrupamento das populações em cavernas no lajedo do Rosário, mas separou em populações diferentes a caverna da Seta (CDS) do agrupamento entre as cavernas da Bota (BOT) e Arapuá (ARA), bem como a gruta do Poço Feio (PFE) da caverna Boca de Peixe (BPX). Isto pode

ser explicado pelo compartilhamento de um único haplótipo entre as cavernas no lajedo do Rosário e pela pequena distância genética entre as sequências de indivíduos das cavernas da Bota e Arapuá (0,2%, com mutação em apenas uma base), o que não ocorre entre as outras cavernas (distâncias genéticas superiores a 1%).

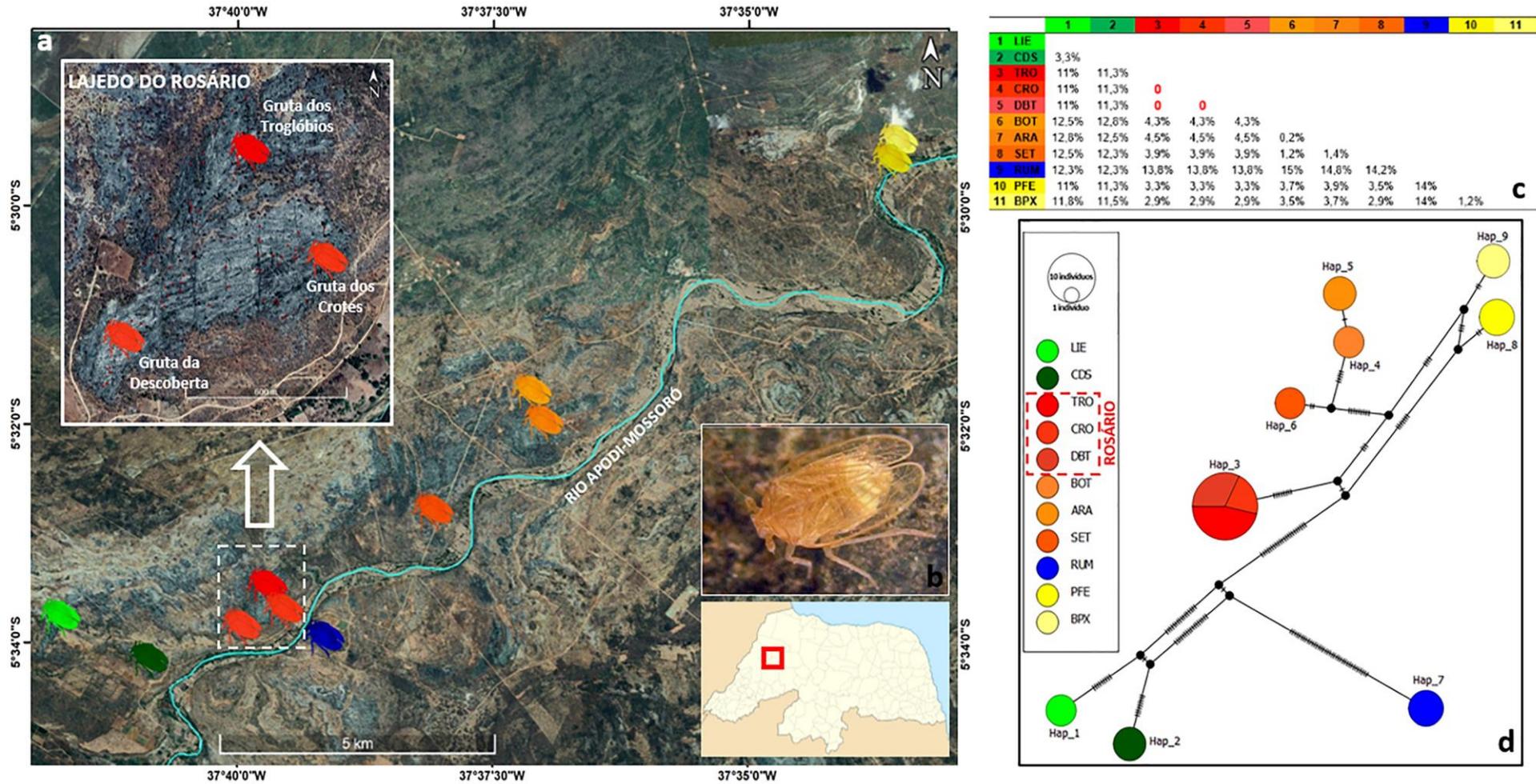


Figura 3: Distribuição das populações amostradas (a) de *Kinnapotiguara troglobia* (b), com destaque para a área do lajedo do Rosário. São apresentadas também as distâncias genéticas entre as sequências COI de indivíduos amostrados em cada caverna, com destaque para as cavernas do lajedo do Rosário (c), e a rede de haplótipos com os passos mutacionais inferidos (d). A ausência de distância genética entre as sequências de indivíduos das cavernas amostradas no lajedo do Rosário, bem como o exclusivo compartilhamento do haplótipo 3, são indícios da conectividade biológica subterrânea entre as cavernas do afloramento.

Tabela 5: Teste de análise de variância molecular (AMOVA) para avaliar quanto da variação genética observada nas sequências do COI de *Kinapotiguara troglobia* pode ser explicada pela distribuição das cavernas nos afloramentos calcários (conforme Tabela 2). * $p < 0.05$.

| Hipótese | Entre grupos | Entre populações, dentro dos grupos | Dentro das populações | Φ_{CT} |
|--|--------------|-------------------------------------|-----------------------|-------------|
| Afloramentos (TRO+CRO+DBT / LIE / CDS / RUM / SET + ARA + BOT / BPX+PFE) | 92,66 | 7.34 | 0.0 | 0.927* |

Tabela 6: Teste de análise espacial de variância molecular (SAMOVA) para avaliar as subdivisões genéticas com diferentes números de populações ($K = 2-10$) para as sequências do COI de *Kinapotiguara troglobia*. A linha destacada indica o melhor arranjo ($k=8$), sendo que o valor de p para $K=10$ é apenas marginalmente significativo. Abreviações das cavernas conforme Tabela 1. * $p < 0.05$.

| Nº de grupos (K) | Composição dos grupos | Entre grupos | Entre populações, dentro dos grupos | Dentro das populações | Φ_{CT} | p |
|------------------|---|--------------|-------------------------------------|-----------------------|-------------|------------------|
| 2 | TRO+CRO+ DBT+BOT+ARA+SET+PFE+BPX / LIE+CDS+RUM | 59.3 | 40.70 | 0.00 | 0.593* | 0.00587+-0.00260 |
| 3 | LIE+CDS+TRO+CRO+BDT+RUM / PFE+BPX / BOT+ARA+SET | 23.74 | 76.26 | 0.00 | 0.237 | 0.06549+-0.00630 |
| 4 | RUM / BOT+ARA+SET+PFE+BPX / LIE+CDS / TRO+CRO+DBT | 77.80 | 22.20 | 0.00 | 0.778* | 0.00000+-0.00000 |
| 5 | TRO+CRO+DBT / RUM / BOT+ARA+SET / PFE+BPX / LIE+CDS | 87.30 | 12.70 | 0.00 | 0.873* | 0.00000+-0.00000 |
| 6 | LIE+CDS / TRO+CRO+DBT / BOT+ARA+SET / RUM / PFE / BPX | 87.83 | 12.17 | 0.00 | 0.878* | 0.00098+-0.00098 |
| 7 | TRO+CRO+DBT / LIE / CDS / RUM / BOT+ARA+SET / PFE / BPX | 94.80 | 5.20 | 0.00 | 0.948* | 0.00000+-0.00000 |
| 8 | CDS / SET / RUM / LIE / BOT + ARA / TRO + CRO + DBT / PFE / BPX | 99.35 | 0.65 | 0.00 | 0.994* | 0.00000+-0.00000 |
| 9 | TRO+CRO / LIE / CDS / DBT / SET / BOT+ARA / RUM / PFE / BPX | 98.86 | 1.14 | 0.00 | 0.989* | 0.00391+-0.00185 |
| 10 | TRO / SET / CDS / LIE / CRO+DBT / BOT / ARA / RUM / PFE / BPX | 100 | 0.00 | 0,00 | 1.000* | 0.04497+-0.00715 |

A extensão do sistema de micro e mesocavernas na região é desconhecida e padrões locais de precipitação devem influenciar a disponibilidade de habitat. Assim, a distribuição das linhagens de *K. troglobia* pode estar relacionada a eventos climáticos pretéritos, com dispersão em períodos mais úmidos e posterior isolamento de populações ancestrais no ambiente subterrâneo com o estabelecimento de climas mais secos. De fato, a origem do mosaico geobotânico brasileiro é resultado da expansão e retração das florestas, cerrados e caatingas, provocadas pela alternância de climas úmidos/secos nas regiões tropicais durante os períodos glaciais do Quaternário (Conti & Furlan 2003). Há indícios de que a distribuição de florestas tropicais no Nordeste foi afetada por tais episódios e de que a expansão florestal durante períodos úmidos abriu corredores florestais entre a Amazônia e a Mata Atlântica que avançaram sobre a Caatinga (Wang et al. 2004). Estudos de paleoclima indicam tais alternâncias climáticas no Nordeste desde meados do Pleistoceno até o presente (Cruz et al. 2009, Wang et al. 2004), inclusive com indícios de que houve diminuição abrupta nas precipitações na área deste estudo durante a transição do meio para o final do Holoceno (entre 5000 e 4200 anos atrás) (Cruz et al. 2009).

Os resultados aqui apresentados indicam um provável fluxo de indivíduos/genético de *K. troglobia* entre as cavernas do lajedo do Rosário (ou, caso não exista atualmente, que a separação é muito recente). Isto é particularmente suportado quando se observa que há estruturação populacional e/ou grande distância genética entre indivíduos de cavernas em um mesmo afloramento e geograficamente mais próximas (como é o caso das cavernas do Arapuá e Bota, no lajedo do Arapuá, e das cavernas Boca de Peixe e Poço Feio, no lajedo do sítio Bonito). Tendo em vista o padrão extremo de estruturação populacional observado em *K. troglobia*, é razoável supor que a conectividade biológica subterrânea existente também ocorra para as outras espécies troglóbias no lajedo do Rosário.

Assim, o lajedo do Rosário pode ser considerado um sistema subterrâneo de acordo com a definição da Instrução Normativa MMA 2/2017, definido como o “conjunto de espaços interconectados da subsuperfície, de tamanhos variáveis (desde fissuras diminutas até grandes galerias e salões), formando grandes redes de espaços heterogêneos, que podem ser preenchidos por água ou ar.” (MMA 2017).

A demonstração da conectividade subterrânea aqui realizada, com o uso de *K. troglobia* como um “traçador biológico”, também está de acordo com as recomendações da Oficina sobre Área de Influência de Cavidades Naturais Subterrâneas (CECAV/ICMBio 2013). O raciocínio é análogo ao uso amplamente aceito de traçadores químicos para confirmar a conectividade hidrológica em sistemas de cavernas, inclusive usado no Sistema Areias – um dos hotspots de biodiversidade subterrânea neotropical (Sanchez 1992, Ferrari & Karmann 2008, Trajano 2007, Souza-Silva et al. 2016).

Por todos os motivos expostos, acreditamos o Lajedo do Rosário, em Felipe Guerra, é um hotspot de biodiversidade subterrânea de acordo com a definição de Culver e Sket (2000).

4. CONCLUSÕES

A região oeste da Formação Jandaíra é uma das mais relevantes do ponto de vista bioespeleológico no Brasil, com riqueza e diversidade comparáveis às demais regiões cársticas brasileiras. Destaca-se pela quantidade e concentração de espécies troglóbias, incluindo os únicos relictos oceânicos no país, resultado de uma combinação única no Brasil com a presença de um aquífero cárstico em uma região atualmente semiárida marcada por mudanças climáticas no Quaternário e por transgressões e regressões oceânicas no Paleoceno e Mioceno. Além disso, a área cárstica dos municípios de Felipe Guerra e Governador Dix-Sept Rosado, e mais especificamente o lajedo do Rosário, em Felipe guerra, pode ser considerado um hotspot de biodiversidade subterrânea.

Apesar da relevância destes resultados, somente cerca de 5% das cavernas atualmente conhecidas na área têm algum tipo de inventário bioespeleológico e isso é um forte indicativo de que a região continua pouco conhecida e do enorme potencial para novas descobertas. De fato, estudos em andamento identificaram duas novas espécies de Calabozoidea, uma de Tricladida, uma de

Cirolanidae e uma de Seborgidae, o que, somado à possibilidade de *K. troglobia* ser um complexo de ao menos oito espécies crípticas (incluindo duas cavernas para as quais ainda não foram amostrados indivíduos para estudos moleculares), pode elevar o número de espécies troglóbias da região a 73.

Os resultados trazem grandes implicações para a conservação do patrimônio espeleológico da área de estudo. Além disso, o elevado nível de endemismo da maioria dos troglóbios encontrados, além das várias espécies de relictos, oceânicos e outros como os Calabozoidea, tem um desdobramento importante em relação à aplicação da atual legislação que trata do patrimônio espeleológico (Brasil 2008, MMA 2017). Tal legislação prevê que cavernas com ocorrência de troglóbios raros, endêmicos ou relictos devem ser incluídas como de máxima relevância, o que impossibilita impactos negativos irreversíveis.

Apesar da recente criação de uma Unidade de Conservação com foco na proteção de uma importante concentração de cavernas da área de estudo, o Parque Nacional da Furna Feia (Brasil 2012), o lajedo do Rosário permanece fora de áreas protegidas. Os resultados aqui apresentados, aliados à crescente pressão às áreas de ocorrência de cavernas em função de atividades como mineração, exploração de petróleo e agricultura irrigada (inclusive com utilização de água do aquífero Jandaíra), denotam a necessidade urgente de ações voltadas à criação de uma Unidade de Conservação na área, como a proposta de criação da Área de Proteção Ambiental Pedra de Abelha (Bento et al. 2015).

5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Instituto Tecnológico Vale (ITV-DS) pelo apoio às atividades de extração de DNA, PCR e sequenciamento, bem como ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela concessão da autorização SISBIO de nº. 54334.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, V.F.P; BANDEIRA, A.G; VASCONCELLOS, A. Abundance and stratification of soil macroarthropods in a Caatinga Forest in Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, no. 3 suppl., p. 737–746, 2010. doi:10.1590/S1519-69842010000400006.
- ÁZARA, L.N; FERREIRA, R.L. Two new troglóbiont *Newportia* (*Newportia*) from Brazil (Chilopoda: Scolopendromorpha). **Zootaxa** 3881(3): 267–278, 2014. doi: 10.11646/zootaxa.3881.3.5

- BENTO, D. M. **Diversidade de invertebrados em cavernas calcárias do Oeste potiguar: subsídios para a determinação de áreas prioritárias para conservação.** Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas, CB- UFRN. 160 p., 2011.
- BENTO, D.M.; CRUZ, J.B.; FREITAS, J.I.M.; CAMPOS, U.P. Área de proteção ambiental Pedra de Abelha: proposta para a conservação da maior concentração de cavernas do Rio Grande do Norte. **Anais do 33º. Congresso Brasileiro de Espeleologia**, Campinas: SBE, 2015. p.51-63. Disponível em: http://www.cavernas.org.br/anais33cbe/33cbe_051-063.pdf.
- 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**, v. 78, no. 2, p. 61–71, 2016. DOI: 10.4311/2015LSC0111
- BERTANI, Renato Tadeu; COSTA, Iran Garcia da; MATOS, Renato Marcos Darros de. **Evolução tectono-sedimentar, estilo estrutural e habitat do petróleo na Bacia Potiguar.** GP RAJA-GABAGLIA & EJ MILANI (Coords.), Origem e evolução de bacias sedimentares. Rio de Janeiro: PETROBRAS, Editora Gávea, p. 291-310, 1990.
- BEZERRA, F.H.R.; TAKEYA, M.K.; SOUZA, M.O.L.; NASCIMENTO, A.F. Coseismic reactivation of the Samambaia fault, Brazil. **Tectonophysics**, v. 430, p. 27–39, 2007. doi:10.1016/j.tecto.2006.10.007.
- BEZERRA, F.H.R.; BARRETO, A.M.F.; SUGUIO, K. Holocene sea-level history on the Rio Grande do Norte State coast, Brazil. **Marine Geology** 196, p.73-89, 2003.
- BRASIL. Decreto n. 6.640, de 7 de Novembro de 2008. Dá nova redação aos arts. 1º, 2º, 3º, 4º e 5º e acrescenta os arts. 5-A e 5-B ao Decreto nº 99.556, de 1º de outubro de 1990. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 nov. 2008. Seção 1.
- Brasil. Decreto de 5 de junho de 2012. Dispõe sobre a criação do Parque Nacional da Furna eia, nos municípios de Baraúna e Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 jun. 2012.
- CARNEIRO, M. A., BEZERRA, F. H. R., da SILVA, C. C. N., Pinheiro, R., & CAZARIN, C. L. Controle estrutural do sistema cárstico epigenético na formação jandaíra, bacia potiguar. **Geociências (São Paulo)**, 34(2), 199-209, 2015.
- CECAV/ICMBio. **Relatório final da oficina sobre área de influência de cavidades naturais subterrâneas.** Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Instituto Chico Mendes, 9p, 2013. Disponível em: < http://www.icmbio.gov.br/cecav/images/stories/projetos-e-atividades/PAN/PAN_Cavernas_do_SF_relatorio_final_oficina_area_influencia_091013.pdf>. Acesso em 29 de março de 2019.
- CECAV/CANIE. **Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas - CANIE.** Disponível em <<http://www.icmbio.gov.br/cecav>>. Acesso em 29 de março de 2019.
- CHERTOPRUD, E.S.; PALATOV, D.M.; BORISOV, R.R.; MARINSKIY V.V.; BIZIN M.S.; DBAR R.S. Distribution and a comparative analysis of the aquatic invertebrate fauna in caves of the western Caucasus. **Subterranean Biology** 18: 49–70, 2016. doi: 10.3897/subtbiol.18.8648
- CHRISTIANSEN, K. Morphological adaptations. In: CULVER, D.C., WHITE, W. (eds) **Encyclopedia of caves.** Elsevier Academic Press, USA, pp 386–397, 2005.
- CONTI, J.B.; FURLAN, S.A. Geocologia: O Clima, os Solos e a Biota. In: ROSS, J. S.(Org.). **Geografia do Brasil.** 4. ed. 1 reimp. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003.

- CORDEIRO, L.M.; BORGHEZAN, R.; TRAJANO, E. Subterranean biodiversity in the Serra da Bodoquena karst area, Paraguay river basin, Mato Grosso do Sul, Southwestern Brazil. **Biota Neotropica** 14(3): 1–28, 2014.
- CRUZ, F. W.; VUILLE, M.; BURNS, S. J.; WANG, X.; CHENG, H.; WERNER, M.; EDWARDS, R. L.; KARMANN, I.; AULER, A. S.; NGUYEN, H. Orbitally driven eastwest antiphasing of South American precipitation. **Nature Geoscience**, 2, 210-214, 2009. doi: 10.1038/ngeo444
- CULVER, D.C. **Cave Life. Evolution and Ecology**: Cambridge, Harvard University Press, 1982
- CULVER, D. C. Subterranean ecosystems. In: LEVIN SA (ed) **Encyclopaedia of biodiversity**, vol 5. Academic Press, San Diego, pp 527–540, 2001.
- CULVER, D.C; PIPAN, T. **The biology of caves and other subterranean habitats**. Library of Congress Cataloging in Publication Data, Oxford University Press, Oxford, 2009.
- CULVER, D.C; PIPAN, T. Subterranean Ecosystems. In: LEVIN SA (Ed.) **Encyclopedia of Biodiversity** (2nd edition). Volume 7, Academic Press, Waltham, 49–62, 2013 doi: 10.1016/ B978-0-12-384719-5.00224-0
- CULVER, D.C; SKET, B. Hotspots of subterranean biodiversity in caves and wells. **Journal of Cave and Karst Studies** 62: 11–17, 2000.
- DEHARVENG, L.; BEDOS, A. The cave fauna of southeast Asia. In: WILKENS, H.; CULVER, D.C; HUMPHRIES, W.F. (Eds) **Origin, Evolution and Ecology – Subterranean Ecosystems**. Elsevier, Amsterdam, 603–32, 2000.
- DUPANLOUP, I.; SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. **Molecular ecology**, 11(12), 2571-2581, 2002.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. .L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.
- Elliott, W.R. Protecting caves and cave life. In: CULVER. D.C; WHITE, W.B. (Eds) **Encyclopedia of caves**. Elsevier Academic Press, San Diego, 458–467, 2004
- FERRARI, J. A.; KARMANN, I. Comportamento hidrodinâmico de sistemas cársticos na bacia do rio Betari, Município de Iporanga-SP. **Geologia USP. Série Científica**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2008.
- FERREIRA, R. L.; MARTINS, R. P.; PROUS, X. Structure of bat guano communities in a dry Brazilian cave. **Tropical Zoology**, v. 20, n. 1, p. 55-74, 2007.
- FERREIRA, R.L.; PROUS, X.; BERNARDI, L.F.O.; SOUZA-SILVA, M. Fauna subterrânea do Estado do Rio Grande do Norte: Caracterização e impactos. **Rev. Bras. Espeleol.** 01: 25-51, 2010
- FISĚR, C.; ZAGMAJSTER, M.; FERREIRA, R.L. Two new Amphipod families recorded in South America shed light on an old biogeographical enigma. **Systematics and Biodiversity** 11:2, 117-139, 2013.
- FOLMER, M.; BLACK, W.; HOEH, R.; LUTZ, L.; VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Mol Mar Biol Biotechnol**, v. 3, n. 5, p. 294-9, 1994.
- FU, Y.X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v. 147, n. 2, p. 915-925, 1997.

- GALLÃO, J.E; BICHUETTE, M.E. Taxonomic distinctness and conservation of a new high biodiversity subterranean area in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 87(1): 209–217, 2015. doi: 10.1590/0001-3765201520140312
- GIBERT, J.; DEHARVENG, L. Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity. **BioScience**, v. 52, n. 6, p. 473-481, 2002.
- GLANVILLE, K.; SCHULZ C.; TOMLINSON, M.; BUTLER, D. Biodiversity and biogeography of groundwater invertebrates in Queensland, Australia. **Subterranean Biology** 17: 55–76, 2016. doi: 10.3897/subtbiol.17.7542
- HOCH, H.; FERREIRA, R. L. (2013). *Potiguara troglobia* gen. n., sp. n.–first record of a troglobitic Kinnaridae from Brazil (Hemiptera: Fulgoromorpha). **Deutsche Entomologische Zeitschrift**, 60(1), 33-40, 2013.
- HOLSINGER, J. R.; CULVER, D. C. The invertebrate cave fauna of Virginia and a part of eastern Tennessee: zoogeography and ecology. North Carolina: **State Museum of Natural Sciences**, 164 p., 1988.
- HOWARTH, F.G. Ecology of cave arthropods: **Annual Review of Entomology**, v. 28, p. 365–389, 1983. doi:10.1146/annurev.en.28.010183.002053
- JUBERTHIE, C. B. The diversity of the karstic and pseudokarstic hypogean habitats in the World. In: WILKENS, H.; CULVER, D. C.; HUMPHREYS, W. F. (Ed.). **Ecosystems of the world: 30, subterranean ecosystems**. Amsterdam: Elsevier Science. p. 17-39, 2000.
- JUBERTHIE, C.; DELAY, B.; BOUILLON, M. Extension du milieu souterrain en zone non-calcaire: description d'un nouveau milieu et de son peuplement par les coleopteres troglobies. **Mémoires de Biospéologie**, Moulis, v. 7, p. 19-52, 1980.
- KUMAR, S.; STECHER, G; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, 2016.
- LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; DA SILVA, J.M.C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária UFPE, 2003.
- LEAL-ZANCHET, A. M.; DE SOUZA, S. T.; FERREIRA, R.L. A new genus and species for the first recorded cave-dwelling Cavernicola (Platyhelminthes) from South America. **ZooKeys**, n. 442, p. 1, 2014.
- LEIGH, J.W.; BRYANT, D. Popart: full-feature software for haplotype network construction. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 9, p. 1110-1116, 2015.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA. **Instrução Normativa n° 02 de 30 de agosto de 2017**. Define a metodologia para a classificação do grau de relevância das cavidades naturais subterrâneas, conforme previsto no art. 5º do Decreto n° 99.556, de 1º de outubro de 1990.
- PRADO, D. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M. & SILVA, J.M.C.(eds.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. pp. 3-73. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2003.
- RACOVITZA, G. Sur les relations dynamiques entre le milieu souterrain superficiel et le milieu cavernicole. **Mémoires de biospéologie**, v. 10, p. 85-89, 1983.

- ROSSETTI, D.F.; BEZERRA, F.H.R.; DOMINGUEZ, J.M.L. Late Oligocene–Miocene transgressions along the equatorial and eastern margins of Brazil. **Earth-Science Reviews**, v. 123, p. 87-112, 2013.
- SÁNCHEZ, L. E. O sistema: unidade lógica de referência nos estudos espeleológicos. **Espeleo-Tema**, São Paulo. Volume 16, p. 3-14, 1992. Disponível em: <http://www.sbe.com.br/espeleo-tema/Espeleo-Tema_v16_003-014.pdf>.
- SCHNEIDER, K.; CHRISTMAN, M.C.; FAGAN, W.F. The influence of resource subsidies on cave invertebrates: results from an ecosystem level manipulation experiment: **Ecology**, v. 92, no. 3, p. 765–776, 2011. doi:10.1890/10-0157.1.
- SIMÕES, M.H.; SOUZA-SILVA, M.; FERREIRA, R.L. Cave physical attributes influencing the structure of terrestrial invertebrate communities in Neotropics: **Subterranean Biology** 16: 103–121, 2015. doi:10.3897/subtbiol.16.5470.
- SIMON, K.S.; PIPAN, T.; CULVER, D.C. A conceptual model of the flow and distribution of organic carbon in caves: **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 69, p. 279–284, 2007.
- SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M.T.; LINS, L. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2004.
- SOUSA, P. R.; SOUZA-SILVA, M.; FERREIRA, R. L.; ZAMPAULO, RA. Is an outstanding environment always preserved? When the most diverse cave in subterranean species becomes one of the most endangered in a landscape. **Revista Brasileira de Espeleologia**, 2(8), 26-48, 2017.
- SOUZA, S.; RIUTORT, M.; FERREIRA, R. L.; LEAL-ZANCHET, A. An integrative taxonomic approach reveals the first marine triclad (Platyhelminthes) trapped in a cave from a semiarid Neotropical environment. **Invertebrate systematics**, 32(3), 627-638, 2018.
- SOUZA-SILVA, M.; MARTINS, R.P.; FERREIRA, R.L. 2011, Trophic Dynamics in a Neotropical Limestone Cave: **Subterranean Biology**, v. 9, p. 127–138, 2011. doi:10.3897/subtbiol.9.2515.
- SOUZA-SILVA, M.; BERNARDI, L.F.O.; MARTINS, R.P.; FERREIRA, R.L. 2012, Transport and consumption of organic detritus in a neotropical limestone cave: **Acta Carsologica**, v. 41, no. 1, p. 139–150, 2012.
- SOUZA-SILVA. M.; MARTINS, R.P.; FERREIRA, R.L. Cave Conservation Priority Index to Adopt a Rapid Protection Strategy: A Case Study in Brazilian Atlantic Rain Forest. **Environmental Management** 55: 279–295, 2015. doi: 10.1007/s00267-014-0414-8
- SOUZA SILVA, M.; FERREIRA, R.L. The first two hotspots of subterranean biodiversity in South America. **Subterranean Biology** 19: 1–21, 2016. doi: 10.3897/subtbiol.19.8207
- TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595, 1989.
- THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positionspecific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, 22, 4673-4680, 1994.
- TRAJANO, E. Evolution of tropical troglobites: applicability of the model of Quaternary climatic fluctuations. **Memoirs Biospeleologie** 22:203–209, 1995.
- TRAJANO, E. **Sistema Areias. 100 anos de estudos**. São Paulo: Redespeleo Brasil. 128p, 2007

- TRAJANO, E.; MORACCHIOLI, N. Bodoquena karst area, southwest Brazil: a hotspot of biodiversity for aquatic troglobites. In: **XVIth International Symposium of Biospeleology**, Verona. 2002. p. 84-84.
- TRAJANO, E.; BICHUETTE, M.E. Diversity of Brazilian subterranean invertebrates, with a list of troglomorphic taxa. **Subterr Biol** 7:1–16, 2010.
- TRAJANO, E.; GALLÃO, J. E.; BICHUETTE, M. E. (2016). Spots of high diversity of troglobites in Brazil: the challenge of measuring subterranean diversity. **Biodiversity and Conservation**, 25(10), 1805-1828, 2016.
- VASCONCELLOS, A.; ANDREAZZE, R.; ALMEIDA, A. M.; ARAÚJO, H.F.P.; OLIVEIRA, E.S.; OLIVEIRA, U. Seasonality of insects in the semi-arid Caatinga of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** 54(3): 471–476, 2010
- WANG, X.; AULER, A. S.; EDWARDS, R. L.; CHENG, H.; CRISTALLI, P. S.; SMART, P. L.; ... SHEN, C. C. Wet periods in northeastern Brazil over the past 210 kyr linked to distant climate anomalies. **Nature**, 432(7018), 740, 2004.